

ОАО «ИЗДАТЕЛЬСТВО
"МЕДИЦИНА"»

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ
ОБЩЕСТВЕННАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ «НАУЧНО-
ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
СПЕЦИАЛИСТОВ
ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.

Д КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 64
1 • 2019

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Е Ж Е М Е С Я Ч Н Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Ж У Р Н А Л

ЯНВАРЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

Почтовый адрес
ОАО «Издательство "Медицина"»
115088, Москва, Новоостроповская ул.,
д. 5, строение 14

Телефон редакции:
8-495-430-03-63,
E-mail: clin.lab@yandex.ru

Зав. редакцией Л. А. Шанкина

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

Тел. 8-903-724-40-29

Ответственность за достоверность
информации, содержащейся в рекламных
материалах, несут рекламодатели

Художественный редактор
Е.М. Архипова

Сдано в набор 17.01.2019.
Подписано в печать 30.01.2019.
Формат 60 × 88¹/₈.
Печать офсетная.
Печ. л. 8,00
Уч.-изд. л. 9,67.

E-mail: oao-meditsina@mail.ru
WWW страница: www.medlit.ru

ЛР N 010215 от 29.04.97 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого из-
дания не может быть занесена в память компью-
тера либо воспроизведена любым способом
без предварительного письменного разреше-
ния издателя.

Журнал представлен в базе данных Российско-
го индекса научного цитирования (РИНЦ) и в
следующих международных информационно-
справочных изданиях: Abstracts of Microbiology, Adis
International Ltd Reactions Weekly, Chemical Ab-
stracts (Print), Chemical Titles, EMBASE Biological
Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier
BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals,
Index Medicus, Index to Dental Literature, National
Library of Medicine PubMed, OCLC Article First,
OCLC MEDLINE, Reactions Weekly (Print), Thom-
son Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson
Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi
Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory.

Отпечатано в ООО "ПОЛИ ПРИНТ
СЕРВИС", 119049, г. Москва,
Калужская пл., д. 1, корп. 2

Индекс 71442 — для подписчиков
Подписка через Интернет: www.akc.ru,
www-pressa-ru
Подписка на электронную версию:
elibrary.ru

ISSN 0869-2084. Клин. лаб. диагностика.
2019. № 1. 1–64.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. Н. ТИТОВ

А. Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ, В. В. ДОЛГОВ, Г. Н. ЗУБРИ-
ХИНА, А. А. ИВАНОВ, С. А. ЛУГОВСКАЯ, А. Ю. МИ-
РОНОВ (зам. главного редактора), В. Т. МОРОЗОВА,
Л. М. ПИМЕНОВА (ответственный секретарь), Л. М. СКУ-
ИНЬ, А. А. ТОТОЛЯН, И. П. ШАБАЛОВА

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А.Н. АРИПОВ (Ташкент), Т.В. ВАВИЛОВА (Санкт-Пе-
тербург), I. WATSON (Великобритания, Ливерпуль),
А.Ж. ГИЛЬМАНОВ (Уфа), Д.А. ГРИЩЕНКО (Красно-
ярск), В.С. ГУДУМАК (Кишинёв), Н.Г. ДАШКОВА (Москва),
В.А. ДЕЕВ (Киев), Т.И. ДОЛГИХ (Омск), С.А. ЕЛЬЧАНИ-
НОВА (Барнаул), А.В. ИНДУТНЫЙ (Омск), А. KALLNER
(Швеция, Стокгольм), А.И. КАРПИЩЕНКО (Санкт-Пе-
тербург), К.П. КАШКИН (Москва), Г.И. КОЗИНЕЦ
(Москва), А.В. КОЗЛОВ (Санкт-Петербург), В.Г. КОЛБ
(Минск), Г.В. КОРШУНОВ (Саратов), Г.М. КОСТИН
(Минск), А.Г. КОЧЕТОВ (Москва), Н.Е. КУШЛИНСКИЙ
(Москва), Г.Г. ЛУНЕВА (Киев), А.Р. МАВЗЮТОВ (Уфа),
В.Н. МАЛАХОВ (Москва), Д.Д. МЕНЬШИКОВ (Москва),
Е.Н. ОВАНЕСОВ (Москва), Ю.В. ПЕРВУШИН (Ставрополь),
И.В. ПИКАЛОВ (Новосибирск), Ю.П. РЕЗНИКОВ (Москва),
Д.Б. САПРЫГИН (Москва), С.Н. СУПЛОТОВ (Тюмень), О.А.
ТАРАСЕНКО (Москва), И.С. ТАРТАКОВСКИЙ (Москва),
А.Б. УТЕШЕВ (Алматы), Л.А. ХОРОВСКАЯ (Санкт-Пе-
тербург), С.В. ЦВИРЕНКО (Екатеринбург), А.Н. ШИ-
БАНОВ (Москва), В.Л. ЭМАНУЭЛЬ (Санкт-Петербург),
Г.А. ЯРОВАЯ (Москва)



«Издательство "МЕДИЦИНА"»

ОАО ИЗДАТЕЛЬСТВО
"МЕДИЦИНА"

THE ALL-RUSSIAN
ORGANIZATION
"THEORETICAL AND
PRACTICAL SOCIETY
OF SPECIALISTS
OF LABORATORY
MEDICINE"

D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA diagnostika

Volume 64
1 • 2019

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

JANUARY

The Journal is founded in 1955.

Mailing address:
Izdatelstvo "MEDITSINA"

115088, Moscow
Novoostapovskaya str., 5, building 14

Editorial office phone:

8-495-430-03-63,

E-mail: clin.lab@yandex.ru

Managing editor L.A. Shankina

ADVERTISING DEPARTMENT

Phone: 8-495-678-64-84

The responsibility for credibility of
information contained in advertising materials
is accounted for advertisers

Art editor E.M. Arkhipova

E-mail: oao-meditsina@mail.ru

WWW page: www.medlit.ru

LR № 010215 of 29.04.1997

All rights reserved. Any part of this edition can not
be entered computer memory nor be reproduced
with any other mode without preliminary permission
of editor in written form.

The Journal is presented in data base of the
Russian index of scientific quotation (RiNZ) and
in following I&R editions: Abstracts of Microbiology,
Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical
Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost
Biological Abstracts (Online), Elsevier BV EM-
BASE, Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica,
Abstract Journals, Index Medicus, Index to Dental
Literature, National Library of Medicine PubMed,
OCLC Article First, OCLC MEDLINE, Reactions
Weekly (Print), Thomson Reuters Biological Ab-
stracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Pre-
views, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's
International Periodicals Directory.

ISSN 0869-2084.

EDITOR BOARD:

Editor-in-Chief V. N. TITOV

A. B. DOBROVOLSKYI, V.V. DOLGOV, G.N. ZUBRICHI-
NA, A.A. IVANOV, S.A. LUGOVSKAYA, A.Yu. MIRO-
NOV (assistant editor-in-chief), V.T. MOROZOVA,
L.M. PIMENOVA (executive editor), L.M. SKUIN', A.A.
TOTOLYAN, I.P. SHABALOVA

EDITORIAL COUNCIL:

A.N. ARIPOV (*Tashkent*), T.V. VAVILOVA (*Sankt-Peterburg*),
I. WATSON (*Great Britain, Liverpool*), A.Zh. GIL'MANOV
(*Ufa*), D.A. GRITCHENKO (*Krasnoyarsk*), V.S. GUDUMAK
(*Kishinev*), N.G. DASHKOVA (*Moscow*), V.A. DEEV (*Kiev*),
T.I. DOLGIKH (*Omsk*), S.A. ELCHANINOVA (*Barnaul*), A.V.
INDUTNY (*Omsk*), V.A. KALLNER (*Sweden, Stockholm*), A.I.
KARPITCHENKO (*Sankt-Peterburg*), K.P. KASHKIN (*Moscow*),
G.I. KOZINEC (*Moscow*), A.V. KOZLOV (*Sankt-Peterburg*), V.G.
KOLB (*Minsk*), G.V. KORSHUNOV (*Saratov*), G.M. KOSTIN
(*Minsk*), A.G. KOCHETOV (*Moscow*), N.E. KUSHLINSKII
(*Moscow*), G.G. LUNEVA (*Kiev*), A.R. MAVZYTОВ (*Ufa*),
V.N. MALACHOV (*Moscow*), D.D. MEN'SHIKOV (*Moscow*),
E.N. OVANESOV (*Moscow*), Yu.V. PERVUCHIN (*Stavropol'*),
I.V. PICALOV (*Novosibirsk*), Yu.P. REZNICOV (*Moscow*),
D.B. SAPRIGIN (*Moscow*), S.N. SUPLOTOV (*Tyumen'*),
O.A. TARASENKO (*Moscow*), I.S. TARTAKOVSKIY
(*Moscow*), A.B. UTESHEV (*Almati*), L.A. KHOROVSKAYA
(*Sankt-Peterburg*), S.V. TSVIRENKO (*Ekaterinburg*),
A.N. SHIBANOV (*Moscow*), V.L. EMANUEL' (*Sankt-Peter-
burg*), G.A. YAROVAYA (*Moscow*)



ИЗДАТЕЛЬСТВО "МЕДИЦИНА"

БИОХИМИЯ

- Титов В.Н., Рожкова Т.А., Каминная В.И., Алчинова И.Б. Методы клинической биохимии в объективной оценке степени перекармливания травоядным в филогенезе *Homo sapiens* (пациентом) плотоядной, мясной пищи 4
- Ариповский А.В., Титов В.Н. Биологически активные пептиды в регуляции метаболизма. Пептоны, аминокислоты, жирные кислоты, липопротеины, липиды и действие нутрицевтиков 14
- Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А., Халиулин А.В. Диагностические возможности современного биохимического исследования мокроты у пациентов с муковисцидозом (обзор литературы) 24
- Тимашева Г.В., Масыагutowa Л.М., Валеева Э.Т., Репина Э.Ф. Информативные изменения показателей гомеостаза для оценки индивидуального риска адаптационных нарушений у работников химической промышленности 29
- Степанова Т.В., Иванов А.Н., Терешкина Н.Е., Попыхова Э.Б., Лагутина Д.Д. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) 34
- Мухамеджанова Н.И., Арипов О.А. Внешняя оценка качества клинико-диагностических лабораторий. Основные источники ошибок 42

МИКРОБИОЛОГИЯ

- Омарова С. М., Ахмедова Р. С., Багандова Д. Ш., Акаева Ф. С., Муслимов М. О., Исаева Р. И. Мониторинг микробиологических и иммунологических нарушений при урогенитальном хламидиозе у лиц репродуктивного возраста 46
- Гизатуллина Л.Г., Масыагutowa Л.М., Бакиров А.Б. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность отдельных штаммов микроорганизмов при обострении хронической бронхолегочной патологии у работников различных отраслей экономики 49

ИММУНОЛОГИЯ

- Квливидзе Т.З., Заводовский Б.В., Ахвердян Ю.Р., Полякова Ю.В., Сивордова Л.Е., Яковлев А.Т., Зборовская И.А. Сывороточный несфатин-1 как маркер системного воспаления при ревматоидном артрите 53

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Светоч Э. А., Воложанцев Н. В., Верёвкин В. В., Мякинина В.П., Алёшкин А.В., Киселёва И.А., Баннов В.А., Красильникова В.М., Борзенков В.Н., Карцев Н.Н., Дятлов И.А. Диагностический бактериофаг V32 как инструмент для быстрой идентификации *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇ 57

BIOCHEMISTRY

- Titov V.N., Rozhkova T.A., Kaminnaya V.I., Alchinova I.B. Clinical biochemistry methods in objective evaluation of overeating food of carnivores (meat) by a phylogenetically herbivorous *Homo sapiens* (a patient) 4
- Aripovsky A.V., Titov V.N. Biologically active peptides in metabolism regulation. Peptons, peptides, amino acids, fatty acids, lipoproteins, lipids, and the effect of nutraceuticals 14
- Kozlov A.V., Gusyakova O.A., Ereshchenko A.A., Khaliulin A.V. Diagnostic possibilities of modern biochemical study of sputum from patients with cystic fibrosis (literature review) 24
- Timasheva G.V., Masyagutova L.M., Valeeva E.T., Repina E.F. Informative changes in indicators of homeostasis to the assessment of individual risk adaptation disorders in workers of the chemical industry 29
- Stepanova T.V., Ivanov A.N., Tereshkina N.E., Popyhova E.B., Lagutina D.D. Markers of endothelial dysfunction: pathogenetic role and diagnostic significance (literature review) 34
- Mukhamedjanova N.I., Aripov O.A. External evaluation of the quality of clinical and diagnostic laboratories. possible sources of errors 42

MICROBIOLOGY

- Omarova S. M., Akhmedova R. S., Bagandova D. S., Akayeva F. S., Muslimov, M. Isayeva R. I. Monitoring of microbiological and immunological disorders in urogenital chlamydia in individuals of reproductive age 46
- Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Bakirov A.B. Etiological significance and antibioticosensitivity of certain microorganisms in aggravation of chronic bronchopulmonary pathology in workers of diverse economic sectors 49

IMMUNOLOGY

- Kvlividze T.Z., Zavadovsky B.V., Akhverdyan Yu.R., Polyakova Yu.V., Sivordova L.E., Yakovlev A.T., Zborovskaya I.A. Serum nesfatin-1 as a marker of systemic inflammation in rheumatoid arthritis 53

CLINICAL MOLECULAR STUDIES

- Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Verevkin V.V., Myakinina V.P., Aleshkin A.V., Kiseleva I.A., Bannov V.A., Krasilnikova V.M., Borzenkov V.N., Kartsev N.N., Dyatlov I.A. Diagnostic bacteriophage V32 as a tool for the rapid identification of *Escherichia coli* serogroup O₁₅₇ 57

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Титов В.Н.¹, Рожкова Т.А.¹, Каминная В.И.¹, Алчинова И.Б.².

МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ОБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ПЕРЕЕДАНИЯ ТРАВояДНЫМ В ФИЛОГЕНЕЗЕ *HOMO SAPIENS* (ПАЦИЕНТОМ) ПЛОТояДНОЙ, МЯСНОЙ ПИЩИ

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ, 121552, Москва;

²ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАН, 125315, Москва

Атеросклероз начинается, когда травоядный в филогенезе *Homo sapiens* (пациент) начинает злоупотреблять плотоядной (мясной) пищей. Пристальное внимание привлекает «биоэнергетический принцип» Э Геккеля: в онтогенезе каждая особь «воспроизводит» основные этапы эволюции, филогенеза - единого анамнеза всего живого. Мы предлагаем диагностический прием, который на основе филогенетической теории общей патологии в клинической практике, позволяет объективно, по четырем степеням и при качественном различии тестов, оценивать переизбыток травоядным *Homo sapiens* мясной пищи. Степеньями объективного контроля афизиологического переизбытка мясной пищи, экзогенной пальмитиновой НЖК являются следующие. Первая степень - увеличение в плазме крови натощак содержания триглицеридов в позиционной форме олеиновых триглицеридов как пальмитоил-олеил-пальмитат (ПОП). Вторая - гипертриглицеридемия + повышение холестерина ХС липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) в составе пальмитиновых ЛПНП. Третья - увеличение в плазме крови содержания еще и апоС-III. Четвертая степень - в дополнение к тому, что уже повышено, увеличение еще и концентрации апоВ-48. Если же параметры пациентов проследить при оценке электрофореграмм липопротеинов и использовать метод фенотипирования (типирования) гиперлипидемии ГЛП по классификации ВОЗ, то - первая степень переизбытка при типировании ГЛП не информативна. Вторая степень - ГЛП типа IV; - третья степень - ГЛП типа IIb и - четвертая степень - ГЛП типа V; это почти что плотоядное питание пациента. Все типы ГЛП сопровождается синдромом резистентности к инсулину, гипергликемия и гиперинсулинемия; основу синдрома составляет повышение в плазме крови содержания жирных кислот в форме полярных незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК). В филогенетической теории общей патологии, клетки *in vivo* не начнут поглощать глюкозу, пока есть возможность поглощать НЭЖК. Профилактическая направленность обследования позволяет характеризовать степень нарушения биологической функции питания, функции трофологии. Применение функционально разных методических приемов к оценке нарушения функции трофологии, позволяет у каждого пациента отслеживать эффективность диетотерапии с того уровня нарушений, на котором мы начали пациента наблюдать.

Ключевые слова: триглицериды; позиционные формы триглицеридов; типы гиперлипидемии; апоС-III; апоВ-48; биоэнергетический принцип Геккеля

Для цитирования: Титов В.Н., Рожкова Т.А., Каминная В.И., Алчинова И.Б. Методы клинической биохимии в объективной оценке степени переизбытка травоядным в филогенезе *Homo sapiens* (пациентом) плотоядной, мясной пищи. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 4-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-4-13>
Titov V.N.¹, Rozhkova T.A.¹, Kaminnaya V.I.¹, Alchinova I.B.²

CLINICAL BIOCHEMISTRY METHODS IN OBJECTIVE EVALUATION OF OVEREATING FOOD OF CARNIVORES (MEAT) BY A PHYLOGENETICALLY HERBIVOROUS *HOMO SAPIENS* (A PATIENT)

¹National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health of Russia, 121552, Moscow;

²FGBNU "Research Institute of General Pathology and Pathophysiology", Academy of Sciences of the Russian Federation, 125315, Moscow

The abuse of food of carnivores (meat) by phylogenetically herbivorous *Homo sapiens* (a patient) initiates atherosclerosis. Addressing biogenetic law of E. Haeckel that ontogeny recapitulates phylogeny (a universal anamnesis), we suggest a diagnostic technique that allows evaluation of the meat diet abuse by a herbivorous *Homo sapiens*. This technique is based on application of phylogenetic theory of general pathology to clinical practice. The degrees of objective evaluation of nonphysiological overeating of meat are: the first, an increase in the fast plasma content of oleic triglycerides palmitoyl-oleyl-palmitate (POP). The second, hyperglyceridemia + an increase in low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) content. The third, increased plasma content of apoC-III. The fourth, an increase in the concentration of apoB-48. If electrophoregrams are analyzed and hyperlipoproteinemia (HLP) type is determined according to WHO classification, the first degree of meat overeating is not informative, the second, corresponds to type IV HLP; the third, to type IIb HLP, and the fourth, to type V HLP, i.e., the patient diet consists practically of the food of carnivores. Hyperlipoproteinemia coincides with insulin resistance syndrome, hyperglycemia and hyperinsulinemia, which is based on blood increase of fatty acids in the form of polar unesterified fatty acids (UFA). According to phylogenetic theory of general pathology, *in vivo* cells do not internalize glucose if there is a possibility to internalize UFA. Preventive examination allows evaluation of disorders in the biological function of trophology (food consumption). Thus, the use of different methods in the analysis of this function offers evaluation of the effectiveness of diet therapy from the level of disorders when treatment was started.

Key words: *triglycerides; positional forms of triglycerides; types of hyperlipoproteinemia; apoC-III; apoB-48; Haeckel's biogenetic law*

For correspondence: Titov V.N., doctor of medical sciences, professor; e-mail: vn_titov@mail.ru

For citation: Titov V.N., Rozhkova T.A., V.A. Kaminnaya, I.B. Alchinova. *Clinical biochemistry methods in objective evaluation of overeating food of carnivores (meat) by a phylogenetically herbivorous homo sapiens (a patient). Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 4-13 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-4-13>*

Acknowledgment. *This study had no sponsorship.*

Conflict of interests. *The authors declare no conflict of interests.*

Received 14.12.2018
Accepted 25.12.2018

Прошло пять лет со времени опубликования разработанной нами [1] филогенетической теории общей патологии. Теория дала возможность впервые обосновать становление на ступенях филогенеза семи биологических функций; ранее о некоторых из них даже не упоминали. Это: 1. биологическая функция гомеостаза; 2. функция трофологии (питания); 3. биологическая функция эндозологии; 4. функция адаптации; 5. биологическая функция продолжения вида (размножения); 6. функция локомоции и 7. когнитивная биологическая функция; высшим проявлением этой функции является интеллект. Используя положения филогенетической теории общей патологии и биологические функции, мы в настоящее время обосновали формирование на ступенях филогенеза семи афизиологических несоответствий регуляции метаболизма *in vivo* на разных уровнях относительного биологического совершенства [2].

Сформировались они при раздельном, последовательном становлении регуляции метаболизма на трех уровнях: а) на первом, аутокринном уровне в клетках; б) в паракринно регулируемых сообществах функционально разных клеток, органов и систем – на втором уровне и в) на третьем уровне организма, *in vivo*. Сформированные при действии разных этиологических факторов в течение миллионов лет на разных ступенях филогенеза, мы называем их метаболические пандемии, болезни «цивилизации».

Руководствуясь филогенетической теорией общей патологии, мы обосновали становление на ступенях филогенеза семи «метаболических пандемий» - нарушений в филогенезе регуляции метаболизма сочетано *in vivo* на трех уровнях относительного биологического совершенства. Метаболические пандемии это: 1. атеросклероз и атероматоз – два функционально разных, афизиологических, последовательных, патогенетически сочетанных процесса; 2. эссенциальная, метаболическая артериальная гипертензия; 3. синдром резистентности к инсулину (ИР); 4. метаболический синдром – патология инсулиннезависимой, висцеральной жировой ткани; 5. ожирение - патология инсулинзависимых, подкожных адипоцитов; 6. неалкогольная жировая болезнь печени и 7. эндогенная гиперурикемия. Общим для всех афизиологических состояний (за исключением эндогенной гиперурикемии) является нарушение метаболизма жирных кислот (ЖК). Согласно этиологическим факторам, сформированным на разных ступнях филогенеза, метаболические пандемии по этиологии выражено различаются; несмотря на это, патогенез их сформировался на основе единого алгоритма.

В течение миллионов лет филогенеза можно проследить, что мир реально семеричен: семь цветов радуги,

семь музыкальных нот, основа социальной жизни общества – семья, человек сотворен по образу и подобию на шестой день трудов праведных, в субботу, но если добавить воскресенье, получается неделя из семи дней. На земле среди мирового океана - семь континентов. Согласно филогенетической теории общей патологии, для того, чтобы разобраться в этиологии метаболической пандемии - атеросклероз и атероматоз, мы полагаем, обоснованно проследить становление на ступенях филогенеза биологической функции питания, функции трофологии, биологических реакций экзотрофии (внешнего) и эндотрофии (внутреннего) питания. Основное внимание мы предлагаем уделить становлению регуляции на ступенях филогенеза метаболизма ЖК; они обеспечивают как построение структуры (плазматической мембраны) животных клеток, так и обеспечение их энергией в форме синтеза макроэргического аденозинтрифосфата (АТФ). Мы предлагаем начать обсуждение с уровня клеток, с одноклеточных организмов, с первого уровня относительного биологического совершенства. Завершилось оно формированием многоклеточных организмов.

Жирные кислоты, пальмитиновые, олеиновые, линолевые триглицериды и одноименные липопротеины очень низкой плотности. Липидами, мы полагаем, являются все ЖК и все соединения, в состав которых ЖК входят. Если холестерин (ХС) это спирт и к липидам отношения не имеет, то холестерололеат – эфир его с олеиновой ЖК; это липид. Все ЖК мы делим на насыщенные (НЖК), которые двойных связей (ДС) (C=C) не имеют, мононенасыщенные ЖК (МЖК) с одной ДС, ненасыщенные ЖК (ННЖК) с 2-3 ДС и эссенциальные полиеновые ЖК (ПНЖК) с 4-6 ДС. Метаболические превращения *in vivo* НЖК, МЖК, ННЖК и ПНЖК выражены разные, как и функциональная роль их в организме [3]. Основной формой депонирования (запасания) *in vivo* всех ЖК являются эфиры с трехатомным спиртом глицерином – триглицериды (ТГ). Основная форма переноса в водной среде ПНЖК - эфиры с одноатомным, циклическим, вторичным спиртом ХС в форме полиеновых эфиров ХС (поли-ЭХС).

Каждый из эфиров ЖК, в зависимости от того, какие три ЖК этерифицированы с глицерином, в гидрофильной среде кровотока и цитоплазмы клеток принимает специфичную, стерическую (пространственную) форму молекулы. В зависимости от того, какая ЖК этерифицирована во второй (sn-2), средней позиции трехатомного спирта глицерина с вторичной спиртовой группой, все ТГ мы подразделяем на пальмитиновые, олеиновые, стеариновые, линолевые и линоленовые. Все внеклеточные липазы (триглицеридгидролазы) в составе ТГ не гидролизуют эфирную связь ЖК с вторичной спирто-

вой группой sn-2 глицерина. В гепатоцитах, с такой же мерой специфичности, apoB-100 избирательно структурирует (связывает) одноименные ТГ с образованием пальмитиновых, олеиновых и линолевых ЛПОНП. ЛП обладают разными физико-химическими свойствами. Гидролиз олеиновых ТГ в одноименных липопротеинах очень низкой плотности (ЛПОНП) при действии фермента - постгепариновой липопротеинлипазы (ЛПЛ) происходит со значительно большей скоростью, чем липолиз пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП.

Согласно филогенетической теории общей патологии, на ступенях филогенеза, при жизни в водах океанов и на суше, последовательно за многие миллионы лет, у прародителей вида *Homo sapiens* произошло формирование трех последовательных вариантов переноса и поглощения клетками экзогенных и эндогенных ЖК в форме ТГ в составе apoB-липопротеинов (ЛП). Во всех ситуациях вызвано это было воздействием афизиологичных факторов внешней среды.

Первый вариант переноса in vivo ЖК у плотоядных. В глубинах океана при отсутствии света, растений и O₂ все животные были плотоядными (*Carnivores*), мясоедами; поедали все они себе подобных. Это была животная пища с высоким содержанием пальмитиновой ЖК. Всасывание ЖК, которые освобождены при гидролизе ТГ в тонком кишечнике при действии липазы панкреатической железы, осуществляли энтероциты. Ресинтезированные в этих клетках экзогенные ТГ к гепатоцитам доставлял аполипопротеин-48 (apoB-48) в составе сформированных им хиломикрон (ХМ) [4]. Из кровотока все ХМ поглощали только гепатоциты [5]. После реализации биохимических реакций оптимизации (окисление в пероксисомах афизиологичных, экзогенных ЖК при одновременном действии α -, β - и ω -оксидаз) гепатоциты включали физиологичные ЖК в состав пальмитиновых, олеиновых и линолевых ТГ; происходит это пропорционально содержанию этих экзогенных ЖК в пище. После этого в гепатоцитах уже иной apo, синтезированный *in situ de novo* apoB-100 структурировал ТГ отдельно в состав пальмитиновых, олеиновых и линолевых ЛПОНП, секретируя их в кровоток.

В процессе гидролиза неполярных ТГ в крови в составе ЛПОНП при действии липаз, часть ЖК покидали ЛПОНП в форме: а) незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК); в крови их связывает липидпереносящий белок альбумин; б) полярные ди- и моноглицериды в кровотоке связывают ЛП высокой плотности (ЛПВП). После гидролиза количество ТГ в каждом ЛПОНП становится меньше, гидратированная плотность ЛП увеличивается и происходит превращение ЛПОНП → ЛПНП. При оптимальном содержании ТГ, apoB-100 в пальмитиновых, олеиновых и линолевых ЛПНП принимает активную конформацию (стерическую, пространственную форму) и выставляет на поверхность ЛП apoB-100 лиганд. Связывая его apoB-100 рецепторами, все клетки активно поглощают ЛПНП со всеми ЖК, которые они переносят.

В функциональном отношении все apo, которые задействованы в переносе и поглощении клетками ЖК в форме неполярных ТГ, мы разделяем на стационарные и динамичные. Стационарные apo формируют ЛП из неполярных ТГ и поли-ЭХС; клетки поглощают их путем рецепторного эндоцитоза в составе ЛП. Стационарными apo при переносе к клеткам ЖК в форме ТГ являются apoB-48 и apoB-100 [6]. Самым ранним на ступенях

филогенеза является и стационарный apoA-I; однако он связывает и переносит ЖК только в форме полярных ди-, моноглицеридов и фосфолипидов, но не ТГ. В составе ЛПВП триглицеридов практически нет, но высоко содержание ди-, моноглицеридов. Динамичными apo, которые перемещаются между классами apoB-100 и apoA-I липопротеинами (ЛП) являются apoC-II, apoC-III, apoE [7]. ApoC - кофакторы внеклеточных липаз; apoE ассоциируется, главным образом с теми стационарными apo (apoB-48 и apoA-I), которые в первичной структуре не имеют домена-лиганда. Мы рассматриваем apoE как белок-вектор, белок направленного переноса ЖК к клеткам, которые в большей мере нуждаются в: а) более эффективном снабжении их субстратами для выработки энергии или б) более активном оттоке он них метаболитов ЛП, спирта ХС.

У плотоядных (*Carnivores*) на ступенях филогенеза в переносе и поглощении клетками экзогенных ЖК задействованы:

а) три ЛП, липидтранспортные макромолекулы: apoB-48 ХМ + apoB-100 ЛПОНП + apoB-100 ЛПНП; два стационарных apo – apoB-48 и apoB-100;

б) два рецептора опосредованных, активных – apoE/B-48 эндоцитоз гепатоцитами ХМ и apoB-100 эндоцитоз пальмитиновых, олеиновых и линолевых ЛПНП всеми клетками *in vivo*;

в) гидролиз преимущественно пальмитиновых, меньше олеиновых и линолевых ТГ в ЛПОНП и ЛПНП, осуществляет ранняя в филогенезе печеночная глицеролгидролаза + apoC-III. Отправной точкой переноса ко всем клеткам экзогенных ЖК *in vivo* являются энтероциты [8].

Второй вариант переноса in vivo ЖК у травоядных. На планете земля, в период сложных геологических и биологических перипетий, в течение пермского и триасового периодов, произошли самые существенные перемены. При этом часть плотоядных из океана, не по своей воле, оказалась на суше. Пищи на суше для них нет; нет и ω -3 ПНЖК; столь характерных для рыбьего жира, растения не синтезируют. В то же время в изобилии произрастает травоядная пища - множества биологических видов растений, в том числе плодовых кустарников и деревьев. В этих условиях большинство оказавшихся на суше плотоядных животных вымерли. Однако малое количество особей, реализовав биологическую функцию адаптации, все-таки сумели начать потребление растительной пищи. Далее за миллионы лет из плотоядных (*Carnivores*) они медленно, но все-таки стали травоядными (*Herbivores*). Они изменили функцию многих органов, физико-химические их параметры и даже особенности скелета; в последующие миллионы лет травоядные виды на суше стали доминировать [9]. Пища травоядных видов содержит лишь малое количество ЖК [10]; основу ее после гидролиза целлюлозы составляет глюкоза.

У травоядных синтез основного количества эндогенных ЖК из глюкозы происходит *in situ de novo* в гепатоцитах и позже в адипоцитах; гепатоциты при этом становятся отправной точкой переноса ЖК ко всем клеткам для реализации всех биологических функций. Необходимость в синтезе apoB-48, в формировании ХМ и переносе *in vivo* ЖК от энтероцитов к гепатоцитам в лимфо- и кровотоке, органично отпадает. Травоядные останавливают синтез apoB-48, формирование ХМ и невостребованный apoE/B-48 эндоцитоз ХМ гепатоцитами.

У травоядных на ступенях филогенеза в переносе к клеткам, поглощении ими ЖК в составе ТГ задействованы:

а) один стационарный апоВ-100 и формируемые им из ТГ два ЛП: ЛПОНП и ЛПНП;

б) один опосредованный рецепторами апоВ-100 эндцитоз для поглощения всеми клетками пальмитиновых, олеиновых и линоленовых ЛПНП при переносе ими, главным образом, эндогенно синтезированных НЖК + МЖК и экзогенных ННЖК + ПНЖК;

в) гидролиз пальмитиновых и олеиновых ТГ в составе ЛПОНП и ЛПНП, как и у плотоядных, реализует печеночная глицеролгидролаза (ГЛГ) + апоС-III.

Третий вариант переноса ЖК у травоядных при действии инсулина. На поздних ступенях филогенеза при становлении биологической функции локомоции – движение за счет реципрокного сокращения поперечнополосатых, скелетных миоцитов, β -клетки островков Лангерганса начали синтезировать новый гуморальный медиатор (гормон) – инсулин. Биологическое предназначение инсулина – обеспечение субстратами для наработки энергии всех клеток, которые задействованы в реализации биологической функции локомоции. При становлении *in vivo* поздней на ступенях филогенеза биологической функции локомоции произошло: а) формирование замкнутой системы кровообращения; б) образование большого и малого ее круга и в) формирование синцития кардиомиоцитов. Экспрессия инсулином *in vivo* привела к формированию на поздних ступенях филогенеза функционально новых клеток. Ими стали: 1. β -клетки островков поджелудочной железы; 2. скелетные миоциты; 3. кардиомиоциты; 4. подкожные инсулинзависимые адипоциты; 5. перипортальные гепатоциты и 6. оседлые, высокоспециализированные макрофаги печени – клетки Купфера.

Формирование столь анатомически совершенных оседлых макрофагов – клеток Купфера и специфичных пространств Диссе, мы полагаем инициировано в процессе превращения плотоядных животных в травоядных. В травоядной пище, по сравнению с плотоядной, в разы более высоко содержание афизиологичных для человека ЖК. От них то, при реализации в печени биологической реакции оптимизации, при синтезе эндогенных ТГ, приходится избавляться. Происходит это в пероксисомах гепатоцитов и клеток Купфера при активации одновременно всех вариантов окисления ЖК при действии альфа-, бета- и омега- оксидаз. В липидах животной пищи со спиртами (глицерин, ХС, сфингозин, до-лихол) этерифицированы несколько десятков ЖК только с четным числом атомов углерода, то растительная пища в разных климатических зонах содержит около 800 индивидуальных ЖК при наличии большого количества афизиологичных ЖК. Этими ЖК пищи, которые окисляют органеллы-пероксисомы, являются: 1. ЖК с нечетным числом атомов углерода; 2. ЖК с разветвленными цепями атомов углерода; 3. дикарбоновые ЖК; 4. ЖК с пяти- шестичленными кольцами в цепи; 5. очень длинноцепочечные ЖК C24-C26 и более; 6. тио-ЖК с атомами серы (S) в структуре. Пространства Диссе в печени сформировали анатомическую возможность оседлым, полифункциональным макрофагам практически свободно контактировать с межклеточной средой.

Исполняя основное биологическое предназначение инсулина – обеспечение субстратами для наработки энергии всех клеток, которые задействованы в реали-

зации биологической функции локомоции, гормон экспрессировал формирование направленного, векторного переноса к клеткам двух основных ЖК – эндогенно синтезированных олеиновой МЖК и эндогенной пальмитиновой НЖК. Для этого инсулин экспрессировал синтез *in vivo* двух новых ферментов: а) пальмитоил-КоА-элонгаза и стеарил-КоА-десатураза. Гормон активировал синтез гепатоцитами ЖК по пути: C16:0 пальмитиновая НЖК $\rightarrow$ (пальмитоил-КоА-элонгаза) C18:0 стеариновая НЖК $\rightarrow$ (стеарил-КоА-десатураза) C18:1 ω -9 цис-олеиновая МЖК.

Проведенные нами десятью годами ранее эксперименты *in vitro* показали, что озон окисляет C18:1 олеиновую МЖК в 5-6 раз с большей константой скорости реакции, по сравнению с окислением пальмитиновой НЖК [11]. Гепатоциты при действии инсулина превращают в олеиновую МЖК всю пальмитиновую НЖК, которую гепатоциты синтезировали *in vivo de novo* эндогенно из экзогенной глюкозы. Однако гепатоциты не могут превратить в олеиновую МЖК экзогенную пальмитиновую НЖК, которая поступила с плотоядной пищей. Биологическое предназначение инсулина – повышение кинетических параметров организмов при реализации биологической функции локомоции. Биологическая функция локомоции на поздних ступенях оказала выраженное влияние на совершенствование всех остальных шести биологических функций, поскольку она увеличила обеспечение организма энергией, повысила эффективность энергообеспечения, инициировала синтез большего числа макроэргических молекул АТФ в единицу времени.

Совершенствуя обеспечение субстратами для наработки энергии, в первую очередь инсулинзависимые клетки, имеющие на плазматической мембране рецепторы к инсулину, инсулин сформировал новый, векторный перенос, главным образом, олеиновой МЖК в форме олеиновых и пальмитиновых ТГ. Происходит это в составе одноименных ЛПОНП путем нового, кооперативного апоЕ/В-100 эндцитоза; образования олеиновых ЛПНП при этом не происходит. Перенос же к клеткам ПНЖК у травоядных остался практически тем же, как это происходит у плотоядных, когда все клетки поглощают ПНЖК в неполярной форме поли-ЭХС в составе линоленовых ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП путем апоВ-100 рецепторного эндцитоза.

У травоядных (*Herbivores*) на поздних ступенях филогенеза при становлении функции инсулина, биологической функции локомоции, в переносе к клетками и поглощении ими, главным образом, эндогенно синтезированной олеиновой МЖК в форме одноименных ТГ, в составе одноименных ЛПОНП задействованы:

а) один стационарный апо - апоВ-100;

б) один апоЕ/В-100 эндцитоз ЛПОНП и

в) гидролиз олеиновых ТГ в составе одноименных ЛПОНП в крови стала активировать постгепариновая липопротеинлипаза (ЛПЛ) + апоС-II.

Если сопоставить варианты переноса ЖК на ступенях филогенеза у плотоядных (вариант первый), у травоядных до синтеза инсулина (вариант второй) и у них же при синтезе и действии гормона (вариант третий) получится следующее:

– плотоядные: ХМ $\rightarrow$ пальмит. ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП $\rightarrow$ апоВ-100 эндцитоз;

– травоядные до инсулина: пальмит. ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП $\rightarrow$ апоВ-100 эндцитоз

– травоядные + инсулин: олеиновые ЛПОНП $\rightarrow$ апоЕ/В-100 эндцитоз.

Атеросклероз начинается, когда травоядный в филогенезе человек начинает злоупотреблять плотоядной (мясной) пищей. В свете изложенной филогенетической теории общей патологии и методологических основ общей биологии, пристальное внимание привлекло сформированное более века ранее положение Э. Геккеля, предложенный им «биоэнергетический принцип». Согласно этому в индивидуальном развитии организма, в онтогенезе (в анамнезе особи) каждое животное как бы воспроизводит основные этапы эволюции, филогенеза – единого анамнеза всего живого. Говоря проще, каждая особь в онтогенезе воспроизводит основные этапы филогенеза.

Выше мы, в свете филогенетической теории общей патологии, коротко изложили три этапа превращения на ступенях филогенеза плотоядных в травоядных, основные этапы отработки переноса в составе ЛП и поглощения клетками ЖК, роль инсулина в превращении видов Carnivores в Herbivores на суше в ходе реализации биологической функции локомоции. Биологическая роль инсулина в превращении плотоядных → травоядных состоит в том, что и у первых и у вторых основным субстратом, который окисляют митохондрии в цикле трикарбоновых кислот и дыхательной цепи матрикса является ацетил-КоА. Только у плотоядных, основным предшественником образования ацетил-КоА *in vivo* является пальмитиновая экзогенная НЖК, а у травоядных – экзогенная глюкоза, эндогенно синтезированная гепатоцитами и депонированная в инсулинзависимых подкожных адипоцитах олеиновая МЖК в форме олеиновых ТГ.

Инсулин экспрессировал замену на ступенях филогенеза пальмитинового варианта метаболизма ЖК на более поздний, более производительный, эффективный олеиновый вариант. Инсулин инициировал *in vivo* превращение всей синтезированной в цикле Кноппа-Линена из глюкозы пальмитиновой НЖК в олеиновую МЖК. Согласно же недавно повторенным нами экспериментам *in vitro*, окисление озоном C18:1 ω -9 цис- олеиновой МЖК происходит с константой скорости реакции в 5-6 раз более высокой, по сравнению с окислением O₃ пальмитиновой НЖК. К тому же, внутренняя мембрана митохондрий очень медленно вводит пальмитиновую НЖК в матрикс, в котором и происходит окисление ЖК и наработка АТФ.

У всех травоядных в филогенезе, в том числе и у вида *Homo sapiens*, гепатоциты из экзогенной глюкозы синтезируют, в конечном итоге, олеиновую МЖК. Гепатоциты этерифицируют МЖК в олеиновые ТГ, далее апоВ-100 структурирует ТГ в олеиновые ЛПОНП и секретирует в кровотоки. В крови гидролиз олеиновых ТГ в олеиновых ЛПОНП активирует постгепариновая ЛПЛ и кофактор апоС-II. При оптимальном количестве ТГ, которые ассоциированы с апоВ-100, апо меняет конформацию (пространственную форму) и, в ассоциации с апоЕ, формирует кооперативный апоЕ/В-100 лиганд. Далее лигандные, олеиновые ЛПОНП связывают одноименными рецепторами все зависимые от инсулина клетки, поглощая их путем последнего в филогенезе, мы полагаем, апоЕ/В-100 эндцитоза; олеиновые ЛПОНП в крови не образуются. По сути, у травоядных инсулин экспрессировал самый короткий вариант эффективного поглощения клетками ЖК – субстратов для наработки энергии, главным образом, олеиновой МЖК в форме олеиновых ТГ в составе олеиновых ЛПОНП.

Каковым же в теоретическом осмыслении может

быть то количество пальмитиновой НЖК, которое физиологично поглощают инсулинзависимые клетки травоядных в составе олеиновых ЛПОНП. Это количество пальмитиновой НЖК зависит от содержания *in vivo* олеиновой НЖК и равно тому количеству, которое могут быть этерифицированы в состав олеиновых ТГ вне синтеза пальмитиновых ТГ и формирования пальмитиновых ЛПОНП.

Если расставить все пальмитиновые и олеиновые позиционные формы ТГ в порядке возрастания скорости гидролиза их как субстратов при действии экзогенной липазы, образуется последовательность:

ППП - ППО - ОПП - ОПО - ПОП - ПОО - ООП - ООО.

При этом четыре позиционные формы (слева) - пальмитиновые ТГ и четыре позиционные формы ТГ; справа - олеиновые ТГ: ПОП – ПОО – ООП – ООО; олеиновая МЖК всегда в sn-2 ТГ. С наиболее высокой константой скоростью реакции постгепариновая ЛПЛ и ее кофактор апоС-II гидролизует позиционные формы ТГ как олеил-олеил-олеат глицерол (ООО). Менее эффективно осуществим липолиз позиционных форм ТГ как пальмитоил-олеил-олеат (ПОО) и олеил-олеил-пальмитат (ООП) глицерол; с более низкой скоростью реакции гидролизу подвержены формы ТГ как пальмитоил-олеил-пальмитат глицерол (ПОП) [12].

В форме олеиновых ТГ, в олеиновых ЛПОНП можно перенести такое количество пальмитиновой НЖК, которое может быть этерифицировано в олеиновые формы ТГ, главным образом, в ПОП. При этом температура плавления олеиновых форм ТГ составляет: +5,5° для ООО, +18,2° для ООП и 35,2° для ПОП, табл. 1. По этой причине постгепариновая ЛПЛ + апоС-II станет гидролизовать ТГ как ПОП в крови в составе олеиновых ЛПОНП с более низкой константой скорости реакции. Это и есть объективная причина формирования умеренной гипертриглицеридемии. Повышенное содержание ТГ - первый диагностический тест того, что содержание в пище пальмитиновой НЖК стало превышать физиологичный уровень и среди олеиновых форм ТГ преобладают ПОП.

Если же количество пальмитиновой НЖК в животной пище продолжает возрастать, а синтез олеиновой НЖК из экзогенной глюкозы снижается, этерифицировать всю пальмитиновую НЖК в олеиновые ТГ становится затруднительно. В этих условиях клетки вынужденно, при активном инициировании субстратом, начинают синтез пальмитиновых ТГ. Далее в гепатоцитах апоВ-100 структурирует пальмитиновые ТГ в состав одноименных ЛПОНП; клетки секретируют в кровь уже пальмитиновые ЛПОНП. С этого времени диагностическими тестами нарушения биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии, переиздания мясной пищи становятся: а) гипертриглицеридемия; б) повышение ХС-ЛПНП и в) формирование ГЛП типа IIb при электрофорезе ЛП. Согласно Д. Фредриксону и классификации фенотипов ГЛП, разработанной ВОЗ, формируемый тип именуют «семейная комбинированная ГЛП» со специфичными генетическими, компенсаторными нарушениями, которые инициированы *in vivo* вторично в ответ на афизиологичные, эпигенетические воздействия внешней среды.

Пальмитиновыми позиционными формами ТГ являются ОПО - ОПП - ППО - ППП. Формы ТГ как пальмитоил-пальмитоил-пальмитат глицерол (ППП) ги-

Температура плавления индивидуальных триглицеридов

Триглицериды	Точка плавления
Насыщенные:	
ССС	73,1
ППП	66,4
ССП	65,2
СПП	62,7
СПС	68,5
ПСП	68,6
Мононенасыщенные:	
СОС	41,6
СОП	38,0
ПОП	35,2
ССО	41,6
ССП	41,0
СПО	41,5
ППЛ	38,0
ССЛ	38,0
Ди- ненасыщенные:	
ОПО	22,0
ОСО	25,2
ООП	18,2
ООС	24,0
Три- ненасыщенные:	
ООО	5,5
ЛЛЛ	-13,1

дролузу, исходя из температуры плавления +66,4°C (см. таблицу), не поддаются. Клетки, в цитоплазме которых в каплях липидов накапливаются ТГ как ППП, погибают по типу апоптоза и аутофагии. При дальнейшем увеличении количества мясной пищи и пальмитиновой НЖК, повышается в плазме крови содержание ХС-ЛПНП пропорционально секреции гепатоцитами пальмитиновых ЛПОНП. Для постгепариновой ЛПЛ + апоС-II пальмитиновые ТГ в составе одноименных ЛПОНП оптимальным субстратом не являются.

Гидролиз пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП в крови при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II происходит афизиологично медленно, ЛПОНП не формируют апоЕ/В-100 лиганд. Не поглощают безлигандные пальмитиновые ЛПОНП *in vivo* инсулинзависимые клетки. Пальмитиновые ЛПОНП при афизиологично медленном липолизе и длительной циркуляции в крови превращаются в пальмитиновые ЛПНП. Они формируют малые, плотные, наиболее атерогенные ЛПНП; эти ЛП и повышают ХС-ЛПНП, формируя далее атероматоз интимы артерий эластического типа [13]. Ретенционное накопление в крови пальмитиновых ЛПОНП → ЛПНП - следствие нарушения биологической функции трофологии (питания); одновременно это условие нарушения иной биологической функции – функции эндозекологии. «Замусоривание» межклеточной среды *in vivo* эндогенными флогогенами большой мол. массы - безлигандными пальмитиновыми ЛПОНП → ЛПНП, инициаторами биологической реакции воспаления, создает основу для формирования вслед за атеросклерозом, иного афизиологичного процесса – атероматоза.

Атероматоз – проявление активизации биологической функции эндозекологии, поддержания «чистоты» межклеточной среды путем удаления (сбора и утилизации) всех эндогенных флогогенов и экзогенных, в том

числе и инфекционных патогенов. Для этого *in vivo* происходит активация биологической функции эндозекологии и использована интима артерий эластического типа как физиологичного пула сбора и утилизации всех эндогенных флогогенов (инициаторов биологической реакции воспаления) большой мол. массы. Безлигандные пальмитиновые ЛПОНП → ЛПНП, которые не могут физиологично поглотить клетки, становятся субстратом атероматоза в интима артерий эластического типа. Пальмитиновые ЛПОНП → ЛПНП объединяют два афизиологичных процесса - атеросклероз (нарушение биологической функции трофологии) и атероматоз (нарушение биологической функции эндозекологии).

При атеросклерозе, афизиологичном процессе, происходит образование пальмитиновых ЛПОНП → ЛПНП, «замусоривание» межклеточной среды *in vivo*. Атероматоз же – поддержание «чистоты» межклеточной среды, реализация биологической функции эндозекологии, удаления из кровотока, в частности, безлигандных пальмитиновых ЛПОНП → ЛПНП. Происходит это не в полной мере физиологично, точнее афизиологично. Именно пальмитиновые ЛПОНП → ЛПНП, в конечном итоге, становятся субстратом атероматозных масс липидов в интима артерий эластического типа. Избыток в пище пальмитиновой НЖК является и основной причиной специфического липоидоза зависимых от инсулина клеток: скелетные миоциты, кардиомиоциты, перипортальные гепатоциты, макрофаги Купфера и β-клетки островков.

Биологическая роль и диагностическое значение apoC-III. Остаются непоколебимыми положения теории Э. Геккеля и высказанные нами ранее представления, что постгепариновая ЛПЛ + апоС-II оптимально гидролизуют только поздние в филогенезе олеиновые ТГ в составе одноименных ЛПОНП [14]. Гидролиз же более ранних в филогенезе пальмитиновых, линолевых и линоленовых ТГ в одноименных ЛПОНП активирует иную липазу - печеночная глицеролгидролаза (ГЛГ) + апоС-III [15]. Печеночная ГЛГ + апоС-III сформировались на ступенях филогенеза существенно раньше постгепариновой ЛПЛ + апоС-II. Когда действие ЛПЛ + апоС-II блокировано *in vivo* по причине неоптимального субстрата (пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП), формируется ГЛП, происходит активация биологической функции адаптации, биологической реакция компенсации. Экспрессия синтеза печеночной ГЛГ + апоС-III в онтогенезе, мы полагаем, компенсаторно возрастает с целью нормализовать по сути гидролиз пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП и восстановить нарушенный перенос и поглощение клетками ЛПОНП, ТГ и ЖК и наработку митохондриями энергии, синтеза АТФ. И если реакция компенсации при нарушении функции трофологии доходит до синтеза ХМ, в них тоже высоко содержание апоС-III [16].

В то же время авторы рассматривают апоС-III чуть ли не как функциональный ингибитор липолиза ТГ в олеиновых ЛПОНП [17, 18]. Полагают, что апоС-III является блокатором поглощения клетками ЖК в форме ТГ в составе ЛПОНП и фактором риска ИБС [19]. Представления о физиологичных ингибиторах на путях переноса и поглощения клетками ЖК, мы считаем не реальными; так можно договориться и о функциональной атрезии пищевода. Малыми, плотными, химически инертными, неоптимальным субстратом для гидролиза ТГ при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II являются пальмитино-

вые ЛПНП [20]. АпоС-III рассматривают как предвестник неблагоприятного исхода в условиях острого коронарного синдрома [21]; физиологичный уровень апоС-III в плазме крови составляет ≈ 10 мг/дл.

Наличие: а) повышенного содержания ТГ в плазме крови; б) повышенного ХС-ЛПНП; в) формирование ГЛП типа IIb и повышенного содержания апоС-III отражают выраженное злоупотребление пациента мясной пищи. Результатом этого станет формирование атеросклероза, далее присоединение атероматоза и развитие острого коронарного синдрома. Содержание в плазме крови апоС-III вдвое увеличено у пациентов с ГЛП и при диабете второго типа [22], как и отношение апоС-III/апоС-II в пальмитиновом составе ЛПОНП [23]. Если в системе липолиза при действии постгепариновой ЛПЛ апоС-II заменить на апоС-III, активность липолиза будет ингибирована [24]. В ассоциации же печеночная ГЛП + апоС-III, активность липолиза активирована [25].

При усиленном переедании мясной пищи, пальмитиновой НЖК всасывание НЖК в энтероцитах, синтез клетками *in situ* апоВ-48 и формирование ХМ происходит в период нескольких часов при постпрандиальной гиперлипидемии после еды. При наглом злоупотреблении пациентом плотоядной пищей, циркуляция в кровотоке повышенного количества апоВ-48 ХМ становится постоянной. При этом в плазме крови повышена концентрация ТГ, уровень ХС-ЛПНП, содержание апоС-III, апоВ-48 и формирование при электрофорезе липопротеинов ГЛП типа V. При избытке мясной пищи и пальмитиновой НЖК, перенос в составе апоВ-100 ЛП избытка пальмитиновых ТГ происходит так, как это было миллионы лет до начала действия инсулина, соответственно биогенетическому постулату Э. Геккеля. Как это описано выше, при формировании на ступенях филогенеза травоядных и вида *Homo sapiens*, из переноса к клеткам ЖК в ЛП вначале были исключены ХМ, позднее исключены и ЛПНП. У травоядного *Homo sapiens* физиологично перенос к клеткам эндогенно синтезированных МЖК и НЖК осуществляют только олеиновые ЛПОНП, экспрессированные инсулином. Когда же в пище афизиологично увеличено содержание пальмитиновой НЖК, для переноса ее к клеткам в онтогенезе (у пациента) происходит вначале возвращение функции ЛПНП; позже к переносу большого количества пальмитиновой НЖК в форме пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП оказываются возвращены апоВ-48 и формируемые ими в энтероцитах ХМ.

Физико-химические, биологические параметры пальмитиновой НЖК. В пальмитиновой С16:0 НЖК нет ДС; НЖК в малой мере вступает в физико-химические и биохимические реакции и формирует плотную упаковку молекул. Митохондрии с трудом вводят пальмитиновую НЖК через внутреннюю мембрану клеточных органелл в матрикс митохондрий, в котором ее и медленно окисляют, нарабатывая малые, порой не оптимальные острой ситуации количества АТФ [26]. Безлигандные пальмитиновые ЛПНП конкурентно блокируют поглощение клетками ПНЖК в составе физиологичных линолевых ЛПНП, в форме поли-ЭХС (ПНЖК этерифицированных спиртом ХС) путем апоВ-100 эндоцитоза. Это формирует дефицит ПНЖК во всех клетках *in vivo* и является основой патогенеза такой метаболической пандемии как атеросклероз.

Почти 30 лет мы рассматриваем атеросклероз как дефицит в клетках ПНЖК и компенсаторный синтез

афизиологичных эйкозаноидов. Происходит это при реализации функции трофологии, реакции экзотрофии, формируя одновременно и нарушение функции эндоэкологии – «чистоты» межклеточной среды *in vivo*. Депонированные в инсулиннезависимых ВЖК сальника и в ИПА, пальмитиновые ТГ с низкой константой скорости реакции гидролизует и освобождает в кровоток гормонзависимая липаза. Это не в полной мере удовлетворить потребности клеток в субстратах энергии в период реализации биологической реакции эндотрофии, вне приема пищи.

Миллионы лет *in vivo* (до синтеза инсулина) доминировал оптимальный, но потенциально не высокоэффективный, пальмитиновый вариант метаболизма ЖК, наработки клетками энергии. Миллионы лет, пока клетки не начали реализовать биологическую функцию локомоции, образованного митохондриями количества АТФ при окислении пальмитиновой НЖК, было, вероятно, достаточно. Со становлением функции локомоции, движения за счет сокращения скелетных, поперечнополосатых миоцитов, нарабатываемой *in vivo* энергии стало явно мало. По этой причине среди регуляторов метаболизма *in vivo* ЖК на первом месте оказался вновь синтезированный, поздний в филогенезе, гуморальный медиатор инсулин. Его постоянно синтезируют β -клетки поджелудочной железы; секретируют же клетки инсулин только при реализации биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии (внешне-го питания) во время и после приема пищи.

Основной причиной повышения ХС-ЛПНП, является; а) избыточное количество *in vivo* экзогенной пальмитиновой НЖК в форме пальмитиновых ТГ; б) формирование большого числа пальмитиновых ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП, которые в крови не формируют апоЕ/В-100 лиганд и их не могут поглотить клетки. В крови происходит накопление безлигандных пальмитиновых ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП и увеличение содержания, главным образом, незтерифицированного спирта ХС в составе полярного монослоя в пальмитиновых ЛПОНП $\rightarrow$ ЛПНП - ХС-ЛПНП.

Объективный метод оценки степени переедания пациентом плотоядной (мясной) пищи. В течение последнего времени мы изложили иную теорию этиологии атеросклероза, которая восходит к 1908 году, когда русские ученые А. Игнатовский и С. Салтыков, в экспериментах на кроликах воспроизвели атероматоз аорты при скормливании травоядным животным мяса. Мы полагаем, что атеросклероз как афизиологичный процесс *in vivo* начинается формироваться тогда, когда травоядный в филогенезе *Homo sapiens* начинает злоупотреблять плотоядной (мясной) пищей. При этом в онтогенезе начинается и годами продолжается становление процесса, который можно оценить, используя разработанный нами подход к диагностике и профилактике атеросклероза, используя методы клинической биохимии.

Можно проследить как *Homo* не очень-то *sapiens*, будучи травоядным на ступенях филогенеза и в онтогенезе, постепенно начинает превращаться в плотоядного. Это - основа патогенеза вначале атеросклероза, за которым облигатно следует атероматоз. Вместе с тем это два этиологически разных процесса, нарушения *in vivo* разных биологических функций: а) атеросклероз – нарушение биологической функции трофологии (питания) и б) атероматоз – биологической функции эндоэкологии – поддержание «чистоты» межклеточной среды *in vivo*.

Мы предлагаем применить в клинической практике,

в диагностике прием, который позволяет объективно, по четырем степеням и при качественном различии, оценивать переедание травоядным *Homo sapiens*, (пациентом) мясной пищи. Мы хотели бы не спрашивать пациента о количестве поедаемой им плотоядной пищи, а объективно указывать ему на степень нарушения им физиологического питания. В противном случае это обязательно приведет к формированию *in vivo* вначале атеросклероза, а далее и атероматоза, объективно приближая время клинической картины острого коронарного синдрома [27].

Тестами объективного контроля афизиологического переедания мясной пищи, экзогенной пальмитиновой НЖК являются:

- первая степень - увеличение в плазме крови натошак содержания ТГ в форме ПОП;
- вторая степень – гипертриглицеридемия + повышение ХС-ЛПНП в составе пальмитиновых ЛПНП;
- третья степень - увеличение в плазме крови содержания еще и апоС-III;
- четвертая степень – в дополнение к тому, что уже нарушено, еще и увеличение концентрации апоВ-48 [28].

Если же эти параметры проследить у пациентов на основании оценки электрофореграмм ЛП и использовать метод фенотипирования (типирования) ГЛП по классификации ВОЗ:

- первая степень переедания при типировании ГЛП не информативна;
- вторая степень – гиперлипопротеинемия типа IV;
- третья степень – ГЛП типа IIb и
- четвертая степень – ГЛП типа V; это почти что плотоядное питание *Homo* ну совсем не *sapiens*. И вне сомнения, все типы ГЛП сопровождает синдром резистентности к инсулину, основу которого составляет повышение в плазме крови содержания ЖК в форме НЭЖК [29]. Согласно филогенетической теории общей патологии, ни одна из клеток *in vivo* не начнет пассивно (активированно) поглощать глюкозу, пока есть возможность из межклеточной среды поглощать ЖК в форме полярных НЭЖК при действии филогенетически более поздней, более совершенной CD-транслоказы ЖК. И все ГЛП сопровождает активация биологической функции эндозологии, биологической реакции воспаления [30].

Подобная профилактическая направленность клинического обследования является диагностическим подходом, который на основании объективных результатов, теоретически обоснованно позволяет характеризовать степень нарушения биологической функции питания, функции трофологии и объяснить это пациенту. Многофакторный же метод позволяет длительно проводить мониторинг диетотерапии при разной степени нарушений биологической функции трофологии в процессе ее нормализации. Суммирование функционально разных методических приемов, подходов к оценке нарушения функции трофологии, позволяет у каждого пациента отслеживать эффективность диетотерапии с того уровня нарушений, на котором мы начали пациента наблюдать. Применение же гиполипидемических фармпрепаратов (фибраты, глитазоны, никотиновая кислота) относится, в первую очередь, к наследуемым фенотипам ГЛП; это ГЛП фенотипа I - семейная гипертриглицеридемия [31], семейная гиперхолестеринемия – ГЛП фенотипа IIa; ГЛП фенотипа III – семейная дислипопротеинемия [32].

Если, поедаемую пациентом пищу можно детально

охарактеризовать как «сдвиг вправо», как это приведено выше, профилактика атеросклероза и атероматоза никогда не будет легкой, но всегда окончится успешно. И чем больше реализация биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии будет соответствовать сдвигу влево, тем выше риск становления атеросклероза, присоединения атероматоза, короче время до возникновения симптомов ИБС, поражения атероматозом коронарных артерий и инцидентов инфаркта миокарда.

Тесты нарушенного метаболизма ЖК, формирование атеросклероза, атероматоза и ишемической болезни сердца. Предложение наше, мы полагаем, является биологически, филогенетически и онтогенетически обоснованным, клинически значимым и достоверным; основу его составляет индивидуальная оценка степени нарушения биологической функции трофологии. Предложенный метод дает возможность составить полное представление о том, как с согласия самого пациента формируется нарушение биологической функции трофологии, метаболизма ЖК и формирование ИБС [33]. Мнение этих авторов наиболее близко к предложенному нами способу оценки всех сторон алиментарной ГЛП. И успешно устранить содеянное пациентом можно не то что с согласия пациента, а только при больших усилиях с его стороны, при активации когнитивной биологической функции пациента и даже его интеллекта. Такие метаболические пандемии как атеросклероз, атероматоз и ожирение патология несомненно соматическая, однако с когнитивной, интеллектуальной основой и с особой долей противоречия на ступенях филогенеза. Предложенный нами диагностический прием полностью соответствует филогенетической теории общей патологии. Тактика мониторингирования не содержит новых тестов, необходимости в них нет; она в полной мере соответствует биологическому постулату Э. Геккеля - каждая особь в онтогенезе своем повторяет основные этапы филогенеза всего живого.

Всеядным человек не является и биологически (в полном смысле) это невозможно. Ни одно животное не может утром оторвать от туши кусок мяса и, не жуя, проглотить его; а к вечеру длительно, часам собирать и часами пережевывать сено или сырые овощи. Все животные являются плотоядными, рыбающими в океане, или травоядными на суше. Медведь может длительно питаться только кашей; человек же не может питаться свежим, сырым мясом; потребляя он его в жареном и вареном виде. И медведю значительно проще при действии биологического принципа «голод не тетка» временно (филогенетически) адаптироваться под травоядного. Никакие отсроченные нарушения метаболизма ЖК при этом не разовьются. Если же человек станет адаптироваться к поеданию большого количества мясной пищи (афилогенетическая) адаптация, результатов этого станет атеросклероз, атероматоз, и острый коронарный синдром.

Новый метод мониторингирования наиболее частых в клинике эпигенетически обусловленных типов ГЛП, не исключает того, что возможны и врожденные нарушения ГЛП фенотипа IIb, фенотипа IV и фенотипа V [34]. Формирование ГЛП типа IV может быть и следствием нарушения секреции гуморальных медиаторов (гормонов) железами внутренней секреции [35]. Вместе с тем, вероятно и при эпигенетических типах ГЛП констатировать изменения в генах [36], которые формиру-

ют процессы компенсации нарушенной биологической функции питания, учитывая первостепенную роль ее *in vivo*. К тому же референсные интервалы для всех анализов, которые мы использовали в многофакторной оценке ГЛП, установлены в многоцентровых кооперативных протоколах и проверены при использовании мета-анализа [37, 38].

Экзогенными факторами ГЛП наиболее часто является пища богатая пальмитиновой ЖК; наиболее афизиологичной пищей является говядина, в которой содержание пальмитиновой НЖК достигает 60%. Хотя в sn-2 ТГ говядины чаще этерифицирована пальмитиновая НЖК, в меньшей мере олеиновая МЖК, в sn-1 и sn-3 часто этерифицирована и олеиновая МЖК. То же можно видеть и в коровьем молоке, сливках, сметане и в сырах, в которых, в отличие от говядины, в sn-2 ТГ всегда этерифицирована пальмитиновая ЖК. Вторым фактором формирования ТГ как ПОП является избыток в пище углеводов, которые гепатоциты в целях депонирования в адипоцитах превращают в пальмитиновую ЖК; формально пальмитиновую ЖК мы рассматриваем как «гидрофобную форму» глюкозы, оптимальную для депонирования в жировых клетках. Функционально важно, чтобы вся синтезированная гепатоцитами травоядных из экзогенной глюкозы пальмитиновая НЖК была вся при действии инсулина превращена в олеиновую НЖК. Только окисляя олеиновую МЖК, митохондрии в полной мере высокоэффективно нарабатывают энергию в форме макроэргического АТФ в количестве, которое достаточно для удовлетворения обеспечения реализации всех биологических функций *in vivo* [39]. В этом состоит один из важных аспектов биологического действия инсулина, в превращении плотоядных (рыбоядных) в океан в травоядных на суше, коим является и вид *Homo sapiens*.

Возвращение *Homo sapiens* (пациента) к филогенетическому травоядному питанию является основой профилактики атеросклероза, атероматоза, острого коронарного синдрома и инфаркта миокарда. Это мнение отражено во многих клинических наблюдениях, кооперативных, эпидемиологических исследованиях и подтверждено данными мета-анализа [40-42]. Оценивая в динамике параметры постпрандиальной ГЛП, можно получать достоверную информацию относительно того, становится ли питание пациента более травоядным или диета все в большей мере сдвигается в сторону плотоядного питания. Дельная оценка даже короткого периода секреции энтероцитами ХМ, учет особенностей гипертриглицеридемии в постпрандиальном периоде и увеличение ХС-ЛПНП, включая и содержание поли-ЭХС, дает возможность комплексно оценить необходимые профилактические мероприятия, включая и метод электрофореза ЛП. Однако авторы из многих диагностических методов не формируют какие-то логические последовательности, тем более не принимают во внимание различия и единение филогенеза и онтогенеза. Это все еще предстоит сделать, по большому счету учитывая характер питания, особенности абсорбции экзогенных и синтеза эндогенных ЖК из глюкозы и функцию микробиоты толстого кишечника [43].

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Титов В.Н. Биологическая функция трофологии (питания) и патогенез метаболического синдрома – физиологического перекармливания. Филогенетическая теория общей патологии, лептин и адипонектин. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 2: 68 – 79.
2. Титов В.Н., Амелюшкина В.А., Рожкова Т.А. Конформация апоВ-100 в филогенетически и функционально разных липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Алгоритм формирования фенотипов гиперлипотеинемии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014; 1: 27 - 38.
11. Титов В.Н., Лисицын Д.М. *Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина*. М.- Тверь: ООО «Издательство «Триада». 2006.
13. Титов В.Н. *Первичный и вторичный атеросклероз, атероматоз и атеротромбоз*. М.- Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2008.
14. Рожкова Т.А., Титов В.Н., Амелюшкина В.А., Каба С.И., Кухарчук В.В. Липолиз в филогенетически ранних липопротеинах низкой плотности и более поздних липопротеинах очень низкой плотности; функция и диагностическое значение апоЕ и апоС-III. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60(12): 4 – 14.
39. Шноль С.Э. *Физико-химические факторы биологической эволюции*. М.: Наука; 1979.

REFERENCES

1. Titov V.N. Biological function of trophology (nutrition) and pathogenesis of metabolic syndrome - physiological overeating. Phylogenetic theory of general pathology, leptin and adiponectin. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2014; 2: 68 – 79. (in Russian)
2. Titov V.N., Amelyushkina V.A., Rozhkova T.A. Conformation of apoB-100 in phylogenetically and functionally different lipoproteins of low and very low density. Algorithm for the formation of phenotypes of hyperlipoproteinemia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2014; 1: 27 - 38. (in Russian)
3. Mahalle N., Kulkarni M.V., Naik S.S., Garg M.K. Association of dietary factors with insulin resistance and inflammatory markers in subjects with diabetes mellitus and coronary artery disease in Indian population. *J. Diabetes. Complications*. 2014 Jul-Aug; 28(4):536-4
4. Kinoshita M., Kojima M., Matsushima T., Teramoto T. Determination of apolipoprotein B-48 in serum by a sandwich ELISA. *Clin. Chim. Acta*. 2005 Jan;351(1-2):115-20.
5. Ramasamy I., Update on the molecular biology of dyslipidemias. *Clin. Chim. Acta*. 2016; 454: 143 - 85.
6. Battula S.B., Fitzsimons O., Moreno S., Owens D., Collins P., Johnson A., Tomkin G.H. Postprandial apolipoprotein B48 and B100-containing lipoproteins in type 2 diabetes: do statins have a specific effect on triglyceride metabolism? *Metabolism*. 2000; 49(8): 1049 - 54.
7. Zheng C., Khoo C., Furtado J., Ikewaki K., Sacks FM. Dietary mono-unsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008 Aug; 88(2): 272-81.
8. Drouin-Chatier J.P., Hogue J.C., Tremblay A.J., Bergeron J., Larmarche B., Couture P. The elevation of plasma concentrations of apoB-48-containing lipoproteins in familial hypercholesterolemia is independent of PCSK9 levels. *Lipids. Health. Dis.* 2017; 16(1): 119 - 126.
9. März W., Grammer T.B., Delgado G., Kleber M.E. Congenital disorders of lipoprotein metabolism. *Herz*. 2017; 42(5): 449 - 58.
10. Lewis G.F., Xiao C., Hegele R.A. Hypertriglyceridemia in the genomic era: a new paradigm. *Endocr. Rev.* 2015; 36(1): 131 - 47.
11. Titov V.N., Lisizin D.M. *Fatty acid. Physical chemistry, biology and medicine*. [Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина]. Moscow- Tver': ООО «Издательство «Триада»; 2006. (in Russian)
12. Sahin N., Akoh C.C., Karaali A. Lipase-catalyzed acidolysis of tri-

- palmitin with hazelnut oil fatty acids and stearic acid to produce human milk fat substitutes. *J. Agric. Food. Chem.* 2005; 53(14): 5779 - 83.
13. Titov V.N. *Primary and secondary atherosclerosis, atheromatosis and atherothrombosis*. [Pervichiy i vtorichnyy ateroskroz, ateromatoz i aterotromboz]. Moscow-Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2008. (in Russian)
 14. Rozhkova T.A., Titov V.N., Amelushkina V.A., Kaba S.I., Kukharchuk V.V. Lipolysis in phylogenetically early low-density lipoproteins and later very low density lipoproteins; Function and diagnostic value of apoE and apo-III. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 60(12): 4 -14. (in Russian)
 15. Gaudet D., Alexander V.J., Baker B.F., Brisson D., Tremblay K. Antisense Inhibition of ϕ lipoprotein C-III in zatiens with pypertiglyceridemia. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373(5): 438 - 47.
 16. Yamamoto M., Yamamoto M¹, Oohashi T, Katoh N, Oikawa S. Increased serum concentration of apolipoprotein C-III and its greater distribution to chylomicrons than to the high-density lipoprotein fraction in a calf with hyperlipidemia. *J. Vet. Med. Sci.* 2000 Oct; 62(10):1033-9.
 17. Takahashi T., Hirano T., Okada K., Adachi M. Apolipoprotein CIII deficiency prevents the development of hypertriglyceridemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Metabolism*. 2003; 52(10): 1354 - 9.
 18. Gordts P., Nock R., Son N.H., Ramms B., Lew I., Gonzales J.C. ApoC-III inhibits clearance of triglyceride-rich lipoproteins through LDL family receptors. *J. Clin. Invest.* 2016; 126(8): 2855 - 66.
 19. Klein R.L., McHenry M.B., Lok K.H., Hunter S.J., Le N.A., Jenkins A.J., Zheng D., Apolipoprotein C-III protein concentrations and gene polymorphisms in type 1 diabetes: associations with lipoprotein subclasses. *Metabolism*. 2004; 53(10): 1296 - 1304.
 20. Ai M., Otokoza S., Asztalos B.F., Ito Y., Nakajima K., White C.C., Small dense LDL cholesterol and coronary heart disease: results from the Framingham Offspring Study. *Clin. Chem.* 2010; 56(6): 967 - 76.
 21. Olivieri O., Martinelli N., Girelli D., Pizzolo F., Friso S, Beltrame F. Apolipoprotein C-III predicts cardiovascular mortality in severe coronary artery disease and is associated with an enhanced plasma thrombin generation. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8(3): 463 - 71.
 22. Hiukka A., Fruchart-Najib J., Leinonen E., Hilden H., Fruchart J.C., Taskinen M.R. Alterations of lipids and apolipoprotein CIII in very low density lipoprotein subspecies in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2005; 48(6): 1207 - 15.
 23. Ikeda H., Ikeda T. The ratios of apoC-III/apoC-II in normal full-term maternal bloods and their umbilical cord bloods. *Rinsho Byori*. 2001; 49(1): 45 - 50.
 24. Larsson M., Vorrjö E., Talmud P., Lookene A., Olivecrona G. Apolipoproteins C-I and C-III inhibit lipoprotein lipase activity by displacement of the enzyme from lipid droplets. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(47): 33997 - 40008.
 25. Gracham M.J., Lee RG, Bell TA 3rd, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, Singleton W. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res*. 2013 May 24;112(11):1479-90.
 26. Hommelberg P.P., Plat J. Sparks L.M., Schols A.M., van Essen A.L. Palmitate-induced skeletal muscle insulin resistance does not require NF- κ B activation. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2011; 68(7): 1215 - 25.
 27. Mihos C., Kolovou G.D., Mikhailidis D.P., Kovar J., Lairon D, Nordestgaard B.G. Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2011; 9(3): 271 - 80.
 28. Otokoza S., Ai M., Diffenderfer M.R., Asztalos B.F., Tanaka A. Fasting and postprandial apolipoprotein B-48 levels in healthy, obese, and hyperlipidemic subjects. *Metabolism*. 2009; 58(11): 1536 - 42.
 29. Mahalle N.P., Garg M.K., Kulkarni M.V., Naik S.S. Differences in traditional and non-traditional risk factors with special reference to nutritional factors in patients with coronary artery disease with or without diabetes mellitus. *Indian. J. Endocrinol. Metab.* 2013; 17(5): 844 - 50.
 30. Serhan C.N. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu. Rev. Immunol.* 2007; 25: 101 - 37.
 31. Stroes E., Moulin P., Parhofer K.G., Rebours V., Löhr J.M., Aversa M. Diagnostic algorithm for familial chylomicronemia syndrome. *Atheroscler. Suppl.* 2017; 23: 1 - 7.
 32. Johansen C.T., Kathiresan S., Hegele R.A. Genetic determinants of plasma triglycerides. *J. Lipid. Res.* 2011; 52(2): 189 - 206.
 33. Tani S., Matsumoto M., Nagao K., Hirayama A. Association of triglyceride-rich lipoproteins-related markers and low-density lipoprotein heterogeneity with cardiovascular risk: effectiveness of polyacrylamide-gel electrophoresis as a method of determining low-density lipoprotein particle size. *J. Cardiol.* 2014; 63(1): 60 - 8.
 34. Pavlidis A.N., Kolovou G.D., Anagnostopoulou K.K., Petrou P.C., Cokkinos DV. Postprandial metabolic heterogeneity in men with primary dyslipidaemia. *Arch. Med. Sci.* 2010; 6(6): 879 - 86.
 35. Kolovou G.D., Anagnostopoulou K.K., Kostakou P.M., Bilianou H., Mikhailidis D.P. Primary and secondary hypertriglyceridaemia. *Curr. Drug Targets*. 2009; 10(4): 336 - 43.
 36. Ribalta J., Vallvé J.C., Girona J., Masana L. Apolipoprotein and apolipoprotein receptor genes, blood lipids and disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2003; 6(2): 177 - 87.
 37. Ashavaid T.F., Kondkar A.A., Todur S.P., Dherai A.J., Morey J., Raghavan R. Lipid, lipoprotein, apolipoprotein and lipoprotein(a) levels: reference intervals in a healthy Indian population. *J. Atheroscler. Thromb.* 2005; 12(5): 251 - 9.
 38. Sakurabayashi I., Saito Y., Kita T., Matsuzawa Y., Goto Y. Reference intervals for serum apolipoproteins A-I, A-II, B, C-II, C-III, and E in healthy Japanese determined with a commercial immunoturbidimetric assay and effects of sex, age, smoking, drinking, and Lp(a) level. *Clin. Chim. Acta*. 2001; 312(1-2): 87 - 95.
 39. Shnol S.E. *Physicochemical factors of biological evolution*. [Fiziko-khimicheskiye faktory biologicheskoy evoluzii]. Moscow: Izdatel'stvo "Nauka"; 1979. (in Russian)
 40. O'Keefe J.H., Carter M.D., Lavie C.J. Primary and secondary prevention of cardiovascular diseases: a practical evidence-based approach. *Mayo Clin. Proc.* 2009; 84(8): 741 - 57.
 41. Kones R., Rumana U. Cardiovascular prevention: components, levels, early origins, and metrics. *Hosp. Pract (1995)*. 2014; 42(3): 84 - 95.
 42. Mihos C., Kolovou G.D., Mikhailidis D.P., Kovar J., Lairon D. Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2011; 9(3): 271 - 80.
 43. Jumpertz R., Le D.S., Turnbaugh P.J., Trinidad C., Bogardus C., Gordon J.I., Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 94(1): 58 - 65.

Поступила 14.12.2018

Принята к печати 25.12.2018

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДЫ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА. ПЕПТОНЫ, АМИНОКИСЛОТЫ, ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ, ЛИПОПРОТЕИНЫ, ЛИПИДЫ И ДЕЙСТВИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ

¹ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Госсанэпиднадзора РФ, 142279, г. Оболensk Московской области;

²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава РФ, 121552, Москва, Россия

Согласно филогенетической теории общей патологии, формирование многоклеточных стало происходить, когда каждая из клеток (одноклеточных) достигла первого уровня относительного биологического совершенства. К этому времени, стимулы совершенствования одноклеточных были исчерпаны; формирование многоклеточных в биологии стало необходимостью. Все клетки в ассоциации начали формировать второй уровень относительного биологического совершенства при соблюдении принципа биологической преемственности. В ассоциацию вступили высоко организованные одноклеточные с присущими им аутокринными биологическими функциями и биологическими реакциями. На втором уровне относительного биологического совершенства, в паракринно регулируемых сообществах (ПС) клеток и органов все гуморальные медиаторы были, в основном, гидрофильными, короткоживущими. Они имели небольшую мол. массу; вероятно, это были биологически активные пептиды (БАП), олигопептиды. Основой функционального различия разных ПС клеток, а позже и органов, стало, мы полагаем, дифференцирование функции лизосом, синтез разных ферментов для протеолиза белков пищи. Это позволило разным ПС клеток и органам из одного белка формировать при протеолизе химически и функционально разные пулы БАП. Именно индивидуальные пулы пептидов в ПС клеток стали основой формирования морфологически и функционально разных клеток, а далее и органов. Клетка, формируя пептиды, может изменять концентрацию их, химическую природу и соотношение, изменяя селективность синтезируемых протеаз. Регуляция *in vivo* метаболизма биологически активными пептидами имеет общие начала у бактерий, растений, у высших позвоночных, включая и вид *Homo sapiens*. Третий уровень относительного биологического совершенства сформировался в организме при действии когнитивной биологической функции.

Ключевые слова: пептиды; пептоны; метаболизм; жирные кислоты; одноклеточные, многоклеточные.

Для цитирования: Ариповский А. В., Титов В. Н. Биологически активные пептиды в регуляции метаболизма. Пептоны, аминокислоты, жирные кислоты, липопротеины, липиды и действие нутрицевтиков. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(1): 14-23 DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-14-23>

Aripovsky A. V.¹, Titov V. N.²

BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES IN METABOLISM REGULATION. PEPTONS, PEPTIDES, AMINO ACIDS, FATTY ACIDS, LIPOPROTEINS, LIPIDS, AND THE EFFECT OF NUTRICEUTICALS

¹Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, State Sanitary Inspection, Obolensk, Moscow Region, 142279;

²National Medical Research Center for Cardiology, 121552, Moscow

According to phylogenetic theory of general pathology, formation of multicellular organisms started when each cell (a unicellular organism) reached the first level of relative biological perfection. By that time the stimuli for perfection of the unicellular exhausted, and formation of the multicellular became a biological necessity. All cells, being associated, formed the second level of relative biological perfection within the principle of biological succession. The association included highly organized unicellular organisms with their specific autocrine biological functions and reactions. At the second level of relative biological perfection all humoral mediators in paracrine regulated cell communities (PC) and organs were predominantly hydrophilic and short living. They had a small molecular weight and were probably biologically active peptides (BAP). We believe that functional difference of PC and later of organs is based on differentiation of lysosomal function and production of various enzymes involved in proteolysis of dietary proteins. This allowed various PC and organs to form chemically and functionally different BAP pools from one protein upon proteolysis. Individual peptide pools in PC created the basis for morphologically and functionally different cells and organs. Cell that produces peptides can modify their concentration, chemical parameters and ratios by varying the selectivity of its proteases. *In vivo* regulation of metabolism by BAP has a common root in bacteria, plants and vertebrates, including *Homo sapiens*. The third level of relative biological perfection in the organism has formed in close association with cognitive biological function.

Key words: peptide; peptons; metabolism; fatty acids; unicellular; multicellular

For citation: Aripovsky A. V., Titov V. N. Biologically active peptides in metabolism regulation. Peptons, peptides, amino acids, fatty acids, lipoproteins, lipids, and the effect of nutraceuticals. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 14-23. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-14-23>

For correspondence: Aripovsky A. V., candidate of Chemical Sciences., Leading scientific; e-mail: aripovsky@rambler.ru

Acknowledgment. This study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Received 14.12.2018
Accepted 25.12.2018

В настоящее время клинические биохимики и клиницисты оценивают степень поражения интимы артерий эластического (смешанного) типа при атеросклерозе и атероматозе на основании биохимических, диагностических критериев; именуют их факторами риска. Это: а) концентрация в плазме крови спирта холестерина (ХС) (ХС незатерифицированный + ХС в форме эфиров с жирными кислотами - эфиры холестерина (ЭХС) в плазме крови; б) общее содержание триглицеридов (ТГ) в составе всех липопротеинов (ЛП) плазмы крови и в) раздельно содержание ХС в липопротеинах высокой и низкой плотности (ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП). Липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) и ЛПНП переносят ко всем клеткам жирные кислоты (ЖК), высокое содержание ХС-ЛПНП указывает на нарушение поглощения их клетками со всеми переносимыми ими ЖК в форме ТГ; оно не желательно.

ЛПВП, наоборот, «собирают» в межклеточной среде остатки полярного ХС (спирта) от которого избавляются клетки, выводя его в межклеточную среду; далее ЛПВП доставляют его в печень. Гепатоциты используют ХС как субстрат для синтеза желчных кислот – активных эндогенных детергентов (эмульгаторов). Высокий уровень ХС-ЛПВП с позиций диагностики следует всячески приветствовать, если это происходит за счет это накопление эфиров ХС (этерифицированных спиртом ХС жирных кислот, ЭХС), исключая афизиологичное повышение ХС-ЛПВП за счет накопления в ЛП незатерифицированного спирта ХС [1]. А каким же образом биологически активные пептиды (БАП), пептоны и средства нутрицевтики могут быть задействованы в регуляции параметров биохимических тестов [2].

При синдроме резистентности к инсулину (синдром ИР) и ожирении четко показано позитивное действие пептонов, образованных из многих белков пищи, то способностью понизить содержание в плазме крови ХС и ТГ обладают далеко не все БАП. Выражено позитивное действие оказывают пептиды белков сои, белков риса («рисоседы» редко болеют атеросклерозом и атероматозом) и белков сыворотки молока. Казеин же молока оказывается неактивен, несмотря на то, что казеин и лактальбумин получены из одного источника, из коровьего молока. И опять-таки, белки, расщепленные до коротких пептидов, олигопептидов, действуют гораздо эффективнее исходных полипептидов, тем более протеинов [3]. Из пептонов выделено много БАП, коротких молекул (2-4 аминокислотных остатка); они прочно связывают ХС *in vitro* и одновременно снижают его уровень у животных в плазме крови при приеме с пищей. Первоначально считали, что это, как правило, выражено гидрофобные пептиды, но позже выделены и сравнительно гидрофильные БАП как *Лей-Про-Тир-Про-Лиз-Илей-Ала-Глю-Лиз*, а потом выделен и БАП - активный дипептид *Асп-Глу*; последний выражено гидрофильный [4].

Этот БАП выделен [5] из так называемого «соевого молока» - продукта ферментации кишечных лактобактерий и термофильных стрептококков на соевом белке; бактерии своими протеазами расщепляют белок тщательно до ди- и тетра пептидов. Когда крысам скармливали диету с высоким содержанием жира и ХС, животным экспериментальных групп одновременно в пищу вводили соевое молоко или индивидуальный пептид *Асп-Глу*. При этом наблюдали снижение содержания ХС, ТГ и ХС-ЛПНП при одновременном росте ХС-ЛПВП. И в составе экскрементов крыс возрастает содержание ХС.

Несмотря на столь эффективное действие, механизмы гипохолестеринемического действия пептонов и сейчас не вполне ясны. Вероятно, действие их реализовано несколькими механизмами.

Во-первых, эффективен механизм подобный действию фибратов: этот биохимический путь используют клиницисты для снижения содержания ХС и ХС-ЛПНП путем добавления в пищу лекарственных препаратов класса фибратов. Фибраты – синтетические ЖК, в цепь атомов углерода которых введены циклические шестичленные радикалы: реже это эфиры ЖК с изопропиловым спиртом (гемфиброзил). Фибраты в просвете кишечника прочно связывают желчные кислоты, инициируя удаление их с калом. Физиологичная схема выведения нормы выглядит так: а) вначале из ХС как исходного субстрата гепатоциты синтезируют желчные кислоты; б) происходит экскреция их в тонкий кишечник с целью эмульгировать экзогенные липиды пищи. После завершения функции эмульгирования, основную массу желчных кислот (до 90%) клетки толстого кишечника подвергают реабсорбции. Они возвращают их в кровоток для повторного использования: организм стероиды экономит. Это может быть определено тем, что для синтеза *in situ de novo* молекулы ХС каждая из клеток затрачивает 14 молекул АТФ.

Напомним, что действие стерола реализовано как на первом (аутокринном, клеточном) уровне относительно биологического совершенства, так и на втором уровне в ПС клеток, в органах и системе органов. Заметим, что ЛП не переносят ХС от гепатоцитов ко всем клеткам; каждая из клеток с ранних ступеней филогенеза синтезирует ХС из уксусной кислоты, точнее из ацетил-КоА в количестве *quantum sates*. В то же время, от каждой их клеток необходимо отвозить синтезированный ею ХС; эту функцию с ранних ступеней филогенеза исполняют функционально самые ранние ЛПВП. Метаболизировать ХС соматические клетки не могут. В прошедшем XX столетии за исследование ХС присуждено 14 Нобелевских премий; однако проблема этиологии и патогенеза атеросклероза и атероматоза не стала более понятной. Только в настоящее время мы приблизились к пониманию того, что атеросклероз и атероматоз это патология метаболизма жирных кислот (ЖК) и биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии (внешнего питания).

Синтетические фибраты, гидрофобные БАП образует с желчными кислотами прочный комплекс; его не могут поглотить клетки эпителия толстого кишечника и желчные кислоты оказываются экскретированы с калом. В этих условиях гепатоциты *in vivo* синтезируют новую порцию желчных кислот; синтез желчных кислот происходит из спирта ХС, который к гепатоцитам доставляют ЛПВП. Дефицит желчи (желчных кислот) ухудшает эффективность эмульгирования и усвоения жиров. В отсутствии оптимального содержания желчных кислот в кишечнике, всасывание экзогенных липидов и ЖК будет нарушено. Желчные кислоты выражено гидрофобны; химик интуитивно ощущает, что в механизме действия подобно фибратам активными будут лишь гидрофобные пептиды. Стало быть, гидрофильные пептиды эти механизмы не реализуют [4].

Действительно, возможно еще несколько механизмов действия пептидов: короткие БАП ингибируют активность ферментов в цепочке синтеза эндогенного холестерина из глюкозы, из ацетил-КоА. ХС *in vivo*

формирует два пула: а) экзогенный ХС, который поступает с плотоядной (мясной) пищей и б) эндогенный ХС, синтезированный каждой из клеток организма из уксусной кислоты, точнее из ацетил-КоА. Возможно, короткие БАП воздействуют на активность энзимов, которые ответственны за химические превращения и удаление ХС. Не исключено, что воздействию подвержена 7- α -гидролаза в гепатоцитах; она запускает реакции для последующего превращения ХС в дезоксихолевую и холевую желчные кислоты.

Мы уже отметили, что не все белки (и производные от них пептоны) способны влиять на параметры метаболизма ЖК и липидов. Напомним, что ХС это спирт и к липидам отношения не имеет. Липидами являются, мы полагаем, ЖК и все соединения, в состав которых ЖК входят. И если ХС это спирт, то эфир ХС с олеиновой мононенасыщенной ЖК это уже липид, холестерололеат. Согласно квалификации Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC) все эфиры принято называть по имени спирта, которым они этерифицированы; поэтому мы говорим – ХС и эфиры холестерина, ЭХС с жирными кислотами.

Какие же принципы положены в основу гипохолестеринемической активности коротких БАП? Экспериментаторы заявляют, что аминокислотный состав протеинов для гидролиза имеет, в данном случае, первостепенное значение [6]. При этом принципиально важными являются величины отношений лизин/аргинин и метионин/глицин (*Лиз/Арг* и *Мет/Гли*) в составе белков пищи, который подвержен ферментативному гидролизу. Чем ниже эти отношения, тем благоприятнее влияет белок - или приготовленный из него пептон на метаболизм ЖК, липидов и ЛП. Тридцатью годами ранее [7] выполнены показательные эксперименты; на диете с преобладанием казеина, которая бедна аргинином, в сравнении с соевой диетой в плазме крыс возрастает содержание ТГ и ХС. В плазме крови, в основном, увеличивается содержание хиломикронов (ХМ) и ЛПОНП; одновременно развивается синдром резистентности к инсулину, параллельно появляются проблемы с инсулином и снижается активность 7- α -гидролазы в гепатоцитах. Однако если добавить к казеину аминокислоту аргинин (*Арг*), приближая его по составу к соевому пептону, нежелательное повышения липидов и ЛП оказывается нивелированным. И наоборот, если благоприятную для крыс в плане липидов соевую диету обогатить лизином (*Лиз*), то картина начинает приближаться к наблюдаемой при казеиновой диете. И меняя отношение глицин/метионин можно наблюдать сходные изменения.

В общем, последовательность событий может быть рассмотрена так. 1. Низкое отношение *Лиз/Арг* в БАП повышает секрецию инсулина и снижает освобождение глюкогона из α -клеток островков поджелудочной железы. 2. Инсулин блокирует липолиз в инсулинзависимых подкожных адипоцитах (ИПА) и понижает в межклеточной среде содержание полярных, неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК); в кровотоке их переносит транспортный белок альбумин. 3. В отсутствии в межклеточной среде НЭЖК, все клетки при действии пептона с БАП быстро поглощают глюкозу и используют ее в синтезе ЖК. 4. Содержание субстратов в межклеточной среде восстанавливается активацией биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации. 5. Далее адреналин активирует липолиз в независимых от инсулина висцеральных жировых клетках (ВЖК) саль-

ника и все клетки *in vivo* удовлетворяют потребности субстрата для наработки АТФ из ЖК.

В регуляции биологической функции гомеостаза и метаболизма наблюдают следующую последовательность событий: а) физиологичное ингибирование инсулином липолиза в ИПА; б) синтез клетками ЖК *de novo* из поглощенной клетками глюкозы и в) активация адреналином липолиза в ВЖК сальника. При этом не происходит выраженных изменений в содержании ЖК, липидов и ЛП в плазме крови. Активация БАП секреции инсулина β -клетками островков всегда активирует биохимические реакции анаболизма (реакции восстановления); одновременно в плане поддержания биологической функции гомеостаза происходит активация компенсаторных, катаболических реакций окисления в митохондриях ЖК, которые освобождены адреналином (формально контринсулярным гормоном из ВЖК сальника).

Наиболее ранний способ получения энергии живыми клетками во времена Архей состоял в окислении митохондриями ЖК; глюкозы миллионы лет в мировом океане просто не было. Миллионы лет на планете Земля не было фотосинтеза; физико-химически он еще был сформирован. Много позже, после кислородной революции (поначалу-то и свободного O_2 в атмосфере не было), после судьбоносного слияния гетеротрофов, анаэробов Архей с автотрофами, аэробными бактериями, которые овладели фотосинтезом глюкозы, клетки выработала более поздний в филогенезе вариант сохранения субстрата (гликоген, крахмал в растениях) и получения энергии при окислении глюкозы. И если Археи окисляли в митохондриях ацетил-КоА, образованный при метаболизме ЖК, то бактерии автотрофы стали окислять ацетил-КоА, который синтезирован из глюкозы в реакциях пируватдегидрогеназного комплекса цитоплазмы. Но ранее в филогенезе окисление митохондриями ЖК доминирует *in vivo* и у вида *Homo sapiens* во всех соматических клетках. Соматические клетки в митохондриях начинают окислять ацетил-КоА, который образован из глюкозы, только когда для окисления ЖК клеткам не хватает кислорода, в условиях гипоксии. В то же время более поздние в филогенезе клетки нервной ткани (нейроны, астроциты) постоянно окисляют в митохондриях ацетил-КоА, образованный только из глюкозы. Поэтому в соматических клетках субстратом для окисления в митохондриях и наработки АТФ физиологично, всегда являются ЖК, при гипоксии глюкоза, а в нервной ткани во всех ситуациях - только глюкоза.

Низкое отношение в БАП *Мет/Гли* [8] действие оказывает иначе; оно уменьшает содержание ХС в ткани печени за счет ингибирования активации ключевого фермента синтеза стерола, выступая в форме ингибитора 3-гидрокси-3-метилглутароил-коэнзимА редуктазы. Ферментированный пептон риса, в сравнении с нативными белками риса, гораздо активнее улучшает [9] параметры липидов плазмы крови. Пептон повышает ХС-ЛПВП, снижает ХС общий и ХС-ЛПНП, содержание спирта ткани печени и оптимизирует атерогенный индекс, на ТГ же влияния он не оказывает. Экскреция компонентов желчи с калом при этом увеличивается.

А вот пептон из рыбы, как и соевый пептон, снижает в плазме крови содержание ХС [10], но происходит это, вероятно, иными механизмами. Пептон из сои увеличивает потерю стероидов с калом, а пептон из рыбы снижает активность фермента лецитинхолестерин ацил-трансферазы АСАТ. Этот энзим превращает полярный спирт ХС в его неполярную форму холестерололеата, в

форму моно-ЭХС с целью более компактной упаковки в составе ЛПНП при переносе от всех клеток в гепатоцитах с целью использовать ХС как субстрат для синтеза желчных кислот. И в более поздних работах [11] исследователи указывают, что многие БАП способны понизить содержание ХС в плазме крови.

Пептон из рыбьей (лососиной) шкуры уже через 2 ч после приема снижает содержание ТГ в плазме крови и оно выражено коррелирует с концентрацией в пептоне свободного гидроксипролина (*ГиПро*) и *ГиПро* содержащих пептидов в плазме крови [12]. При постоянном приеме такого пептона (0,17% от веса рациона, примерно 1 г чистого пептона в сутки, 15 мг/кг) снижается содержание в плазме крови общих липидов, ТГ; масса тела и печени при этом не меняются. Глобулиновые пептоны при этом содержат БАП как *Вал-Вал-Три-Про*, *Вал-Тир-Про*, *Вал-Тре-Лей* и др. [13]. При этом авторы указывают, что действие БАП пептонов при снижении ими уровня спирта ХС и ТГ (эферы трех ЖК и трехатомного спирта глицерина) является разным.

Обобщение накопленной информации позволило выявить отличительные черты [14] БАП, которые обладают гиполлипидемическим действием. В молекуле должен быть концевой гидрофильный *Про*, но должна быть в наличии и гидрофобная часть молекулы. К примеру, из соевого белка глицина выделено (а также синтезированы *de novo* много пептидов (от тетра- до нонапептидов) как *Иле-Ала-Вал-Про*, *Лей-Про-Тир-Про*, *Лей-Про-Про-Арг*, *Сер-Про-Тир-Про-Арг*. Величина их IC_{50} составляют 50-120 мкМ, механизм действия - ингибирование активности 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзимА-редуктазы. Скорость синтеза эндогенного ХС в плазме крови определяется самой медленной стадией – биосинтезом мевалоновой кислоты. Эту стадию еще больше затормаживают применением ингибиторов. В Японии выпускают нутрицевтик «ХолестестБлок» на основе БАП гидролизата бобов [15]. Показано [16], что многие короткие пептиды с *Арг* на конце уменьшают стабильность спирта ХС в присутствии солей желчных кислот *in vitro* и *in vivo*. Вероятно, БАП затрудняют перенос ХС в гидрофильной межклеточной среде в форме мицелл [17]. Авторы сходятся во мнении, что желателно производить пептоны из таких белков, в которых *Гли* и *Арг* было бы больше, а *Лиз* и *Мет* меньше. Да где же набрать таких белков? Вместе с тем, эту идею действительно можно попробовать реализовать. Только, конечно, не придирчивым перебором исходных белков, а использованием реакции пластеинизации [10]. Но все не так просто!

Способность понижать уровень ХС и проявлять гиполлипидемическое действие глубоко расщепленного гидролизата, вообще говоря, не определяет ни тип исходного сырья, ни состав аминокислот, ни степень расщепления. Состав БАП в пептонах в большей мере зависит от параметров селективности примененного протеолитического фермента. В то же время четыре рыбьих пептона (гидролизата), которые получены из одного сырья имеют практически одинаковые доли свободных аминокислот и коротких БАП, но получены они при действии разных протеаз. Вместе с тем [18] действие пептонов на липиды мышей, которые поедали жирную пищу, оказалось выражено разным.

При получении пептонов при действии кислотой протеазы А и иного фермента - алкалаза-2,4L мыши, поедавшие его животные набирали вес вдвое меньше контрольных животных. При этом содержание ТГ в плазме

крови мышей выражено понизилось; в ткани печени снизилась активность синтетазы жирных кислот; уровень ХС изменился мало. Пептон, полученный при гидролизе нейтральной протеазой, проявляет противоположное действие. При действии пептонов выражено меняется состав ЖК в липидах с увеличением содержания полиненасыщенных ЖК (ПНЖК). Аналогичные эксперименты с кормлением крыс рыбьим, соевым или казеиновым пептонами [15] выявили большие различия. В отличие от казеинового, рыбьего пептона, пептоны из сои снижают содержание спирта ХС и ТГ в полтора-два раза. Рыбий пептон изменяет состав ЖК в липидах печени: они увеличивают доли ω -3- и ω -6 ПНЖК в составе мембран эритроцитов. Правда, содержание липидов в плазме крови при этом не изменились.

Рыбий пептон выражено повышает активность десатураз в печени: они начинают у животных, но не у человека, усиленно превращать ненасыщенные ЖК в ПНЖК. «Омега-3-индекс» представляет собой всего-то процентное содержание двух основных полиненасыщенных омега-3-кислот ω 3- 20:5 эйкозапентаеновой ПНЖК и ω 3- 22:6 докозагексаеновой ПНЖК в сумме всех ЖК в тканях, в эритроцитах. Омега-3 индекс - единственный в практике тест определения содержания ЖК в мембранах эритроцитов. Если омега-3-индекс физиологичен, более 7% - можно быть спокойным; от 7% - до 4 - необходимо ограничить потребление плотоядной пищи. Ну а если Омега-3 индекс ниже 4%, биологически обоснованно ожидать формирование атеросклероза, атероматоза интимы артерий эластического и смешанного типа и скорее развитие острого коронарного синдрома.

Иммуностимулирующее, противоопухолевое, анти-тромботическое действие, стимуляция метаболизма минералов. Анаболическое действие БАП в приготовленных пептонах мы можем объективизировать на основании: увеличения массы тела, достижений спортсменов, наращивания мышечной массы спортсменов, повышения содержания субстратов, активности ферментов при стандартном биохимическом анализе крови. Более подробно можно провести контроль состояния тестов липидологии, состав ЖК липидов в ЛП, фосфолипидов можно провести при использовании масс-спектрометрии, определяя тесты, которые именуют как липидом [19]. Проконтролировать действие инсулина *in vivo*, выраженность интолерантности к глюкозе при выяснении антидиабетического действия пептонов тоже можно. Это стандартные тесты углубленной диагностики при проведении функциональных нагрузок. Проконтролировать действие БАП пептонов на систему врожденного и приобретенного иммунитета значительно сложнее, как и оценить действие пептидов в качестве антиоксидантов, антимикробных, противоопухолевых и в отношении иных биологических параметров. А проследить столь медленный процесс кальцификации белковой матрицы костной ткани еще сложнее. Способны ли мы реально оценить подобное действие БАП пептидов? Это, безусловно, важно, но сколь успешно мы сумеем это проконтролировать [20].

Биологически активные пептиды изначально присутствуют в молекулах поедаемых белков в виде неких замаскированных фрагментов протеинов; протеолитические фрагменты лишь специфично высвобождают активные пептиды из молекул белков. С уменьшением мол. массы резистентность БАП в пептонах к расщеплению кишечными протеазами становится более выраженной. Самые

активные БАП в пептонах сосредоточены в самой легкой (короткой) молекулярно-весовой фракции - менее 1 кДа. Интактные энтероциты тонкого кишечника усваивают только ди- и трипептиды; более длинные пептиды для усвоения необходимо предварительно гидролизовать пептидазами энтероцитов тонкого кишечника. Некоторые БАП являются полифункциональными: пептиды могут проявлять активность антиоксидантов (акцепторов активных форм кислорода), противоопухолевую активность, выступать в роли гипотензивных и гиполипидемических препаратов.

Вся активность антиоксидантов в пептоне казеина сконцентрирована в наиболее короткой БАП, менее 1 кДа. И чем ниже мол. масса пептида, тем более устойчив он к протеолизу [21]. Гидролизат из плавников акулы (как и обычный пептон из рыбы), если добавлять его в пищу мышам в течение нескольких дней, повышает иммунный ответ при заражении мышам энтеротоксичной кишечной палочкой. Проследить позитивное действие пептона можно на основании: а) пролиферации энтероцитов и замещения их новыми клетками; б) синтеза и концентрации иммуноглобулинов А и G в плазме крови; в) усиления секреции клетками гуморальных медиаторов - интерлейкинов-4, -6, -10 и г) активации фагоцитоза перитонеальными макрофагами, в подавлении неконтролируемого воспаления, которое инициировано бактериальной инвазией [22, 23].

Кормление мышам рыбьим пептоном в течение 7 дней (25-50 мг/мл в питьевой воде) резко повышало сопротивляемость животных в ответ на введение больших доз индометацина. В контрольной группе происходит десквамация почти 70% эпителия тонкого кишечника и гибель клеток по типу апоптоза; в эксперименте при приеме БАП рыбьего пептона деструкции подвержены не более 40% клеток [24]. Чем в большей мере гидролизваны БАП в пептоне кокосового молока, тем выше активность пептона как активатора акцепции активных форм O_2 . Пептон, который получен при действии ферментов (протеаз) поджелудочной железы, содержит 32% свободных аминокислот (степень расщепления $\alpha = 0,50-0,65$) и он гораздо активнее того пептона, у которого свободных аминокислот всего 17% ($\alpha = 0,35-0,40$) [18].

Гидролизат (пептон) коллагена принятый *per os* статистически достоверно уменьшает интенсивность боли в суставах, помогает при патологии суставов, при остеоартрите [25]. Пептид из соевого пептона активизирует рост волос, авторы полагают выраженное влияние пептона на систему регуляции системы иммунитета [26]. Содержание глутамин (Глн) в пептоне коррелирует с величиной его иммуномодулирующего действия. Пептид Цис-Про-Про активизирует усвоение минеральных веществ, в то время, как близкие по строению пептиды Иле-Про-Про и Вал-Про-Про выражено понижают АД в позднем в филогенезе проксимальном отделе артериального русла.

В литературе изложены результаты действия многих БАП в разных пептонах; они проявляют гипотензивное, иммуномодулирующее, опиоидно-агонистическое и опиоидно-антагонистическое действие, выявляют антитромбогенные свойства, антимикробное и гиполипидемическое действие [27]. Ткани акул являются субстратом для изготовления с лечебными целями пептон при гидролизе протеинов панкреатическими протеазами - иммуномодулирующий препарат «РептиBAL™». Пептон, в дозе 300 мг в день, инициирует выраженное повы-

шение в плазме крови содержания иммуноглобулина А. БАП способствует [28] ускорению усвоения экзогенного кальция и процессу кальцификации костной ткани пептидом *Тре-Цис-Гис*; изготовлен пептон из субпродуктов мяса.

БАП с действием антиоксидантов реализуют несколько разных молекулярных механизмов действия: некоторые из них реализуют биологическую функцию эндозеологии, активизируя все ординарные макрофаги, которые на плазматической мембране имеют «скэвенджер - рецепторы», рецепторы мусорщики. Они способны действовать и как акцепторы активных форм кислорода, и как полифенолы, обрывая цепи радикального перекисного окисления [29]. Некоторые БАП прочно связывают ионы металлов, которые катализируют реакции окисления, мешая им исполнять эти биохимические реакции. Иные БАП явно изменяют активность ферментов, которые имеют отношение к реализации окислительно-восстановительных реакций; сами же БАП никакого участия в подобных реакциях не принимают.

Из пептонов, которые приготовлены из рыбы выделены активные пептиды как *Лей-Гис-Тур* - при действии протеазы сардины, *Про-Сер-Тур-Вал* из пептона из плодов папайи, *Асп-Гис-Арг-Тур-Асп-Арг* при последовательном расщеплении протеинов трипсином и химотрипсином. Полагают, что БАП со свойствами антиоксидантов содержат много гистидина (*Гис*), пролин (*Про*), аланин (*Ала*), а также фенилаланин (*Фе*) и триптофан (*Трп*). Каковы же те химические структуры, которые модулируют столь высокую биохимическую активность, предстоит еще выяснить [12]. Большой интерес в плане использовать для целей лечения представляют БАП с активностью антикоагулянтов. Подобной активностью обладают БАП в пептонах из белков морских животных - *Лей-Цис-Арг*, *Гис-Цис-Фе*, *Цис-Лей-Арг*. Но БАП с такой активностью и в настоящее время идентифицировано мало; а те, которые известны, имеют высокую мол. массу, более 1500 кДа [30].

Не очень обоснованным представляется предложение использовать пептоны казеина сыворотки молока в качестве остеопротекторов: они якобы усиливают кальцификацию костей, повышают их прочность. Для этого выпущен и коммерческий препарат «СаРР» (аббревиатура означает «фосфопептидные комплексы кальция»). Вообще-то, кальцификация костей, которая требует усиленного усвоения кальция, вещь практически важная как у детей, так и у беременных женщин. Это можно рассмотреть на примере детей из групп риска (цыгане, алкоголики, мигранты), которые всегда потребляют мало молочных продуктов. Можно наблюдать это и у детей с непереносимостью лактозы; они генетически неспособны к поеданию молока. Кроме того, молочные продукты как табу не употребляют около 30% европейцев и до 70% среди монголоидов [31, 32].

Вот для такой группы людей и оказываются перспективными подобные препараты, как «СаРР». По какой же причине препарат «СаРР» называют фосфопептидным? Дело в том, что в казеине (основной белок сыворотки молока) некоторая часть остатков аминокислоты серина ассоциированы с фрагментами ортофосфорной кислоты; с аминокислотой *Сер* соединен сложноэфирной связью - *Сер-O-P(=O)(OH)₂*. Эти фосфорилированные остатки серина, переносят лактат кальция, не позволяют ему выпасть в осадок при действии неорганических карбонатов, фосфатов и иных ионов, которых в молоке и в

химусе кишечника более чем достаточно. Полагают, что и после ферментативного гидролиза, короткие серинсодержащие пептиды продолжают переносить фосфатные группы, которые создают условия для сольюбилизации и усвоения ионов кальция (Ca^{++}). Не просто понять, как фосфатные группы не оказываются разрушенными при гидролизе белка. В то же время, из гидролизатов рыбы, из костей макроруса выделено много пептидов с подобным же Са-позитивным действием, но ни аминокислоты *Ser*, ни фосфатных остатков в пептоне не найдено. Одновременно, мало специалистов, которые хорошо разбираются в тонкостях молекулярных механизмов обмена ионов Ca^{++} в костной ткани, а уж о роли экзогенных БАП в остеосинтезе, мы окончательно еще не разобрались. Но пусть не применение пептонов, а поедание рыбы во всех случаях будет успешным, даже если мы не быстро поймем, что при этом происходит. Применение препаратов, может быть успешным хотя бы потому, что очень далекие предки вида *Homo sapiens* миллионами лет, проживая в водах океанов, питались плотоядной, рыбной пищей. Пептоны из рыбы [6] ощутимо облегчают реминерализацию дентина при повреждении поверхностного слоя эмали зубов.

Нутрицевтика и использование коммерчески изготовленных пептонов. Многие фирмы производят гидролизаты (пептоны) для питания спортсменов, для гипоаллергенного детского питания. В то же время, нутрицевтиками их, строго говоря, назвать нельзя: нутрицевтик – это «облегченная форма» все-таки лекарственного препарата; это не просто пищевая добавка. Большая часть коммерческих нутрицевтиков [33] обладает гипотензивным действием; в качестве действующего начала они включают простейшие Про-содержащие трипептиды. Такие препараты выпускают США, Япония, Финляндия и Голландия. Имеется в аптеках и коммерческий иммуностимулирующий препарат, обогащенный Глутамином БАП (Голландия), гиполипидемический пептид на основе соевых протеинов (Япония), антистрессовый пептид (Франция), антитромботический, противомикробный, противоопухолевый пептид (США). В меньших количествах страны (Дания, Голландия, Япония) производят пептоны с фосфорилированными БАП для улучшения метаболизма кальция в костной ткани. Эффективность некоторых из препаратов невелика.

За последние годы ситуация не слишком изменилась [34]. При большом объеме экспериментальных работ по поиску, выделению и идентификации БАП, новых препаратов, практически не создано; несколько расширен список гипотензивных препаратов на основе молочных ферментационных пептонов. Из отечественных препаратов более обоснован «Белкозин». Это кислотный гидролизат колбасных шкурок: название свое он получил от *белкозы* – технического белкового препарата, который используют при формировании оболочки колбасы и сосисок. Каковы же биологические основы воздействия БАП на процессы метаболизма у животных и человека? Раньше было проще [35]; гидролизаты рассматривали прежде всего как источник аминокислот пищи. Эта трактовка доминирует, хотя наряду с ней можно найти и более конкретные комментарии. Если посмотреть на конкретные цифры, утилитарная оценка пептидов, БАП сразу выявляет примитивность и неадекватность подобного подхода.

Если взять, к примеру, килограммовую курицу-бройлера: она ежедневно съедает 120-150 г корма, ко-

торый содержит 25-50 г белка; куры потребляют белок в дозе 25-50 г/кг. А добавка пептона в дозе 100 мг/кг (по сухому веществу) процентов на 10 увеличивает величины ежедневных приростов; а у уток, судя по ссылкам [35] – так и вообще на 25-30%. У коров и свиней – при добавлении в пищу БАП пептона, масса тела увеличивается до 20%; у рыб – процентов на 10-12. Однако вернемся к курице: «белок», потребленный с пищей в составе пептона, составляет 0,2-0,4% от общей массы съеденного протеина; величина биологического действия несоизмерима с дозой БАП пептона в «общем» количестве белка. Вероятно следует искать иные объяснения стимулирующему рост действию пептона и БАП.

А растения? Растения вообще не питаются белковой пищей, она им просто не нужна! Как известно, растения усваивают из почвы (а также из растворов при гидропонике или при внекорневой подкормке) самые примитивные неорганические ионы – ион аммония NH_4^+ , нитрат-ион NO_3^- , фосфат-ион H_2PO_4^- , ионы калия, магния, цинка и пр. Даже пресловутый навоз, столь опозитивированный писателями-почвенниками, не может быть непосредственно использован растениями в пищевых целях. Вначале компоненты его расщепляют почвенные микроорганизмы до неорганических ионов (того же нитрата и фосфата); ионы эти активно далее усваиваются растениями. Растение, в отличие от животного, само синтезирует аминокислоты из простейших неорганических предшественников – углекислого газа, нитрат-ионов, сульфат-ионов. Справедливости ради надо заметить, что животные тоже могут сами синтезировать некоторые аминокислоты, только не все. Так называемые незаменимые аминокислоты, а их довольно много, все животные вынуждены непременно потреблять с пищей.

И вот малые количества пептона при обработке растений судя по оценкам действия «белкозина» в дозе 500 мг/л обеспечивают многократное увеличение массы тканей, скорости роста, урожайности, стрессоустойчивости. Явно БАП пептона используют растения и животные не в биологической функции трофологии, не в пищевых целях, а действуют пока не понятно, но более эффективным способом. В.Х. Хавинсон с соавт. [33] в нескольких работах возвращаются к этой проблеме с позиций эволюции, становления функций на ступенях филогенеза. Если существенно упростить их рассуждения, картину можно изобразить следующим образом.

Роль биологически активных пептидов в регуляции метаболизма в эволюционном развитии, на ступенях филогенеза. Когда-то, на очень ранних ступенях филогенеза, на первом уровне относительного биологического совершенства, перед одноклеточными встала проблема объединения в более сложные гуморально, паракринно регулируемые сообщества функционально разных клеток. Строго говоря, встала проблема превращения одноклеточных в многоклеточные организмы. Если клетки реально могут ассоциироваться гидрофобными доменами на клеточной мембране, формируя ассоциаты за счет физико-химических постулатов (стафилококки тоже выстраиваются в длинные красивые цепочки), то разделение функций требует более высокой степени единения клеток.

Взаимоотношение, взаимодействие клеток – участников требует общего для всех языка и паракринной (локальной) регуляции метаболизма. Это необходимое условие для образования любой системы: и социум вида *Homo sapiens* – сообщество людей, и стая рыб, и

муравейник, и пчелиный улей – все они имеют общую систему сигнализации. Хотя природа этой сигнализации может быть существенно разной: у рыб и птиц – акустический способ обмена информацией; у муравьев и пчел – химический, в цивилизованном человеческом обществе – электрический или электромагнитный. И при помощи химических гуморальных медиаторов общение должно быть информативным, однозначным и доступным для всех клеток – участников сообщества [36]. Сам факт существования *Homo sapiens* свидетельствует о том, что одноклеточные каким-то образом эту проблему решили.

На ранних ступенях филогенеза в ПС клеток один пул, самые совершенные, стали указывать всем прочим клеткам: кому делиться, кому питаться, кому двигаться, кому обеспечить охрану, оборону, а кому служить депо для субстратов метаболизма и всем вместе – не посягать на то, что уже совершено. Это, мы полагаем, действие методологического приема биологической преемственности становления в филогенезе биологических функций и биологических реакций. Ну а как же решен вопрос об общении клеток? Согласно филогенетической теории общей патологии [37], формирование многоклеточных стало происходить только после того, когда каждая из клеток достигла первого уровня относительного биологического совершенства. К этому времени, стимулы дальнейшего совершенства на уровне одноклеточных были уже исчерпаны; в этих условиях формирование многоклеточных организмов стало в биологии насущной необходимостью. Все клетки в ассоциации начали формировать второй уровень относительного биологического совершенства. Возможности совершенствования всех сформированных одноклеточными биологических функций и биологических реакций стали необозримо более перспективными при соблюдении методологического принципа биологической преемственности. В ассоциацию вступили высоко организованные одноклеточные со всеми присущими им совершенными аутокринными биологическими функциями и биологическими реакциями.

В начале реализации второго уровня относительного биологического совершенства одноклеточные стали формировать новую систему организации – паракринно регулируемые сообщества клеток (ПС); подробно это изложено нами в филогенетической теории общей патологии [38]. И если длительность активной регуляции некоторыми гуморальными медиаторами синтезированными *in vivo* исчисляется секундами, минутами, это, можно быть уверенным, регуляторы метаболизма со ступеней ПС функционально разных клеток. На ранних ступенях филогенеза, разные в будущем ПС клеток в едином пуле будущей «межклеточной среды» не были отделены друг от друга. В этих условиях размеры ранних ПС клеток, можно полагать, были определены временем диффузии в гидрофильной среде, в течение которого гидрофильные медиаторы сохраняли присущую им функциональную активность. Можно полагать, что длительность сохранения медиатором функциональной активности стала структурно определяющим условием, параметром.

На втором уровне формирования относительного биологического совершенства, в ПС клеток все гуморальные медиаторы были гидрофильными, короткоживущими и имели небольшую мол. массу; вероятнее всего эти были БАП, олигопептиды. Основой функционального различия разных ПС клеток, а позже и орга-

нов, стало, можно полагать, дифференцирование функции лизосом, синтез ими разных ферментов протеолиза. Это позволило разным ПС клеток из одного белкового субстрата формировать при протеолизе химически и функционально разные пулы БАП. Именно формируемые индивидуальные пулы БАП (системы пептидов) в отдельных ПС клеток явились основой формирования морфологически и функционально разных клеток, а далее и органов. А клетка – генератор пептидов может легко изменять концентрацию, химическую природу и соотношение пептидов, изменяя количество и селективность синтезируемых протеаз.

Пул индивидуальных пептидов явился как субстратом как для наработки клетками энергии в митохондриях, так и основой действия регуляторных БАП. Каждое ПС клеток состоит из трех пулов функционально разных клеток:

а) пул специализированных клеток, которые определяют функцию ПС;

б) локальный перистальтический насос (артериола мышечного типа), осуществляет перфузию клеток и

в) пул рыхлой соединительной ткани; они реализуют биологические функции трофологии, гомеостаза и биологическую функцию эндоэкологии. Исследователи регуляции метаболизма БАП обоснованно предположили, что на уровне ПС клеток биологическая функция трофологии, функция питания сформировала и относительно совершенную систему общения в форме БАП вначале между клетками в рамках ПС клеток, а позже и гуморальную регуляцию между функционально разными ПС. До формирования централизованной системы желез внутренней секреции, все ранние в филогенезе гормоны были синтезированы децентрализованно в ПС клеток. Исключением из ранних в филогенезе гормонов являются два гормона: глюкагон и инсулин, Синтез их на ступенях филогенеза начат поздно и сразу же централизованными железами внутренней секреции.

Общение между клетками на ранних ступенях филогенеза с помощью «языка пептидов». Мысль хорошая, вот только достаточна ли информационная емкость такого общения? Вероятно «словами» такого архаичного языка явились очень короткие пептиды, поскольку скорость диффузии пептидов в гидрофильной среде (жидкости) выражено уменьшается с увеличением размеров БАП. Нет, пептидный язык в этом отношении безупречен [39]. Только дипептидов из 22 индивидуальных аминокислот можно образовать около 500, трипептидов уже около 15 000. Это куда больше лексикона среднего человека и сопоставимо с содержанием приличного словаря. Получается, что уже и тетрапептиды (их может быть около миллиона) использовать нет особой надобности; правда, в реальности клетки используют и заметно более длинные молекулы. Кстати, отмечено [40], что только относительно малая часть из всех возможных парных комбинаций аминокислот использована в последовательностях регуляторных пептидов, но зато уж они-то повторяются очень часто.

И вот мы, предлагаем клетке искусственно полученный, привнесенный пептид, который, возможно, соответствует некоему раннему в филогенезе биохимическому императивному медиатору; поглощай глюкозу, останови этерификацию ХС, активируй гидролиз гликогена. На таком языке можно добиться изменения биохимических реакций в клетках и принудить ее, к наработке каких-то программ метаболизма, которые не обусловлены непо-

средственными влияниями условий окружающей среды. То есть мы можем использовать этот пептид в качестве лекарственного средства. Идея интересная, но подтверждает ли это мнение наличие каких-либо рудиментарных остатков биологического языка пептидов? Да, остатков более чем достаточно и не только рудиментарных, но и очень даже востребованных [41].

К концу прошлого века выделено, идентифицировано и расшифрована первичная структура около 30 нейрорегуляторных пептидов; они содержат от 3 до 10-, реже до 20 (редко до 44) аминокислотных остатков. В кровотоке они являются активными в течение 1-2 мин, после чего подвержены гидролизу протеазами крови [33]. Подобные медиаторы оказывают регуляторное действие при низких, буквально гомеопатических, концентрациях; они ответственны за осуществление разнообразных биохимических процессов. Трудно удержаться и не перечислить хоть бы часть из них. Индивидуальные нейрорегуляторные пептиды ответственны за реализацию разных биологических функций и биологических реакций. Это - активации поиска пищи и половое поведение; увеличение проницаемости кровеносных сосудов; дилатация бронхов; регуляция гидродинамического давления в дистальном отделе артериального русла; индуцирование сна; активация обоняния; усиление памяти; регуляция перистальтики кишечника; активация тонуса матки; восприятие вкуса; регуляция содержания ионов фосфора (ортофосфатов) и калия в крови; активация лактации и многое другое.

Трудно себе представить, что для решения не связанных между собой процессов, каждый раз был заново изобретен особый «язык» и механизмы общения. Далее все эти механизмы случайно оказались идентичными БАП. Разумеется, нет; в каждом конкретном случае реализована, в том или ином варианте, гораздо более ранняя в филогенезе, универсальная схема, которая предполагает использовать «язык пептидов» для межклеточного общения при становлении на ступенях филогенеза биологических функций и биологических реакций. Все это можно понять, если руководствоваться методологическим приемом общей биологии, как единой технологии становления в филогенезе функциональных систем.

Синтезируют клетки *in vivo* и более узко направленные регуляторные пептиды: к примеру, иммунорегуляторные БАП, начиная от коротких, как тимоген *Глу-Тир*, неоген *Илей-Глу-Тир* и вилон *Лиз-Глу* и кончая очень длинными молекулами тимозина и тимопозтина [42]. Это уже не БАП, а протеины с большой мол. массой. Помимо основных иммунных функций, гуморальные медиаторы, которые синтезируют клетки вилочковой железы (тимус), регулируют и параметры метаболизма глюкозы и минералов во всех иммунокомпетентных клетках. Основное предназначение этих протеинов - быть посредниками между центром регуляции и исполнительными механизмами биологической системы охраны биологической индивидуальности и обороны иммунной самостоятельности организма.

Как же (чисто технически) локальный орган как тимус может инициировать синтез в циркулирующих лимфоцитах специфичных гамма-глобулинов для инактивации и утилизации вторгшейся в организм бактерий столбняка? Вероятно, в этой ситуации рационален принцип, который используют средства массовой информации. Необходимо послать гуморальный сигнал, который будет услышан всеми, но, имея специфичные

рецепторы, расшифруют его только функционально посвященные клетки. Важно и то, чтобы общедоступная информация была бы стерта через несколько минут, поскольку к тому времени, вероятно, придется отдавать и реализовать иные функциональные «команды».

Функционирует *in vivo* и специализированные БАП, атриопептиды; они регулируют биологическую функцию гомеостаза и биологическую функцию эндозкологии - поддержание «чистоты» единого пула межклеточной среды. БАП: а) реализуют активацию и механизмы обратной связи в ПС нефронов в почках; б) не допускают уменьшения *in vivo* единого пула межклеточной среды и в) внутрисосудистого пула циркулирующей крови [43]. БАП регулируют метаболические реакции сохранения электролитов и в конечном итоге поддерживают постоянство гидродинамического давления в дистальном, раннем в филогенезе отделе артериального русла, реализуя динамическую стабильность биологической реакции метаболизм ↔ микроциркуляция.

Интересно, что такого рода пептиды уже не слишком-то ограничены длиной молекулы. Наиболее активные атриопептиды состоят из 25-30 аминокислотных остатков, и гидролиз их не сопровождается увеличением их активности; действующим началом не являются короткие фрагменты молекулы. Да оно и понятно: атриопептидам нет необходимости проникать сквозь плазматическую мембрану эритроцитов; они могут быть синтезированы и эффективно использованы независимо от длины их полипептидной цепи.

Согласно филогенетической теории общей патологии, на ступенях филогенеза произошло формирование регуляции метаболизма раздельно, последовательно на трех уровнях относительного биологического совершенства: на первом клеточном (аутокринном) уровне; на втором уровне ПС клеток, органов и систем органов; на третьем уровне, уровне организма. Этиологическими факторами и основой патогенеза метаболических пандемий является то, что независимыми механизмами все биологические функции и биологические реакции стали регулировать методические приемы, которые между собой не всегда функционально хорошо сочетаются. На первом уровне относительного биологического совершенства доминировала гуморальная регуляция гидрофильными медиаторами в цитоплазме клеток.

На втором уровне относительного биологического совершенства, в каждом из ПС клеток пул рыхлой соединительной ткани децентрализовано стала синтезировать все (почти все) гуморальные медиаторы, которые после централизации стали гормонами желез внутренней секреции. На этом же уровне, на более поздних ступенях филогенеза, гипоталамическая область, продолговатый мозг сформировали вначале симпатическую, парасимпатическую нейрогуморальную регуляцию. На этом же уровне клетки эндокринных желез стали сразу централизованно секретировать два поздних в филогенезе гормона - глюкагон и инсулин. Именно они стали гуморальной основой регуляции новой биологической функции локомоции, движения за счет сокращения поперечнополосатых, скелетных миоцитов.

На третьем уровне относительной биологического совершенства сформировалась когнитивная биологическая функция; наивысшей мерой развития ее стал интеллект. С третьего уровня осуществлена компенсационная регуляция действия всех гуморальных медиаторов, которые регулируют процессы метаболизма на втором

уровне. На третьем уровне сформировалась регуляция вначале путем афферентной и эфферентной электрической импульсации по волокнам вегетативной нервной системы. Позже к ней присоединилась иннервация всей поперечнополосатой мускулатуры.

Регуляцию на уровне ПС клеток, на уровне тканей и органов именуют паракринной; на ступенях филогенеза она сформирована гораздо раньше. Регуляция путем диффузии гуморальных медиаторов в гидрофильной межклеточной среде не требует формирования каких-то особых структур – каждая клетка владеет языком паракринной регуляции и им пользуется. Если надо указать соседней клетке, что она развивается слишком медленно и следует расти быстрее, происходит секреция БАП как *Гли-Гис-Лиз*; если в межклеточной среде понизилось содержание ионов калия, клетка выделяет пептид β -Ала-Гис, чтобы соседи в ПС клеток увеличили проницаемость для ионов своих плазматических мембран. Ну, а если в ПС клеток проник вирус гриппа и клетки начали локально секретировать интерферон: клетки - соседи в ПС и паракринно в иных ПС сразу поймут, с какой целью начаты эти действия. Они отреагируют быстро: а) подавят в клетке синтез белка (чтобы вирус не использовал его для своих целей) и б) пошлют сигнал циркулирующим в межклеточной среде лимфоцитам о необходимости начать выработку специфичных антител [44].

Можно заключить: более вероятно конкретные пептиды пептонов (гидролизатов) клетки организма воспринимают как отдельные сигналы языка межклеточного, паракринного общения. Появление некоего информационного пептида в межклеточной среде (пусть он проник туда извне и отношения к организму не имеет) клетки расценивают как сигнал запуску определенной биохимической программы, как регуляторное требование дилатировать артериолы мышечного типа, усилить секрецию инсулина, временно уменьшить синтез гепатоцитами ХС.

При этом не так уж важен пока неясный химический механизм действия конкретного пептида на исполнительные системы клеток *in vivo*. БАП могут: а) ингибировать активность ферментов; б) неспецифично связываться с рецепторами на плазматической мембране; в) вылавливать и нейтрализовать активные перекиси, проявляя действие антиоксидантов. БАП способны образовывать прочные, водорастворимые комплексы с ионами металлов, увеличивая абсорбцию их энтероцитами, вступать в химическую реакцию с нуклеотидами мутантной клетки, проявляя противоопухолевую активность. Эти механизмы действительно важны для физиологов. Для клинических биохимиков принципиально важным является то, что используемая система биохимических сигналов общения клеток является *конвенциональной*, когда знаки и сигналы заранее оговорены и согласованы всеми участниками.

Технологам хорошо известен прием биохимических реакций образования «пластеина». Пластеин – это пептид или белок с искусственно включенными в него экзогенными остатками аминокислот. Метод с успехом применяют в гидролизной пищевой промышленности для обогащения неполноценных растительных белков недостающими аминокислотами (например, соевого белка – метионином и цистеином, спиролинового белка – лизином и триптофаном, кукурузного белка – треонином и лизином).

Нутрицевтика в профилактике и лечении метаболических пандемий. Нутрицевтика (англ. *nutraceuticals*)

термин предложен доктором С. де Феликс – основателем и председателем Фонда инноваций в медицине в 1989 году. Термин нутрицевтика образован как производное из двух слов «Питание» (Nutrition) и «Фармацевта» (Pharmaceutical). С одной стороны, нутрицевтики это пищевые продукты, которые обеспечивают состояние здоровья. С другой стороны, они обладают возможностями для профилактики и лечения разных афизиологических процессов. В России нутрицевтика не признана официальной медициной; в силу этого в обиходе часто используют нормативно и законодательно принятый термин биологически активная добавка (БАД).

Нутрицевтики в лекарственной форме БАД – это продукт (лекарственная форма), изготовленный на фармацевтическом производстве, в котором в качестве действующего вещества используется один или несколько ингредиентов, полученных из лекарственных растений или органических соединений и обладают позитивным действием на организм в плане формирования дополнительных преимуществ для здоровья. В зависимости от юрисдикции, нутрицевтики в лекарственной форме могут быть признаны и использованы как лекарственные средства (витамины). Разделяют нутрицевтики в лекарственной форме по мере их направлений воздействия.

Предназначены нутрицевтики для того, чтобы: а) проводить профилактику заболеваний; б) задержать процесс старения; в) повысить продолжительность жизни и нормализовать столь частые нарушения биологической функции метаболизм↔микроциркуляция при лечении всех семи метаболических пандемий. Этими пандемиями являются: атеросклероз и атероматоз, эссенциальная метаболическая артериальная гипертония, метаболический синдром, ожирение, синдром резистентности к инсулину, неалкогольная жировая болезнь печени и эндогенная урикемия.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2-3, 5-16, 18, 21-28, 30-32, 34, 36, 39-40 см. REFERENCES)

1. Титов В.Н. Филогенетическая теория становления болезни, теория патологии, патогенез «метаболических пандемий» и роль клинической биохимии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 10: 5 – 13.
4. Ариповский А.В., Колесник П.О., Вежел М.И., Титов В.Н. Метод подготовки проб для газохроматографического определения жирных кислот без предварительной экстракции липидов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 1: 3 – 6.
17. Александровский Я.А., Титов В.Н. Влияние структурной организации ассоциатов холестерина в водноорганических средах на реакцию его окисления, катализируемую холестериноксидазой. *Биохимия*. 1993; 58(9): 1408 – 19.
19. Лохов П.Г., Маслов Д.Л., Трифонова О.П., Балашова Е.Е., Арчаков А.И. Проблемы терапевтического мониторинга и клинической фармакокинетики лекарственных средств. *Биомедицинская химия*. 2014; 60(2): 201 – 16.
20. Лохов П.Г., Маслов Д.Л., Балашова Е.Е., Трифонова О.П., Медведева Н.В. Масс-спектрометрический анализ липидов плазмы крови, как способ диагностики заболеваний, оценки эффективности и оптимизации лекарственной терапии. *Биомедицинская химия*. 2015; 61(1): 7 – 18.
29. Лохов П.Г., Трифонова О.П., Маслов Д.Л., Балашова Е.Е., Арчаков А.И. Диагностика нарушенной толерантности к глюкозе прямым масс-спектрометрическим анализом метаболитов в плазме крови. *Проблемы эндокринологии*. 2014; 3: 4 – 9.
33. Шатаева Л.К., Хавинсон В.Х., Ряднова И.Ю. *Пептидная саморегуляция живых систем*. С-Пб: Наука; 2003.

35. Телишевская Л.Я. *Белковые гидролизаты*. М.: Аграрная наука; 2000.
37. Титов В.Н. *Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий. Артериальная гипертензия*. М.: ИНФРА-М; 2015.
38. Титов В.Н. *Клиническая биохимия. Курс лекций*. М.: ИНФРА-М; 2017.
40. Трифонова О.П., Лохов П.Г., Арчаков А.И. Метаболическое профилирование крови. *Биомедицинская химия*. 2014; 60(3): 281 – 94.

REFERENCES

1. Titov V.N. Phylogenetic theory of disease formation, pathology theory, pathogenesis of “metabolic pandemics” and the role of clinical biochemistry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 10: 5 – 13. (in Russian)
2. Davami F., Baldi L., Rajendra Y., M Wurm F. Peptone Supplementation of Culture Medium Has Variable Effects on the Productivity of CHO Cells. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 2014; 3(3): 146 – 56.
3. Jung E., Cho J.Y., Park D., Kim M.H., Park B., Lee S.Y., Lee J. Vegetable peptones increase production of type I collagen in human fibroblasts by inducing the RSK-CCAAT/enhancer binding protein- β phosphorylation pathway. *Nutr. Res.* 2015; 35(2): 127 – 35.
4. Aripovskiy A.V., Kolesnik P.O., Vezhdel M.I., Titov V.N. Method of preparation of samples for gas chromatographic determination of fatty acids without preliminary extraction of lipids. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 1: 3 – 6. (in Russian)
5. Fatma Z.N., Bery W., Waluyo H. The effect of peptide (Asp-Glu) synthetic base on sterilized fermented soymilk on lipid profile of sprague dawley rats. *Intern. Food. Res. J.* 2013; 20(6): 3047 – 52.
6. Um M.Y., Akn J., Jung C.H., Ha T.Y. Cholesterol-lowering effect of rice protein by enhancing fecal excretion of lipids in rats. *Prev. Nutr. Food. Sci.* 2013; 18(3): 210 – 3.
7. Vahouny G.V., Adamson L., Chalcarz W., Satchithanandam S., Muesing R. Effects of casein and soy protein on hepatic and serum lipids and lipoprotein lipid distributions in the rat. *Atherosclerosis*. 1985; 56(2): 127 – 37.
8. Vik R., Tillander V., Skorve J., Vihervaara T., Ekroos K., Alexson S.E., Berge R.K., Bjørndal B. Three differently generated salmon protein hydrolysates reveal opposite effects on hepatic lipid metabolism in mice fed a high-fat diet. *Food. Chem.* 2015; 183: 101 – 10.
9. Jang Y.J., Kim M.H., Nam S.H., Kang M.Y. Effects of solid-state fermented rice on lipid metabolism and antioxidant status in high-cholesterol-fed rats. *J. Med. Food.* 2007; 10(4): 608 – 14.
10. Wergedahl H., Liaset B., Gudbrandsen O.A., Lied E., Espe M., Muna Z. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. *J. Nutr.* 2004; 134(6): 1320 – 7.
11. Yoshikawa M., Fujita H., Matoba N., Takenaka Y., Yamamoto T. Bioactive peptides derived from food proteins preventing lifestyle-related diseases. *Biofactors*. 2000; 12(1-4): 143 – 6.
12. Saito M., Kiyose C., Higuchi T., Uchida N., Suzuki H. Effect of collagen hydrolysates from salmon and trout skins on the lipid profile in rats. *J. Agric. Food. Chem.* 2009; 57(21): 10477 – 82.
13. Erdmann K., Cheung B.W., Schröder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J. Nutr. Biochem.* 2008; 19(10): 643 – 54.
14. Pak V.V., Koo M., Lee N., Kim M.S., Know D.Y. A structure-activity relationship of the peptide Ile-Ala-Val-Pro and its derivatives revealed using semi-empirical AM1 method. *Chem. Nat. Comp.* 2005; 41(4): 454 – 60.
15. Hartmann R., Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007; 18(2): 163 – 9.
16. Chim-Chi Y., Betancur-Ancona D., Jimenez-Martinez C., Chel-Guerrero L., Davila-Ortiz G. Cholesterol metabolism and its regulation by functional foods. *Intern. J. Environment. Agric. Biotechnol.* 2016; 1(1): 697 – 707.
17. Aleksandrovskiy Y.A., Titov V.N. Influence of the structural organization of cholesterol associates in water-organic media on the reaction of its oxidation catalyzed by cholesterol oxidase. *Biohimiya*. 1993; 58(9): 1408 – 19. (in Russian)
18. Jin B., Zhou X., Li B., Lal W., Li X. Influence of in vitro digestion on antioxidative activity of coconut meat protein hydrolysate. *Tropical. Pharm. Res.* 2015; 14(3): 441 – 7.
19. Lokhov P.G., Maslov D.L., Trifonova O.P., Balashova E.E., Archakov A.I. Problems of therapeutic monitoring and clinical pharmacokinetics of drugs. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2014; 60(2): 201 – 16. (in Russian)
20. Lokhov P.G., Maslov D.L., Balashova E.E., Trifonova O.P., Medvedeva N.V. Mass spectrometric analysis of blood plasma lipid, as a way to diagnose diseases, evaluate efficacy and optimize drug therapy. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015; 61(1): 7 – 18. (in Russian)
21. Chen M., Li B. The effect of molecular weights on survivability of casein-derived antioxidant peptides after the simulated gastrointestinal digestion. *Innovat. Food. Sci. En. Technol.* 2012; 16: 340 – 8.
22. Mallet J.F., Duarte J., Vinderola G., Anguenot R., Beaulieu M., Matar C. The immunopotentiating effects of shark-derived protein hydrolysate. *Nutrition*. 2014; 30(6): 706 – 12.
23. Duarte J., Vinderola G., Ritz B., Perdigon G., Matar C. Immunomodulating capacity of commercial fish protein hydrolysate for diet supplementation. *Immunobiology*. 2006; 211(5): 341 – 50.
24. Marchbank T., Elia G., Playford R. Intestinal protective effect of a commercial fish protein hydrolysate preparation. *Regul. Pept.* 2009; 155(1-3): 105 – 9.
25. Bello A.E., Oesser S. Collagen hydrolysate for the treatment of osteoarthritis and other joint disorders: a review of the literature. *Curr. Med. Res. Opin.* 2006; 22(11): 2221 – 32.
26. Jakubowicz D., Froy O. Biochemical and metabolic mechanisms by which dietary whey protein may combat obesity and Type 2 diabetes. *J. Nutr. Biochem.* 2013; 24(1): 1 – 5.
27. Boutin Y., Paradis M.E., Couture P., Lamarche B. Immunological effects of fish protein supplementation on healthy adults. *J. Natur. Prod.* 2012; 5: 37 – 44.
28. Albenzio A., Santillo A., Caroprese M., Della Malva A., Marino R. Bioactive peptides in animal. *Food. Products. Foods*. 2017; 6(5): E35.
29. Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Archakov A.I. Diagnosis of impaired glucose tolerance by direct mass spectrometric analysis of metabolites in blood plasma. *Problemy endokrinologii*. 2014; 3: 4 – 9. (in Russian)
30. McCarthy A.L., O’Callaghan Y.C., Brien N.M. Protein hydrolysates from adicrultural crops – bioactivity and potential for functional food development. *Agriculture*. 2013; 3: 112 – 30.
31. Rutherford-Markwick K.J. Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions. *Br. J. Nutr.* 2012; 108(Suppl 2): S149 – S157.
32. Hsieh C.C., Fernandez-Ledesma B., Fernández-Tomé S., Weinborn V., Barile D. Milk proteins, peptides, and oligosaccharides: effects against the 21st Century Disorders. *Biomed. Res. Intern.* 2015; 2015: 1 – 16.
33. Shataeva L.K., Khavinson V.K., Ryadnova I.Yu. *Peptide self-regulation of living systems. [Peptidnaya samoregulyaziya givnyh sistem]*. St.Peterburg: Nauka; 2003. (in Russian)
34. Daliri E.B.M., Oh D.H., Lee B.H. Bioactive peptides. *Foods*. 2017; 6: 32 – 8.
35. Telishevskaya L.Ya. *Protein hydrolysates. [Belkovye gidrolizaty]*. Moscow: Agrarnaya nauka; 2000. (in Russian)
36. Myers A.J., Goodband R.D., Tokach M.D., Dritz S.S., DeRouchey J.M., Nelssen J.L. The effects of porcine intestinal mucosa protein sources on nursery pig growth performance. *J. Anim. Sci.* 2014; 92(2): 783 – 92.
37. Titov V.N. *Phylogenetic theory of general pathology. Pathogenesis The pathogenesis of metabolic pandemics. Hypertension. [Filogeneticheskaya teoriya obshchey patologii. Patogenez metabolicheskikh pandemiy. Arterial'naya gipertoniya]*. Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
38. Titov V.N. *Clinical biochemistry. Course of lectures: Textbook. [Klinicheskaya biokhimiya. Kurs lekziy: uchebnoye posobiye]*. Moscow: INFRA-M; 2017. (in Russian)
39. Davami F., Eghbalpour F., Nematollahi L., Barkhordari F., Mahboudi F. Effects of peptone supplementation in different culture media on growth, metabolic pathway and productivity of CHO DG44 cells; a new insight into amino acid profiles. *Iran. Biomed. J.* 2015; 19(4): 194 – 205.
40. Trifonova O.P., Lokhov P.G., Archakov A.I. Metabolic blood profiling. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2014; 60(3): 281 – 94. (in Russian)
41. Mahaddalkar T., Mehta S., Cheriyaundath S., Muthurajan H., Lopus M. Tryptone-stabilized gold nanoparticles target tubulin and inhibit cell viability by inducing an unusual form of cell cycle arrest. *Exp. Cell. Res.* 2017; 360(2): 163 – 70.
42. Ji H., Xu L., Wang Z., Fan X., Wu L. Effects of thymosin β 4 on oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced injury. *Int. J. Mol. Med.* 2018; 41(3): 1749 – 55.
43. Tang Y., He Y. Numerical modeling of fluid and oxygen exchanges through microcirculation for the assessment of microcirculation alterations caused by type 2 diabetes. *Microvasc. Res.* 2018; 117: 61 – 73.
44. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2014; 7(5): 545 – 94.

Поступила 14.12.18

Принята к печати 25.12.18

Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А., Халиулин А.В.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОГО БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОКРОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

В обзоре представлены патобиохимические и молекулярные механизмы образования мокроты у пациентов с муковисцидозом, связанные с патофизиологическими особенностями заболевания. Приведены статистические данные по распространенности данной патологии в мире и в Российской Федерации. Рассмотрены механизмы образования мокроты и нарушения работы мукоцилиарного аппарата, приводящие к накоплению вязкого бронхо-легочного секрета при муковисцидозе. Представлены принципы взаимосвязи реологических свойств мокроты и формирования воспалительного процесса в легких с присоединением сопутствующей специфической микрофлоры в бронхо-легочной системе у пациентов с муковисцидозом. Описаны возможности биохимического исследования мокроты при данной патологии: определение активности ферментов (миелопероксидазы), содержания ингибиторов протеиназ ($\alpha 2$ -макроглобулина и $\alpha 1$ -антитрипсина) и провоспалительных цитокинов (IL-8 и TNF α), концентрации железа и железосвязывающих белков (лактоферрина и ферритина), что делает биохимическое исследование мокроты доступным, неинвазивным, быстрым и малозатратным методом диагностики, который может широко применяться в качестве вспомогательного лабораторного метода исследования и дает возможность использовать эти метаболиты в качестве диагностических маркеров для оценки тяжести воспалительного и инфекционного процесса нижних дыхательных путей и прогноза развития респираторных осложнений у пациентов с муковисцидозом.

Ключевые слова: мокрота; муковисцидоз; биохимические исследования; воспаление; обзор.

Для цитирования: Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А., Халиулин А.В. Диагностические возможности современного биохимического исследования мокроты у пациентов с муковисцидозом (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 24-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-24-28>

Kozlov A.V., Guseyakova O.A., Erechenko A.A., Khaliulin A.V.

DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF MODERN BIOCHEMICAL STUDY OF SPUTUM FROM PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS (LITERATURE REVIEW)

Samara State Medical University, 43099, Samara, Russia

The review presents the pathobiochemical and molecular mechanisms of sputum formation in patients with cystic fibrosis associated with the pathophysiological features of the disease. Statistical data on the prevalence of this pathology in the world and in the Russian Federation are presented. The mechanisms of sputum formation and disorders of the mucociliary apparatus, leading to the accumulation of viscous bronchopulmonary secret in cystic fibrosis, are considered. The principles of the relationship between the rheological properties of sputum and the formation of inflammation in the lungs with the addition of a concomitant specific microflora in the bronchopulmonary system in patients with cystic fibrosis are presented. Describes the opportunities for biochemical studies of sputum of patients with this pathology: determining the activity of enzymes (myeloperoxidase), the content of proteinase inhibitors ($\alpha 2$ -macroglobulin and $\alpha 1$ -antitrypsin) and proinflammatory cytokines (IL-8 and TNF α), concentrations of iron and ferriferous proteins (lactoferrin and ferritin), which makes biochemical studies of sputum available, non-invasive, quick and cost-effective method of diagnosis, which can be widely used as an auxiliary laboratory method and makes it possible to use these metabolites as diagnostic markers to assess the severity of inflammation and infection of the lower respiratory tract and predict the development of respiratory complications in patients with cystic fibrosis.

Key words: research; inflammation; review sputum; cystic fibrosis; biochemical.

For citation: Kozlov A.V., Guseyakova O.A., Erechenko A.A., Khaliulin A.V. Diagnostic possibilities of modern biochemical study of sputum from patients with cystic fibrosis (literature review). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 24-28. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-24-28>

For correspondence: Kozlov A.V., assistant of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: kozlov.biochemistry@yandex.ru

Information about authors:

Kozlov A.V. <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>

Guseyakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Erechenko, A.A., <https://orcid.org/0000-0002-4221-4440>

Khaliulin A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4689-8904>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 15.11.2018
Accepted 15.12.2018

Мокрота – патологическое отделяемое, которое образуется в нижних дыхательных путях из трахеобронхиального секрета в результате воспаления или повреждения, характеризующееся различным объемом, цветом, консистенцией, запахом, реологическими свойствами. В настоящее время мокрота активно исследуется при заболеваниях нижних дыхательных путей различной этиологии с помощью преимущественно микроскопического и бактериологического методов исследования [1], однако эти методы явно недостаточны для комплексной оценки воспалительного процесса в бронхолегочной системе. По результатам исследований периферической крови также сложно выявить особенности заболеваний бронхо-легочной системы, которые сопровождаются появлением в сыворотке крови метаболитов, различных по природе и количеству, однако эти параметры зачастую имеют ориентировочный характер и не дают целостной картины воспалительного процесса в респираторном тракте. В связи с этим все чаще в научной литературе появляются работы, посвященные использованию дополнительных методов исследования мокроты, в частности оценке биохимических параметров.

Особое значение исследование мокроты имеет для пациентов с муковисцидозом, у которых ведущими нарушениями является поражение двух систем: бронхолегочной и пищеварительной [2]. В настоящее время муковисцидоз (кистозный фиброз) представляет собой одно из самых актуальных и наиболее часто встречающихся наследственных заболеваний. По данным Всемирной Организации Здравоохранения ежегодно в мире рождается 40-50 тыс. детей с муковисцидозом, при этом оценить количество гетерозиготных носителей можно только примерно – десятки миллионов. Распространенность заболевания широко варьируется и зависит от географических зон и этнической принадлежности: муковисцидоз наиболее часто встречается в странах Западной Европы и Северной Америки, составляя 1:2500-1:3000 новорожденных [3,4], намного реже в странах юго-восточной Азии – примерно 1:400 000 [5,6]. В России распространенность муковисцидоза ниже, чем в европейских странах и ориентировочно составляет 1:10000 новорожденных [7]. Также об актуальности и приоритетности проблемы муковисцидоза в Российской Федерации говорит то, что данное заболевание включено в Национальную программу по неонатальному скринингу в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 22.03.2006 г. №185 «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания», и активно диагностируется во всех субъектах страны [8].

Муковисцидоз является наследственным аутосомно-рецессивным заболеванием, в этиологии которого лежит мутация гена Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR), кодирующего трансмембранный регулятор муковисцидоза. Следствием этого является поражение экзокринных желез дыхательных путей, органов пищеварения (в первую очередь поджелудочной железы) и урогенитального тракта, что приводит к развитию тяжелых осложнений, и, несомненно, ухудшению качества жизни [9,10]. Именно поэтому возникает необходимость своевременной и качественной диагностики заболевания с последующим проведением адекватной терапии, реабилитации и социальной адаптации, что также актуально в экономическом плане, так как неточность диагностики и нерациональная лечебная тактика приведут к лишним экономическим затратам, а по от-

ношению к пациенту – осложнениям, инвалидизации, летальному исходу. Основной причиной смертности больных муковисцидозом является дыхательная недостаточность [11], развивающаяся на фоне длительного воспаления, вызванного специфической флорой и особенностями мокроты.

Мокрота у данных пациентов гнойная, густой консистенции, различная по объему и трудно отделяемая, чему способствует ряд факторов. Молекулярно-генетические особенности заболевания характеризуются, в первую очередь, нарушением работы специфического белка-переносчика электролитов Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). В норме этот белок является цАМФ-зависимым хлорным каналом, опосредованно регулирующим работу других ионных каналов, в том числе и натриевого [12]. Однако у пациентов с муковисцидозом вследствие мутации гена CFTR работа данного белка нарушена, что приводит к накоплению избыточного количества ионов хлора в клетке. Далее за ионами хлора в клетку устремляются ионы натрия, являющиеся осмотически активными электролитами, что обуславливает усиленное всасывание воды с поверхности клеток и межклеточного пространства, и, как следствие, происходит сгущение секрета [13]. Вязкий секрет способствует застою мокроты и ее бактериальной контаминации, развивается воспаление, в ответ на которое в дыхательные пути пациента поступает большое количество нейтрофилов. При дегенерации нейтрофилов высвобождается значительное количество нуклеиновых кислот, что также обуславливает повышенную вязкость мокроты у пациентов с муковисцидозом [14]. При хроническом воспалении у пациентов с муковисцидозом ДНК нейтрофилов может накапливаться в достаточно большом количестве – от 3 до 14 мг нуклеиновых кислот в 1 мл мокроты [15]. Образование вязкой мокроты и нарушение работы мукоцилиарного клиренса создает благоприятные условия для колонизации микрофлорой, что в короткий период может привести к развитию инфекции, которая еще больше усугубляет течение патологического процесса в бронхо-легочной системе у пациентов с муковисцидозом [16]. Формируется один из «порочных кругов»: в ответ на присутствие микроорганизмов в мокроте увеличивается количество нейтрофилов и других антибактериальных компонентов, но их конечная активность снижается из-за повышенной вязкости мокроты. Дополнительно стоит отметить, что микрофлора дыхательных путей пациентов с муковисцидозом отличается специфичностью и разнообразием. В первую очередь стоит обратить внимание на возбудителей, представляющих угрозу для жизни этой группы пациентов – *Pseudomonas aeruginosa* и *Burkholderia cenocepacia*. Эти микроорганизмы относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФГОВ), длительно персистируют у пациентов с муковисцидозом и продуцируют метаболиты, влияющие на развитие патологического процесса в дыхательных путях [17].

Для оценки степени патологических изменений, обусловленных воздействием микроорганизмов на бронхолегочную систему у пациентов с муковисцидозом проводился ряд исследований активности ферментов в мокроте. В частности, в одной из работ было показано, что активность миелопероксидазы в мокроте у пациентов с МВ значительно выше, чем в группе сравнения здоровых лиц, при этом установлена прямая корреляционная зависимость между концентрацией данного фермента

и тяжестью воспаления. Также отмечено достоверное повышение уровня миелопероксидазы при наличии *Pseudomonas aeruginosa*, что может служить маркером синегнойной инфекции и дополнительным критерием оценки тяжести воспаления у пациентов с муковисцидозом [18]. Несомненно, данный специфический фермент нейтрофилов имеет одно из ключевых значений в течение воспалительного процесса, т.к. он обладает не только выраженной бактерицидной активностью, но и участвует в развитии оксидативного стресса и свободно-радикального повреждения легочной ткани, стимулируя образование активных форм кислорода и галогенов [19]. Помимо миелопероксидазы нейтрофилы секретируют ряд различных протеиназ – нейтрафильную эластазу, коллагеназу, матриксные металлопротеиназы, нейтрофильные катепсины, протеиназу-3, избыточный синтез которых разрушает эластин, что приводит к деструкции межальвеолярных перегородок с последующим формированием фиброза. Кроме этого повышенная активность эластазы и коллагеназы приводит к гиперсекреции слизи и нарушению работы протеиназных ингибиторов – α 1-протеазного ингибитора и α 2-макроглобулина [20]. В дополнение к вышесказанному стоит отметить, что помимо эндогенных протеиназ нейтрофилов важную роль в развитии воспаления у пациентов с муковисцидозом играют протеолитические ферменты, вырабатываемые специфическими бактериальными возбудителями. По данным отечественных авторов до 83% штаммов синегнойной палочки, выделенных из мокроты у пациентов с муковисцидозом обладали выраженной протеолитической активностью, разжижая желатиновый столбик всего за 24 ч, остальные 17% расщепляли желатин в течение 7 суток [21, 22].

В норме активность протеолитических ферментов плазмы и слизистых секретов регулируется 2 основными эндогенными антипротеиназами – α 1-протеазный ингибитор (α 1-антитрипсин) и α 2-макроглобулин. α 1-протеазный ингибитор по своей структуре является гликопротеином, основной функцией которого является ингибирование эластазы. Ввиду своего небольшого размера – молекулярная масса 50 кДа – молекулы этого белка свободно диффундируют из плазмы в ткани, в частности в легкие, что может использоваться в качестве маркера воспаления и повреждения легких при исследовании мокроты [23]. α 2-макроглобулин в свою очередь является также гликопротеином, но имеет значительно большие размеры (молекулярная масса белка 725 кДа) и является более универсальным ингибитором – подавляет активность протеиназ основных классов: сериновых, тирозинных, кислых, металлопротеиназ, регулируя синтез гормонов и цитокинов, гемостаз, воспалительный ответ [24]. Одни из основных функций α 2-макроглобулина при воспалительных заболеваниях нижних дыхательных путей – образование белково-лигандных комплексов, лигандами которых являются медиаторы воспаления и ингибирование нейтрофильной эластазы. Механизм ингибирования состоит в захвате ферментативной молекулы α 2-макроглобулином, при этом энзим теряет способность гидролизировать крупные белки, однако сохраняет активность по отношению к низкомолекулярным субстратам. При этом образование белково-лигандных комплексов α 2-макроглобулина с медиаторами воспаления, цитокинами, ферментами осуществляется благодаря наличию у α 2-макроглобулина трех сайтов связывания регуляторных лигандов: первый связывает ионы цинка; второй

присоединяет цитокины, гормоны, и бактерии; третий захватывает протеолитические ферменты [25]. Показатель уровня α 2-макроглобулина в мокроте может быть использован в качестве критерия активации экссудативного воспаления, индуцированного бактериальной инфекцией, а также показателем хронического воспаления в дыхательных путях. Таким образом, помимо оценки активности протеолитических ферментов в диагностических целях в мокроте у пациентов с муковисцидозом и другими заболеваниями целесообразно исследовать и ингибиторы протеиназ, которые также будут являться маркерами тяжести воспаления в легочной ткани.

Активность протеолитических ферментов является прямым критерием при оценке воспаления, обусловленным разрушением нейтрофилов при бактериальной инфекции. Однако следует учитывать, что воспаление – это многофакторный процесс, и в нем принимает активное участие ряд маркеров и медиаторов обострения воспаления, в частности провоспалительные цитокины, в основном представленные IL-8 и TNF α [25]. Для пациентов с муковисцидозом триггером для усиленного синтеза данных медиаторов воспаления является персистирующая инфекция, вызванная чаще всего *Pseudomonas aeruginosa* и возбудителями из *Burkholderia cepacia complex*.

Источником цитокинов при воспалении в легочной ткани являются эпителиальные клетки респираторного тракта, лимфоциты и макрофаги. IL-8 является цитокином белковой природы и служит важным звеном в патогенезе МВ, поскольку это один из основных хемоаттрактантов, стимулирующих движение нейтрофилов из периферической крови в бронхи и легкие и способствующие их адгезии к клеткам; кроме этого IL-8 активирует синтез протеолитических ферментов и оксидантов, формируя еще один «порочный круг» [27]. Бактериальные факторы патогенности, такие как липополисахариды и мукоидные экзополисахариды грамотрицательных бактерий стимулируют макрофаги на выработку другого важного провоспалительного медиатора – TNF α . Данный цитокин активирует образование перекиси водорода и других свободных радикалов нейтрофилами, а также является индуктором синтеза интерлейкинов. Таким образом, по мнению ряда авторов, формируется дополнительный «порочный круг» воспалительного процесса при МВ. Эти порочные круги через увеличение синтеза провоспалительных цитокинов IL-8 и TNF α стимулируют проникновение нейтрофилов в очаги воспаления, продуцирующих большое количество эластазы и других протеолитических ферментов. Эти ферменты, а также перекиси и оксиданты способствуют повреждению клеток легочной ткани, что, в свою очередь приводит к высвобождению и активации цитокинов и притоку новых нейтрофилов [27,28].

Также в последнее время все больше внимания уделяется исследованиям обмена железа в мокроте и легочной ткани у пациентов с муковисцидозом. Так, в работах зарубежных и отечественных авторов отмечается значимость определения повышения содержания железа и железосвязывающих белков в мокроте у пациентов с муковисцидозом и возможность использования данных метаболитов в качестве специфических маркеров инфекционного воспаления [29]. При этом в качестве основной причины повышения этих показателей рассматривается контаминация респираторного тракта НФГОБ, в частности особенности метаболизма *Pseudomonas aeruginosa* и

Burkholderia cepacia. Данным микроорганизмам железо жизненно необходимо, поскольку оно входит в состав дыхательной цитохромоксидазы [30], и обеспечивает работу рибонуклеотидредуктазы, катализирующей полимеризацию мононуклеотидов при синтезе нуклеиновых кислот. Помимо этого *Burkholderia cepacia* способна синтезировать с помощью железа специфические факторы защиты – ферригемы, которые предохраняют бактериальную клетку от воздействия активных форм кислорода и перекиси водорода, вырабатываемой нейтрофилами [31]. Однако количество железа в мокроте незначительно, а его источники недоступны для бактерий, т.к. находятся внутри клетки и связаны с белковым компонентом [32]. Поэтому для высвобождения железа из депо, например ферритина, некоторые микроорганизмы продуцируют протеолитические ферменты [33] или используют специфические факторы патогенности – сидерофоры [34]. При этом есть данные о возможности многих бактерий использовать не только собственные (гомологичные) сидерофоры, но и сидерофоры, синтезируемые микроорганизмами других видов (гетерологичные), что свидетельствует об эволюционно сложившимся симбиозе [35]. Так же одним из видов микробного межвидового взаимодействия является конкуренция за железо, о чем свидетельствуют работы, посвященные исследованию метаболизма синегнойной палочки и микроорганизмов из *Burkholderia cepacia complex* в дыхательных путях пациентов с муковисцидозом [36]. Результатом активного метаболизма микрофлоры является повышение уровня железа и железосвязывающих белков, благодаря которому появляется возможность оценить тяжесть воспалительного процесса. Также в некоторых проведенных исследованиях отмечается прямая корреляция уровня ферритина и лактоферрина с течением воспаления и массивности контаминации бактериальной флоры [37,38].

Таким образом, биохимическое исследование мокроты, являясь доступным, неинвазивным, быстрым и малозатратным методом диагностики, может широко применяться в качестве вспомогательного метода оценки тяжести воспалительного и инфекционного процесса нижних дыхательных путей и прогноза развития респираторных осложнений у пациентов с муковисцидозом.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3-6, 14-16, 24, 27-29, 32, 33, 36-38 см. REFERENCES)

1. Сухов В.М., Сухова Е.В. *Основы диагностики и принципы лечения заболеваний органов дыхания: Учебное пособие*. Самара: Издательство «Самарский военно-медицинский институт»; 2006.
2. Орлов А.В., Симонова О.И., Рославцева Е.А., Шадрин Д.И. *Муковисцидоз (клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация): Учебное пособие для врачей*. СПб.: Издательство «СЗГМУ им. И.И. Мечникова»; 2014.
3. Баранов А.А., Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Намазова-Баранова Л.С., Шерман В.Д., Симонова О.И. и др. Проблемы диагностики муковисцидоза и пути их решения в России. *Педиатрическая фармакология*. 2014; 11(6): 16-23.
4. Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. *Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия»*. М.: Издательство «Компания БОРГЕС»; 2016.
5. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. *Муковисцидоз. Современные*

достижения и актуальные проблемы: Методические рекомендации. Изд. 4-е. Москва: Медико-генетический научный центр РАМН; 2011.

6. Горинова Ю.В., Симонова О.И., Томилова А.Ю., Рославцева Е.А. Алгоритм посиндромной комплексной терапии при муковисцидозе у детей: современный подход. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12(5): 30–8.
7. Саперов В. Н. *Практическая пульмонология: Учебное пособие*. Чебоксары: ЧГУ; 2006.
8. Ивашенко Т.Э., Баранов В.С., ред. *Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза*. С-Пб.: Интермедика; 2002.
9. Вахарловский В.Г., ред. *Муковисцидоз: генетика, клиника, патогенез, диагностика, лечение, профилактика: Методическое пособие*. С-Пб.: издательство СПбГПМА; 2012.
10. Кондратенко О.В., Лямин А.В., Жестков А.В. Структура и антибиотикорезистентность микрофлоры, выделенной из нижних дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом в г. Самаре. *Практическая медицина*. 2012; 1(56): 85-8.
11. Суркова Е.А., Булгакова Т.В., Сологуб Т.С., Сесь Т.П., Алешина Г.М., Желенина Л.А. и др. Миелопероксидаза и лактоферрин у больных муковисцидозом. *Медицинская иммунология*. 2004; 6(1-2): 67-74.
12. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Макарова Г.А., Ушакова Е.В. Активность альфа-2-макроглобулина у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2017; 65: 31-7.
13. Лямин А.В. Особенности биологических свойств и факторов патогенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из разных источников. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2010; 3-4: 220-2.
14. Кондратенко О.В. Особенности биологических свойств и факторов патогенности неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов с муковисцидозом. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2012; 1-2: 251-3.
15. Черногорюк Г.Э., Михайлова А.А., Федосенко С.В., Акбашева О.Е., Рослякова Е.П., Антипов С.И. и др. Активация антипропейназа в бронхиальном регионе - фактор толерантности формирования хронической обструктивной болезни легких у здоровых злостных курильщиков. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2010; 30(3): 124-9.
16. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Роль белков семейства макроглобулинов в регуляции воспалительных реакций. *Биомедицинская химия*. 2006; 52(3): 229–38.
17. Булгакова Т.В., Сесь Т.П., Суркова Е.А., Доценко Е.К., Желенина Л.А., Гембицкая Т.Е. Особенности воспалительного процесса у больных муковисцидозом. *Медицинская иммунология*. 2000; 2(4): 421-4.
18. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(3): 170-86.
19. Костюкова Н.Н., ред. *Руководство по медицинской микробиологии*. М.: Бином; 2013.
20. Шарипова М.Р., ред. *Микробные сидерофоры: классификация, применение, детекция и идентификация: Учебно-методическое пособие*. Казань: Казанский (Приволжский) федеральный университет; 2015.
21. Леонов В.В., Миронов А.Ю., Ананьина И.В., Рубальская Е.Е., Сентюрова Л.Г. Микробные сидерофоры: строение, свойства и функции. *Астраханский медицинский журнал*. 2016; 11(4): 24-37.

REFERENCES

1. Sukhov V.M., Sukhova E.V. Fundamentals of diagnosis and principles of treatment of respiratory diseases: Tutorial. [Osnovy diagnostiki i printsipy lecheniya zabolevaniy organov dykhaniya: Uchebnoe posobie]. Samara: Izdatel'stvo «Samsarskiy voenno-meditsinskiy institut»; 2006. (in Russian)
2. Orlov A.V., Simonova O.I., Roslavitseva E.A., SHadrin D.I. Cystic

- fibrosis (clinical presentation, diagnosis, treatment, rehabilitation, clinical examination): A training manual for doctors. [Mukovistsidoz (klinicheskaya kartina, diagnostika, lechenie, reabilitatsiya, dispanserizatsiya): Uchebnoe posobie dlya vrachey]. St.Peterburg: Izdatel'stvo «Severo-Zapadnyi gosudarstvennyi meditsinskiy universitet imeni I.I. Mechnikova»; 2014. (in Russian)
3. Wilschanski M. Novel Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. *Discovery medicine*. 2013; 15(81):127-33.
4. Rowe S. M., Miller S., Sorscher E. J. Mechanisms of disease Cystic fibrosis. *The New England Journal of Medicine*. 2005; 352: 1992–2001.
5. Hodson M., Geddes D., Bush A. *Cystic fibrosis*. London: Hodder Arnold; 2007. P. 503.
6. Mehtaa G., Macek M., Jr., Mehtaa A. Cystic Fibrosis across Europe: EuroCare CF analysis of demographic data from 35 countries. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2010; 9: 5–21.
7. Baranov A.A., Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu., Namazova-Baranova L.S., Sherman V.D., Simonova O.I. et al. Diagnostic problems of mucovistsidosis and ways of solution in Russia. *Pediatriceskaya farmakologiya*. 2014; 11(6): 16-23. (in Russian)
8. Kondrat'eva E.I., Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I. National consensus "Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy." [Natsional'nyj konsensus «Mukovistsidoz: opredelenie, diagnosticheskie kriterii, terapiya»]. Moscow: Izdatel'stvo «Kompaniya BORGES»; 2016 (in Russian)
9. Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu. *Mukovistsidoz. Sovremennye dostizheniya i aktual'nye problemy: Metodicheskie rekomendatsii. Izd. 4-e*. Moscow: Mediko-geneticheskij nauchnyi tsentr RAMN; 2011. (in Russian)
10. Gorinova Yu.V., Simonova O.I., Tomilova A.YU., Roslavtseva E.A. The algorithm of complex syndrome-oriented therapy in children with cystic fibrosis: a modern approach. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2013; 12(5): 30–8. (in Russian)
11. Saperov V. N. Practical pulmonology: Textbook. [Prakticheskaya pul'monologiya: Uchebnoe posobie]. Cheboksary: Cheboksarskiy gosudarstvennyi universitet; 2006. (in Russian)
12. Ivashchenko T.E., Baranov V.S., ed. Biochemical and molecular genetic basis of the pathogenesis of cystic fibrosis. [Biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie osnovy patogeneza mukovistsidoza]. St.Peterburg: Intermedika; 2002. (in Russian)
13. Vakhlovskij V.G., ed. Cystic fibrosis: genetics, clinical presentation, pathogenesis, diagnosis, treatment, prevention: Methodical manual. [Mukovistsidoz: genetika, klinika, patogenez, diagnostika, lechenie, profilaktika: Metodicheskoe posobie]. St.Peterburg: St.-Peterburgskaya meditsinskaya akademiya; 2012. (in Russian)
14. Chernick W. S., Barbero G. J. Composition of tracheobronchial secretions in cystic fibrosis of the pancreas and bronchiectasis. *Pediatrics*. 1959; 24: 739–45.
15. Potter J., Matthews L. W., Lemm J., Spector S. The composition of pulmonary secretions from patients with and without cystic fibrosis. *American Journal of Diseases of Children*. 1960; 100: 493–5.
16. Rubin B.K. Mucus, phlegm, and sputum in cystic fibrosis. *Respiratory Care*. 2009; 54(6): 726-32.
17. Kondratenko O.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V. Structure and antibiotic resistance microflora isolated from lower respiratory tract in patients with cystic fibrosis in Samara. *Prakticheskaya meditsina*. 2012; 1(56): 85-8. (in Russian)
18. Surkova E.A., Bulgakova T.V., Sologub T.S., Ses' T.P., Aleshina G.M., Zhelenina L.A. et al. myeloperoxidase and lactoferrin from cytic fibrosis patietns. *Meditsinskaya immunologiya*. 2004; 6(1-2): 67-74. (in Russian)
19. Pirogov A.B., Prikhod'ko A.G., Perel'man YU.M., Makarova G.A., Ushakova E.V. Activity of alpha-2-macroglobulin in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2017; 65: 31-7. (in Russian)
20. Shapiro S.D. Proteinases in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemical Society transactions*. 2002; 30(2): 98–102.
21. Lyamin A.V. Biological properties and factors of pathogenic strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different sources. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2010; 3-4: 220-2. (in Russian)
22. Kondratenko O.V. Features of biological properties and pathogenicity factors of non-fermenting Gram-negative bacteria, isolated from patients. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2012; 1-2: 251-3. (in Russian)
23. Chernogoryuk G.E., Mikhajlova A.A., Fedosenko S.V., Akbasheva O.E., Roslyakova E.P., Antipov S.I. et al. Antiproteas system activation in bronchial region is the factor of tolerance to chronic obstructive pulmonary disease at healthy long term smokers. *Sibirskiy nauchnyi meditsinskiy zhurnal*. 2010; 30(3): 124-9. (in Russian)
24. Chodorowska G., Wojnowska D., Juszkiewicz-Borowiec M. C-reactive protein and α 2-macroglobulin plasma activity in medium-severe and severe psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2004; 18(2): 180–3.
25. Zorin N.A., Zorina V.N., Zorina R.M. The role of macroglobulin family proteins in regulation of inflammation reactions. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2006; 52(3): 229–38. (in Russian)
26. Bulgakova T.V., Ses' T.P., Surkova E.A., Dotsenko E.K., Zhelenina L.A., Gembitskaya T.E. Features of inflammatory process in patients with cystic fibrosis. *Meditsinskaya immunologiya*. 2000; 2(4): 421-4. (in Russian)
27. Koller D.Y., Neithing I., Otto J., Urbaner R., Eichler I. Cytokine concentration in sputum from patients with cystic fibrosis and their relation to eosinophil activity. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1997; 155: 1050 – 4.
28. Konstan M.W., Berger M. Current understanding of the inflammatory process in cystic fibrosis: onset and etiology. *Pediatric Pulmonology*. 1997; 24: 137 – 42.
29. Ward C.G., Bullen J.J., Rogers H.J. Iron and infection: new developments and their implications. *The Journal of trauma*. 1996; 41: 356-64.
30. Lazareva A.V., Tchebotar I.V., Kryzhanovskaya O.A., Tchebotar V.I., Mayanskiy N.A. *aeruginosa*: pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015; 17(3): 170-86. (in Russian)
31. Kostyukova N.N., ed. Manual of Medical Microbiology. [Rukovodstvo po meditsinskoj mikrobiologii]. Moscow: Binom; 2013. (in Russian)
32. Aaron T.Butt, Mark S.Thomas. Iron Acquisition Mechanisms and Their Role in the Virulence of *Burkholderia* complex. *Biometals*. 2008; 21(1): 105-6.
33. Britigan B.E., Hayek M.B., Doebbeling B.N. et al. Transferrin and lactoferrin undergo proteolytic cleavage in the *Pseudomonas aeruginosa*-infected lungs of patients with cystic fibrosis. *Infection and immunity*. 1993; 61(12): 5049-55.
34. Sharipova M.R., ed. Microbial siderophores: classification, application, detection and identification: Teaching aid [Mikrobye siderofory: klassifikatsiya, primeneniye, detektsiya i identifikatsiya: Uchebno-metodicheskoe posobie]. Kazan': Kazanskiy (Privolzhskiy) federal'nyy universitet; 2015. (in Russian)
35. Leonov V.V., Mironov A.Yu., Anan'ina I.V., Rubal'skaya E.E., Sentyurova L.G. Siderophores of microbes: structure, properties and functions. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 11(4): 24-37. (in Russian)
36. Weaver V.B.; Kolter R. *Burkholderia* spp. alter *Pseudomonas aeruginosa* physiology through iron sequestration. *Journal of bacteriology*. 2004; 186(8): 2376-84.
37. Tyrrell J., Whelan N., Wright C., Sá-Correia I., McClean S., Thomas M. et al. Investigation of the multifaceted iron acquisition strategies of *Burkholderia cenocepacia*. *BioMetals*. 2015; 28(2): 367-80.
38. Hunter R.C., Asfour F., Dingemans J., Osuna B.L., Samad T., Malfroot A. et al. Ferrous iron is a significant component of bioavailable iron in cystic fibrosis airways. *mBio*. 2013; 4(4). pii: e00557-13.

Поступила 15.11.18

Принята к печати 15.12.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Тимашева Г.В., Масыгутова Л.М., Валеева Э.Т., Репина Э.Ф.

ИНФОРМАТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГОМЕОСТАЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РИСКА АДАПТАЦИОННЫХ НАРУШЕНИЙ У РАБОТНИКОВ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

Представлены результаты изучения гематологических, биохимических и иммунологических показателей крови у работников производства стекловолокна с целью выявления ранних нарушений в системе гомеостаза, развивающихся вследствие воздействия комплекса профессионально производственных факторов. У значительной доли обследованных работников обнаружены выраженные изменения в процессах окислительного метаболизма (снижение активности каталазы, повышение уровня малонового диальдегида), липидного обмена сыворотки крови, определены повышенные значения лейкоцитарных индексов интоксикации, нарушения в иммунном статусе. Изменения выявлялись у работников даже при небольшом стаже работы (5 лет) и молодом возрасте (20-30 лет). С увеличением стажа работы на производстве частота этих нарушений возрастала. На основании полученных результатов обоснованы наиболее ранние маркеры изменения гомеостаза, применение которых необходимо использовать для оценки индивидуального риска адаптационных нарушений у работников производства стекловолокна.

Ключевые слова: производство стекловолокна; гомеостаз; лабораторные исследования; показатели окислительного метаболизма; маркеры ранних нарушений

Для цитирования: Тимашева Г.В., Масыгутова Л.М., Валеева Э.Т., Репина Э.Ф. Информативные изменения показателей гомеостаза для оценки индивидуального риска адаптационных нарушений у работников химической промышленности. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 29-33. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-29-33>

Timasheva G.V., Masyagutova L.M., Valeeva E.T., Repina E.F.

INFORMATIVE CHANGES IN INDICATORS OF HOMEOSTASIS TO THE ASSESSMENT OF INDIVIDUAL RISK ADAPTATION DISORDERS IN WORKERS OF THE CHEMICAL INDUSTRY

Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Russia, Ufa

This paper reviews the results of complex laboratory examinations among workers manufacturing fiber glass. The most pronounced and early changes in oxidative metabolism processes (reduced catalase activity, increased malonic dialdehyde) and rates of blood serum lipid metabolism indicators were determined, increased values of leukocyte indices of intoxication, violations in the immune status. Changes were detected in workers even with a small length of service (5 years) and young age (20-30 years). With increasing length of service in the workplace, the frequency of these violations increased. Based on the data obtained we have developed laboratory markers that are suitable for diagnosing early preclinical disorders among fiber glass manufacturing workers.

Key words: glass fiber production; homeostasis; laboratory studies; oxidative metabolism indicators; markers of early disorders

For citation: Timasheva G.V., Masyagutova L.M., Valeeva E.T., Repina E.F. Informative changes in indicators of homeostasis to the assessment of individual risk adaptation disorders in workers of the chemical industry. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 29-33 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-29-33>

For correspondence: Timasheva Gulnara Vilevna, Sci. Biol, Lead Researcher of the Department of Toxicology and Genetic; e-mail: gulnara-vt@ya.ru

Information about author:

Timasheva G.V., <http://orcid.org/0000-0003-2435-6939>
Masyagutova L.M., <https://orcid.org/0000-0003-0195-8862>
Valeeva E.T., <https://orcid.org/0000-0002-9146-5625>
Repina E.F., <https://orcid.org/0000-0001-8798-0846>

Conflict of interests. The author declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.12.2018
Accepted 10.01.2019

Введение. Производство синтетических волокон находит широкое применение в химической, нефтедобывающей и других отраслях промышленности Российской экономики. Одной из важных подотраслей является производство непрерывного стекловолокна.

Гигиеническими исследованиями установлено, что в

производстве стекловолокна основными производственно-профессиональными факторами являлись химические соединения второго-четвертого классов опасности: стекловолокно и пыль стекла, аэрозоль замасливателя и вещества, входящие в состав замасливателей, которые являются канцерогенами (фенол-формальдегидные смолы, метилоксиран, эпихлоргидрин), а также обладают аллергенным (фенол-формальдегидные и эпоксидные смолы, триэтаноламин), раздражающим (гидроперекись изопропилбензола, синталон ДС-10 и др.) и общетоксич-

Для корреспонденции: Тимашева Гульнара Вильевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отдела токсикологии и генетики, e-mail: gulnara-vt@ya.ru

ческим действием. В настоящее время в связи с внедрением современного оборудования концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны приближались к ПДК. На рабочих местах операторов концентрации мелкодисперсной пыли стекловолокна не превышали ПДК, уровни микроклимата соответствовали второй степени вредности третьего класса условий труда (класс 3.2). Кроме того, операторы непрерывного стекловолокна подвергались интенсивному воздействию производственного шума, превышающего предельно допустимые уровни на 3-10 дБА (класс 3.1-3.2). Общая оценка условий труда операторов в производстве стекловолокна соответствовала вредному классу третьей степени (3.3) [1].

К настоящему времени накоплено достаточно данных о вредном влиянии факторов рабочей среды и трудового процесса химических производств на здоровье работников [2-4]. Однако исследования по изучению ранних нарушений в системе гомеостаза у работников изученного производства, вследствие воздействия вредных производственных факторов носят единичный характер.

От начала воздействия производственных факторов до формирования патологического процесса проходит ряд стадий, при которых нормальные адаптационные реакции сменяются механизмами компенсации, которые являются, по сути, маркерами предпатологии, затем наступает стадия обратимых изменений, и только после нее возникает повреждение структур [5]. В процессе формирования компенсаторных реакций и начальных метаболических нарушений значительные отклонения от референтных значений могут не выявляться. В тоже время, изменения метаболических процессов предшествуют развитию различных заболеваний, в том числе заболеваний, обусловленных профессиональными факторами [6-8].

Одним из эффективных путей профилактики профессиональных и производственно обусловленной заболеваемости в современных условиях является поиск ранних изменений в организме при воздействии неблагоприятных факторов [9,10,11,12]. Целью работы является обоснование ранних маркеров изменений показателей гомеостаза для оценки индивидуального риска адаптационных нарушений у работников производства стекловолокна.

Материал и методы. Были выполнены комплексные лабораторные исследования у 347 работников производства стекловолокна в ходе периодического медицинского осмотра. Средний возраст работников составил $38,9 \pm 0,59$ лет, средний стаж работы – $13,7 \pm 1,6$ лет. Группу сравнения составили 114 работников производства, не имеющие контакта с вредными производственными факторами, средний возраст которых – $41,6 \pm 0,86$ лет при стаже работы $14,6 \pm 0,7$ лет.

Оценка метаболических нарушений в организме работников проводилась с использованием гематологических исследований и расчетом лейкоцитарных индексов интоксикации (ЛИИ) по формуле Я.Я. Кальф-Калифа в модификациях В.К. Островского (1983) [13], в модификации С.Ф. Химич [14], индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) [16].

Выполнены биохимические анализы по оценке состояния свободно-радикальных процессов и антиоксидантной защиты (определением продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню малонового диальдегида и активности каталазы), определялись показатели липидного спектра сыворотки крови (содержание общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов

низкой плотности (ХС ЛПНП), индекс атерогенности (ИА) и энзимодиагностика для оценки функционального состояния печени (активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ)), содержание билирубина. Для оценки эндогенной интоксикации проведено определение уровня молекул средней массы при λ 254 нм, при λ 280 нм. Лабораторные исследования проводились согласно общепринятым методикам [9,15].

Результаты исследования обработаны с использованием пакета прикладных программ статистического анализа «Statistica for Windows» с определением средних величин, показателя достоверности по коэффициенту Стьюдента (t) и уровня значимости (p).

Для определения лабораторных маркеров ранних метаболических нарушений при воздействии химических факторов производства было проведено изучение изменений уровней и частоты отклонений от норм лабораторных показателей у обследованных работников в зависимости от стажа работы. Ранжирование процента отклонений от нормы по пятиступенчатой шкале позволило определить наиболее информативные биомаркеры ранних метаболических нарушений у работников.

Результаты и обсуждение. При сравнении частоты отклонения гематологических показателей от нормы были установлены наибольшие отклонения у работников основной группы: снижение уровня гемоглобина у 30,8%, лейкоцитоз у $12,8 \pm 2,4\%$, повышение СОЭ у $8,2 \pm 1,9\%$, нейтрофилез у $24,1 \pm 3,1\%$, лимфоцитоз у $16,4 \pm 2,7\%$ и эритроцитоз у $9,2 \pm 2,1\%$ обследованных. Необходимо подчеркнуть, что выявлены статистически значимые различия в частоте отклонений по данным показателям гемограммы у работников основной группы относительно обследованных группы сравнения ($p < 0,05$) (табл. 1). Данные нарушения установлены уже у работников со стажем до 5 лет. Анализ результатов исследований, полученных у работников с различным стажем работы на производстве, выявил повышение доли лиц с эритроцитозом и пониженным уровнем гемоглобина в зависимости от стажа обследованных лиц. Изменения показателей красной крови у работников могут быть связаны с напряжением функций организма, вследствие гипоксии и мобилизации компенсаторных механизмов, развивающихся в ответ на действие химического фактора.

Повышение уровня лимфоцитов можно рассматривать как проявление неспецифической реакции организма рабочих в ответ на токсическое воздействие продуктов производства, в том числе и сенсibiliзирующее.

Для оценки степени выраженности эндогенной интоксикации и степени токсического влияния химических факторов на организм работников были рассчитаны лейкоцитарные индексы интоксикации (ЛИИ), в которых использованы параметры лейкоцитарной формулы и СОЭ. Оценка полученных результатов показала значительное повышение ЛИИ в модификации Островского практически у половина обследованных основной группы.

При сопоставлении с группой сравнения повышенные значения данного ЛИИ у работников основной группы встречались чаще в 7 раз. ЛИИ в модификации С.Ф.Химич у обследованных основной группы был повышен у $22,8 \pm 3,0\%$ лиц, в группе сравнения – у $6,1 \pm 2,3\%$, ИСЛК был определен у $33,5 \pm 3,4\%$ лиц основной группы и у $2,6 \pm 1,5\%$ группы сравнения (табл.2). Повышение значений вышеуказанных индексов свидетель-

Таблица 1

Частота отклонений гематологических показателей у обследованных работников

Гематологические показатели	Отклонения показателей	Обследованные работники	
		Основная группа	Группа сравнения
Гемоглобин, (132-160) г/л у мужчин (115-145) г/л у женщин	выше нормы	3,1±2,0	3,6±0,6
	ниже нормы	30,8±1,9*	10,9±0,6
Эритроциты, (4-5) ×10 ¹² /л	выше нормы	9,2±2,1	0,7±0,8
	ниже нормы	1,5±0,6*	5,8±0,8
Лейкоциты, (4-8)×10 ⁹ /л	выше нормы	12,8±2,4**	7,2±0,6
	ниже нормы	0,5±2,5	0,0±0,0
Эозинофилы, > 5%	выше нормы	7,7±1,7	15,2±1,2
	ниже нормы	24,1±3,1	2,2±0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, (45-72)%	выше нормы	2,6±0,8	0,0±0,0
	ниже нормы	16,4±2,7*	15,2±1,7
Лимфоциты, (18-40)%	выше нормы	11,3±1,4	2,2±0,3
	ниже нормы	3,3±3,3	5,0±1,7
Моноциты, >9%	выше нормы	5,6±3,4	2,2±0,8
	ниже нормы	22,1±2,7	3,6±0,6
Тромбоциты, (180-320)%	выше нормы	8,2±1,9	0,7±0,3
	ниже нормы		
СОЭ, >10мм/ч у мужчин >15мм/ч у женщин	выше нормы		
	ниже нормы		

Примечание: * - достоверные различия с группой сравнения ($p<0,05$), ** - достоверные различия с группой сравнения ($p<0,01$), *** - достоверные различия с группой сравнения ($p<0,001$).

ствуется, возможно, о развитии эндогенной интоксикации у работников производства.

Важно подчеркнуть, что наибольшее количество лиц с отклонениями всех ЛИИ отмечалось в первой стажевой группе (0-5лет), что указывает на прогностическое значе-

ние данных показателей при определении степени токсического влияния химических факторов производства на организм работников (см. табл. 2). Достоверными были различия ($p<0,05$) по показателям ЛИИ в каждой стажевой группе, что подтверждает высокую информативность интегральных лейкоцитарных индексов по сравнению с отдельными показателя гемограммы.

Исследование активности окислительных и антиокислительных процессов у работников выявило значительные изменения по всем изучаемым показателям. Установлено статистически значимое повышение среднegrupповых значений уровня ПОЛ, снижение активности каталазы у работников основной группы относительно уровня данных показателей у обследованных группы сравнения (табл. 3).

Выявлено увеличение содержания продуктов ПОЛ практически у половины работников (45,5%). Повышенные значения уровней перекисного окисления липидов определялись у работников уже при стаже работы до 5 лет и по мере увеличения стажа оставались стабильно высокими ($p<0,001$).

Изучение антиоксидантных процессов показало снижение активности каталазы у 26,7% всех работников. Важен характер изменений ее активности: если при стаже до 5 лет снижение установлено у каждого пятого работника, то при стаже более 15 лет – у половины обследованных.

Активация процессов свободнорадикального окисления липидов у работников, наряду со снижением функции антиоксидантной системы организма, возможно, является одним из факторов производственной обусловленности обнаруженных изменений.

Таблица 2

Частота отклонений ЛИИ в зависимости от стажа работы у работников

Стаж работы, годы	ЛИИ в модификации С.Ф. Химич		ЛИИ в модификации В.К.Островского		Индекс сдвига лейкоцитов крови	
	основная группа	группа сравнения	основная группа	группа сравнения	основная группа	группа сравнения
0-5	26,5±5,4*	0	58,8±6,0*	3,4±3,4	39,7±5,9*	0
6-10	21,7±5,4**	6,1±4,2	41,7±6,4*	6,1±4,2	31,7±6,1**	9,1±5,1
11-15	21,3±6,0**	4,2±4,2	44,7±7,3*	4,2±4,2	27,7±6,6*	0
>16	18,2±8,4**	7,1±4,9	54,5±10,9*	7,1±4,9	31,8±10,2*	0
Все	22,8±3,0*	6,1±2,3	49,7±3,6*	7,0±2,4	33,5±3,4*	2,6±1,5

Примечание: * - достоверность различий с группой сравнения ($p<0,001$), ** - достоверность различий с группой сравнения ($p<0,01$), *** - достоверность различий с группой сравнения ($p<0,05$).

Таблица 3

Показатели состояния свободно - радикального процессов и антиоксидантной активности организма у работников в зависимости от стажа

Показатели, норма	Параметры	Стаж работы			
		До 5 лет	6-10 лет	11-15 лет	16 и более
ПОЛ, 1,47-4,31 мкмоль/л	$M\pm m$	4,90±0,51***	4,57±0,23***	3,58±0,35*	4,7±1,14*
	$P\pm p$	40,4±3,45	42,1±1,23	33,0±4,34	50,0±6,23
Каталаза-10,6-23,0 мкат/л	$M\pm m$	16,10±1,16***	14,86±0,91***	16,22±2,71*	15,7±3,64*
	$P\pm p$	20,1±2,23	23,2±3,45	20,1±3,45	50,0±5,67
Средние молекулы λ 254 0,226-0,266 у.е.	$M\pm m$	0,29±0,009***	0,28±0,08**	0,34±0,01***	0,28±0,01**
	$P\pm p$	77,0±14,7	65,2±10,15	100±13,5	86,2±14,6
Средние молекулы λ 280 0,276-0,316	$M\pm m$	0,35±0,03	0,34±0,026	0,31±0,016	0,31±0,083
	$P\pm p$	67,2±6,14	73,9±9,36	50,0±8,34	97,5±15,6

Примечание: ($M\pm m$) – абсолютные значения показателя, ($P\pm p$) – частота отклонений в процентах; * – достоверность различий с группой сравнения ($p<0,05$), *** – достоверность различий с группой сравнения ($p<0,001$)

Таблица 4

Изменение показателей иммунитета у работников у работников производства стекловолокна

Показатель	Единица измерения	Основная группа операторы	Контроль
Лейкоциты	10 ⁹ /л	5,0±0,25	5,15±0,52
Лимфоциты	%	30,12±2,18	34,4±3,38
CD3+	10 ⁹ /л	1,50±0,25	1,77±0,19
CD4+	%	47,1±1,53*	61,8±2,72
CD4+	10 ⁹ /л	0,70±0,22	1,09±0,23
CD8+	%	34,5±2,31	33,9±2,24
CD8+	10 ⁹ /л	0,51±0,13	0,60±0,05
CD8+	%	22,2±1,52*	26,6±1,42
CD8+	10 ⁹ /л	0,33±0,13	0,47±0,14
CD4/CD8		1,3±0,07	1,46±0,12
CD16+	%	18,9±1,08*	9,15±1,65
CD16+	10 ⁹ /л	0,28±0,15	0,16±0,13
CD19+	%	11,5±1,31	9,5±0,82
CD19+	10 ⁹ /л	0,17±0,04	0,16±0,04
IgM	0,79-1,57 г/л	1,7±0,07*	1,3±0,06
IgG	10,0-18,0 г/л	18,8±1,05*	15,11±0,68
IgA	1,39-3,7 г/л	1,96±0,08*	2,63±0,22

Примечание: $p < 0,01$ – разница достоверна по сравнению с контролем.

Характеризуя показатели наличия эндогенной интоксикации, следует подчеркнуть, что уровень среднегрупповых значений и частота встречаемости повышенных уровней среднемолекулярных пептидов была весьма высока относительно группы сравнения ($p < 0,05$). Высокие значения среднемолекулярных пептидов свидетельствуют о наличии эндогенной интоксикации у работников изученного производства.

Исследование функционального состояния печени по активности ферментов выявило статистически значимое повышение ГГТ у 22,1% работников, АЛТ и АСТ у 11,3% и 6,9% обследованных соответственно, что достоверно чаще по сравнению с лицами контрольной группы ($p < 0,05$). Обнаружено повышение активности ЩФ у 10,2% лиц. Необходимо отметить наличие гиперферментемии ГГТ практически у каждого третьего работника (32,9%), АЛТ у 17,6%, АСТ у 16,2% и щелочной фосфатазы у 9,6% обследованных со стажем до 5 лет, что, возможно, обусловлено воздействием вредных веществ на функциональное состояние печени. Выявленные изменения свидетельствуют о наличии дисфункциональных процессов в печеночной ткани, развитии воспалительных изменений и симптомов повреждения ее паренхимы – цитолиза, холестаза у работников производства стекловолокна. Установлены выраженные нарушения и со стороны липидного обмена: повышение общего холестерина у 58 % и понижение фракции холестерина высокой плотности у 32,2% обследованных. Показано, что частота нарушений липидного спектра нарастает в зависимости от стажа работы: 51,7 % лиц основной группы со стажем до 5 лет и 81% со стажем более 15 лет имели пограничные и повышенные значения общего холестерина. Аналогичная тенденция установлена для уровня α -холестерина: у 40,0% обследованных со стажем до 5 лет и у 50% со стажем более 15 лет обнаружен пониженный уровень α -холестерина. Уровень триглице-

ридов (ТГ) был повышен практически у каждого пятого (21,5%) работника данного производства. Проведенный анализ возрастных изменений показателей липидного спектра не выявил четкой зависимости повышения частота отклонений уровня холестерина и ТГ от нормы в зависимости от возраста, что позволяет говорить о важной роли неблагоприятного воздействия производственных факторов, и прежде всего химических веществ, на липидный метаболизм у работников производства стекловолокна. Нарушения липидного обмена, обнаруженные у работников уже при стаже работы до 5 лет, свидетельствуют о высоком атерогенном риске.

Зависимость частоты нарушений липидного спектра от стажа работы на производстве может быть связана со срывом компенсаторных «антиатерогенных» механизмов и явной наклонностью к «атерогенной» перестройке крови у работников, что является фактором повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Полученные результаты подтверждают значимость исследований метаболизма липидов в ранней диагностике сердечно-сосудистых заболеваний.

Исследования показателей иммунологической реактивности выявили нарушения клеточного и гуморального иммунитета (табл. 4). Наблюдалось снижение как относительного, так и абсолютного количества CD3+ и CD8+ клеток, повышение CD16+ и CD19+ позитивных клеток. При этом наиболее глубокие изменения иммунитета обнаружены в стажевых группах 11-15 лет и более 15 лет.

Из полученных данных следует, что вредные факторы производственной среды при получении стекловолокна способствуют активации противоопухолевого и противовирусного иммунитета (CD3+, CD16+) у операторов, приводя к дефициту супрессорной функции, что является предрасполагающим фактором развития предраковых и раковых заболеваний кожи. Нарушения гуморального звена выражались у операторов стекловолокна повышением среднего уровня IgG у 69%, IgM у 35% и понижением IgA у 27% лиц. С увеличением стажа частота изменений большинства иммунологических показателей у работников нарастала ($p < 0,001$, $p < 0,01$). Приведенные данные свидетельствуют о фазовом характере течения иммунных реакций. В начале производственной деятельности наблюдалось развитие адаптационных реакций, процессов активации, напряжения иммунной системы и стремления иммунокомпетентных клеток восстановить равновесие. С увеличением стажа у работников всех изученных производств происходит срыв адаптационных возможностей, что проявляется иммунопатологическим состоянием.

На основании полученных результатов были рассчитаны коэффициенты диагностической чувствительности изученных лабораторных показателей и проведено ранжирование процента отклонений от нормы по пятиступенчатой шкале. Среднегрупповые значения коэффициентов диагностической чувствительности изученных показателей следующие: по уровню средних молекул λ - 280 – 4,9 у.е., средних молекул λ 254 - 4,8; ПОЛ - 4,4; по активности каталазы - 4,1; по активности гамма-глутамилтрансферазы – 4,03; аланинаминотрансферазы – 3,9; аспартатамино-трансферазы – 3,76; щелочной фосфатазе – 3,6; по индексу атерогенности – 4,59; холестерину – 4,4; ХС ЛПНП – 4,31; триглицеридам – 3,7; CD3+ – 3,6; CD4+ – 3,2; CD 16+ – 3,8; гемоглобину - 2,6; лейкоцитам – 2,2; ЛИИ – 3,78.

Заключение. Наиболее информативными показателями, характеризующими нарушение процессов гомеоста-

за, которые могут быть предложены в качестве ранних диагностических и прогностических критериев уровня состояния здоровья работников производства стекловолокна являются: показатели окислительного метаболизма (повышение уровня продуктов ПОЛ, понижение активности каталазы, повышение уровня среднемолекулярных пептидов), показатели липидного обмена (увеличение атерогенных фракции и снижении антиатерогенных фракций холестерина), иммунологические показатели понижение CD3+, повышение CD4+, CD 16+, CD20+, IgG), показатели гемограммы и лейкоцитарные индексы интоксикации (лейкоцитарные индексы интоксикации, эритроцитоз, лейкоцитоз), показатели функции печени (гиперферментемия (ГГТ, АЛТ, АСТ). Данные лабораторные маркеры целесообразно использовать для оценки индивидуального риска адаптационных нарушений у работников производства стекловолокна.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красовский В.О., Максимов Г.Г. Физиолого-гигиеническая диагностика безвредного стажа по условиям труда. Уфа: ООО ПКП «ДАР»; 2003.
2. Измеров Н.Ф., ред. Профессиональная патология: национальное руководство М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
3. Валеева Э.Т., Бакиров А.Б., Каримова Л.К. Профессиональные заболевания и интоксикации, развивающиеся у работников нефтехимических производств в современных условиях. *Экология человека*. 2010; 3: 19-23.
4. Каримова Л.М., Каримова Л. К., Башарова Г.Р. Профессиональный риск для здоровья работников химических и нефтехимических производств. Уфа: ФБУН УфНИИ МТ ЭЧ Роспотребнадзора; 2006.
5. Юшков Б.Г., Черешнев В.А. Проблема нормы в физиологии и клинической медицине (дискуссионные вопросы). В кн.: Лабораторная диагностика инфекционных и соматических заболеваний. Екатеринбург: Граффика; 2015.
6. Измеров Н.Ф. Концепция долгосрочного социально-экономического развития российской федерации на период до 2020 г. («стратегия 2020») и сохранение здоровья работающего населения России. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; 3: 1-8.
7. Кузьмина Л.П., Измерова Н.И., Бурмистрова Т.Б. Патоморфоз современных форм профессиональных заболеваний. *Медицина труда и промышленная экология*. 2008; 6: 18-24.
8. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Коррекция перекисного окисления липидов при повреждающих воздействиях (гепатотропные яды, гипоксия, стресс). Уфа: ФБУН УфНИИ МТ ЭЧ Роспотребнадзора; 2012.
9. Потапов А.И., ред. Клиническая лабораторная диагностика профессиональных заболеваний. Ярославль: Канцлер; 2013.
10. Павловская Н.А., Рушкевич О.П. Биомаркеры для ранней диагностики последствий воздействия угольной пыли на организм шахтеров. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; 9: 36-42.
11. Тимашева Г.В., Бадамшина Г.Г., Бакиров А.Б., Каримова Л.К. Особенности метаболических изменений в лимфоцитах и нейтрофилах крови у работников нефтехимического производства. *Медицинский Вестник Башкортостана*. 2012; 3: 5-8.
12. Тимашева Г.В., Кузьмина Л.П., Бадамшина Г.Г., Каримова Л.К. Роль лабораторных исследований в диагностике ранних метаболических нарушений у работников нефтехимического производства. *Медицина труда и промышленная экология*. 2013; 3: 15-20.
13. Островский В.К., Свитич Ю.М., Ребер В.Р. Лейкоцитарный индекс интоксикации при острых гнойных заболеваниях легких. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 1983; 11: 21-4.
14. Данилова Л.А., ред. Справочник по лабораторным методам исследования. С.-Пб: Питер; 2003.

15. Кишкун А.А., ред. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
16. Гринь В.К., Фисталь Э.Я., Сперанский И.И. Интегральные гематологические показатели лейкоцитарной формулы как критерий оценки тяжести течения ожоговой болезни, ее осложнений и эффективности проводимого лечения. В кн.: Материалы научно-практической конференции «Сепсис: проблемы диагностики, терапии и профилактики». Харьков; 2006.

REFERENCES

1. Krasovskiy V.O., Maksimov G.G. Physiological-hygienic diagnosis of innocent experience of labour. [Fiziologo-gigienicheskaya diagnostika bezvrednogo stazha po usloviyam truda]. Ufa: OOO PKP «DAR»; 2003. (in Russian)
2. Izmerov N.F., ed. Professional pathology: national management. [Professional'naya patologiya: nacional'noe rukovodstvo]. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (in Russian)
3. Valeeva Je.T., Bakirov A.B., Karimova L.K. Occupational diseases and intoxication, developing in workers of petrochemical industries in modern conditions. *Ekologiya cheloveka*. 2010; 3: 19-23. (in Russian)
4. Karamova L.M., Karimova L. K., Basharova G. R. Professional risk for health of workers of chemical and petrochemical productions. [Professional'nyy risk dlya zdorov'ya rabotnikov himicheskikh i neftekhimicheskikh proizvodstv]. Ufa: FBUN UfNII MT ECh Rospotrebnadzora; 2006. (in Russian)
5. Jushkov B.G., Chereshev V.A. The problem of norm in physiology and clinical medicine (discussion questions): Laboratory diagnostics of infectious diseases. [Problema normy v fiziologii i klinicheskoy medicine (diskussionnye voprosy). V kn.: Laboratornaya diagnostika infekcionnyh i somaticheskikh zabolevanij]. Ekaterinburg: Graffika, 2015: 166 - 180. (in Russian)
6. Izmerov N.F. The concept of long-term socio-economic development of the Russian Federation for the period up to 2020 («strategy 2020») and the preservation of the health of the working population of Russia. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; 3: 1-8. (in Russian)
7. Kuz'mina L.P., Izmerova N.I., Burmistrova T.B. Pathomorphosis of modern forms of occupational diseases. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2008; 6: 18-24.
8. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F. Correction of lipid peroxidation in a damaging effects (hepatotropic poisons, hypoxia, stress). [Korreksiya perekisnogo okisleniya lipidov pri povrezhdayushchikh vozdeystviyakh (gepatotropnye yady, gipoksiya, stress)]. Ufa: FBUN UfNII MT ECh Rospotrebnadzora; 2012. (in Russian)
9. Potapov A. I., ed. Clinical laboratory diagnosis occupational diseases. [Klinicheskaya laboratornaya diagnostika professional'nyh zabolevanij]. Yaroslavl': Kantsler; 2013. (in Russian)
10. Pavlovskaya N.A., Rushkevich O.P. Biomarkers for early diagnosis of the effects of coal dust on the body of miners. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; 9: 36-42. (in Russian)
11. Timasheva G.V., Badamshina G.G., Bakirov A.B., Karimova L.K. Features of the metabolic changes in the blood lymphocytes and neutrophils of the workers of petrochemical production. *Meditsinskiy Vestnik Bashkortostana*. 2012; 3: 5-8. (in Russian)
12. Timasheva G.V., Kuz'mina L.P., Badamshina G.G., Karimova L.K. The role of laboratory studies in the diagnosis of early metabolic disorders in workers of petrochemical production. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2013; 3: 15-20. (in Russian)
13. Ostrovsky V. K., Svitich V. M., Reber V. R. Leukocyte index of intoxication at acute purulent diseases of the lungs. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*. 1983; 11: 21-4. (in Russian)
14. Danilova L. A., ed. Reference book on laboratory research methods. [Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya]. St.Peterburg: Piter; 2003. (in Russian)
15. Kishkun A.A., ed. Guidance on the laboratory methods of diagnostics. [Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki]. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (in Russian)
16. Grin' V.K. Fistal' E. Ya., Speranskij I.I. Integral hematological parameters of leukocyte formula as a criterion for assessing the severity of burn disease, its complications and the effectiveness of treatment: Proceedings of the scientific-practical conference «Sepsis: problems of diagnosis, therapy and prevention». [Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Sepsis: problemy diagnostiki, terapii i profilaktiki»]. Kharkiv; 2006: 77-78.

Поступила 25.12.18

Принята к печати 10.01.19

Степанова Т.В., Иванов А.Н., Терешкина Н.Е., Попыхова Э.Б., Лагутина Д.Д.

МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава РФ, 410012, Саратов, Россия

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) считается одним из патогенетических механизмов целого спектра заболеваний. Эффективным способом диагностики ЭД является обнаружение в крови специфических биохимических маркеров, характеризующих состояние сосудистого эндотелия. В настоящем обзоре освещается патогенетическая роль ряда синтезируемых эндотелиоцитами факторов, изменение уровня которых в биологических жидкостях отражает нарушение основных физиологических свойств эндотелия: вазомоторной функции, тромборезистентности, функции регуляции ангиогенеза, барьерной и адгезивной функций. В частности, рассматриваются вопросы участия метаболитов оксида азота, асимметричного диметиларгинина, эндотелина-1, продуктов метаболизма арахидоновой кислоты, фактора фон Виллебранда, тромбомодулина, фактора роста эндотелия сосудов, вазогибина-1 и молекул адгезии в возникновении и развитии ЭД. Показана диагностическая значимость таких факторов, повреждающих эндотелий, как С-реактивный белок, гомоцистеин и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин, при исследовании функции эндотелия. Кроме того, приводятся литературные данные последних лет об информативности определения в клинике упомянутых выше факторов, изменение уровня продукции которых свидетельствует о структурном и функциональном поражении эндотелиальных клеток. Особое внимание уделяется прогностической значимости определения отдельных маркеров ЭД и обсуждается возможность их практического использования для диагностики ЭД при ряде широко распространенных заболеваний. Поиск литературы при написании настоящего обзора осуществляли по базам данных РИНЦ, CyberLeninka, Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed за период с 2012 по 2018 гг. с использованием следующих ключевых слов: эндотелиальная дисфункция, оксид азота, асимметричный диметиларгинин, эндотелин-1, простаглицлин, тромбоксан А₂, эпоксиэйкозатриеновые кислоты, фактор фон Виллебранда, тромбомодулин, сосудистый эндотелиальный фактор роста, вазогибин-1, молекулы адгезии, С-реактивный белок, гомоцистеин и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция; маркеры эндотелиальной дисфункции; повреждение эндотелия; обзор.

Для цитирования: Степанова Т.В., Иванов А.Н., Терешкина Н.Е., Попыхова Э.Б., Лагутина Д.Д. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 34-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-34-41>

Stepanova T.V., Ivanov A.N., Tereshkina N.E., Popykhova E.B., Lagutina D.D.

MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: PATHOGENETIC ROLE AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 410012, Saratov, Russia

Endothelial dysfunction (ED) is considered one of the pathogenetic mechanisms of a whole range of diseases. Detection of specific biochemical markers in the blood is an effective way to ED diagnostics that characterize the vascular endothelium state. This review highlights the pathogenetic role of the factors synthesized by endotheliocytes whose level changes in biological fluids reflect violations of the endothelium basic physiological properties: vasomotor function, thromboresistance, angiogenesis regulation, barrier and adhesion functions. In particular, the participation of nitric oxide metabolites, asymmetric dimethylarginine, endothelin-1, metabolic products of arachidonic acid, von Willebrand factor, thrombomodulin, vascular endothelial growth factor, vasohibine-1 and adhesion molecules in the onset and development of ED are reviewed. The diagnostic significances of factors damaging endothelium, such as C-reactive protein, homocysteine and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, are discussed. In addition, the literature data of recent years about the prospects of clinical implication the detection of the above-mentioned factors which indicates structural and functional endothelial cells damage are given. Particular attention is paid to the ED markers detection prognostic significance and the possibility of their practical use for the ED diagnosis. The search of literature for the current review was conducted in RSIC, CyberLeninka, Scopus, Web of Science, MedLine and PubMed databases from 2012 to 2018 using the following keywords: endothelial dysfunction, nitric oxide, asymmetric dimethylarginine, endothelin-1, prostacyclin, thromboxane A₂, epoxyeicosatrienoic acids, von Willebrand factor, thrombomodulin, vascular endothelial growth factor, vasohibin-1, adhesive molecules, C-reactive protein, homocysteine, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine.

Key words: endothelial dysfunction; markers of endothelial dysfunction; endothelium damage; overview.

For citation: Stepanova T.V., Ivanov A.N., Tereshkina N.E., Popiekhova E.B., Lagutina D.D. Markers of endothelial dysfunction: pathogenetic role and diagnostic significance. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64(1): 34-41 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-34-41>

For correspondence: Stepanova T.V., Junior Research Officer of the Central Scientific Research Laboratory; e-mail: cnil-sgmu@mail.ru

Information about authors:

Stepanova T., <https://orcid.org/0000-0001-8439-8033>

Ivanov A., <https://orcid.org/0000-0003-4061-5221>

Tereshkina N., <https://orcid.org/0000-0002-4503-5384>

Popykhova E., <https://orcid.org/0000-0002-7662-4755>

Lagutina D., <https://orcid.org/0000-0001-6219-3846>

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The work had no sponsor support.

Received 26.07.2018
Accepted 15.09.2018

Введение. В соответствии с современными представлениями, одним из ключевых патогенетических механизмов многих заболеваний является эндотелиальная дисфункция (ЭД) – прогрессирующее нарушение структуры и функции эндотелия, характеризующееся дисбалансом между факторами, обеспечивающими местные процессы регуляции тонуса сосудов, гемостаза, пролиферации и миграции клеток крови в сосудистую стенку [1, 2, 3]. ЭД рассматривается как одно из ранних проявлений патологии сердечно-сосудистой системы и ассоциирована с артериальной гипертензией (АГ), ишемической болезнью сердца (ИБС), хронической сердечной недостаточностью (ХСН), а также патологическими изменениями сосудов при сахарном диабете (СД), метаболическом синдроме, хронической болезни почек (ХБП), онкологических и многих других заболеваниях [2, 4].

Эндотелиальные клетки, вследствие своего уникального положения на границе между циркулирующей кровью и тканями, отличаются особенной уязвимостью при действии разнообразных патогенных факторов, находящихся в системном и местном кровотоке. Именно эндотелиоциты первыми встречаются с продуктами обмена веществ, свободными радикалами, тяжёлыми металлами и лекарственными препаратами, которые вызывают повреждение внутренней выстилки сосудов [4].

Диагностика ЭД представляет собой актуальную проблему современного здравоохранения. К настоящему времени разработано и стандартизировано много способов инструментальной оценки функциональной активности эндотелия [3, 4, 5]. Однако не менее важным методом оценки выраженности ЭД в клинических условиях является лабораторная диагностика – оценка содержания в биологических жидкостях и тканях различных факторов, образующихся в эндотелии [5]. В этой связи целью настоящего обзора являлось рассмотрение патогенетической и диагностической значимости маркеров ЭД.

Факторы, отражающие нарушение вазомоторной функции эндотелия

Продукты метаболизма оксида азота (NO). Ведущую роль в дисфункции эндотелия играет нарушение метаболизма NO. В нормально функционирующем эндотелии происходит постоянное высвобождение NO, который обеспечивает поддержание тонуса кровеносных сосудов за счет вазодилатирующего эффекта, а также оказывает антиагрегантное и антипролиферативное действие [1, 6]. Развитие ЭД ассоциировано с нарушением метаболических превращений цикла оксида азота [6]. При этом происходит нарушение образования и/или снижение биодоступности вырабатываемого эндотелиоцитами NO, что является одним из патогенетических механизмов развития целого ряда заболеваний [1, 4].

Молекула NO нестабильна и быстро метаболизируется, превращаясь в относительно стабильные ионы нитрита (NO^{2-}) и нитрата (NO^{3-}) [7]. Определение суммарной концентрации устойчивых конечных метаболитов NO нитритов и нитратов, обозначаемой NOx, в циркулирующей крови используется в экспериментальных

и клинических работах для оценки уровня продукции NO как показателя функционального состояния эндотелия [1, 7-9]. Долгое время определение метаболитов NO осуществлялось преимущественно в экспериментальных исследованиях, что обусловлено сложностями стандартизации методики определения их концентрации, которая основана на качественной реакции Грисса на нитриты. В последние годы разработаны коммерческие наборы для биохимического определения NOx в микропланшетном формате и появляется все большее число публикаций об использовании таких тест-систем в клинических исследованиях. Так, установлено, что при ХБП дисфункция эндотелия проявляется снижением концентрации стабильных метаболитов NO в плазме крови и уменьшением биодоступности NO [10]. Повышение уровня нитритов–нитратов наблюдается при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки в стадии обострения у детей [11], при ХОБЛ [12], легочной гипертензии [7], а также раке молочной железы [13]. В то же время при изучении уровня NO при системной АГ получены неоднозначные результаты [4]. Данные о характере изменения содержания NOx в крови у беременных женщин при преэклампсии также противоречивы. Так, некоторые исследователи сообщают о повышении уровня NOx при данном патологическом состоянии, а также при АГ у беременных [14]. Другие авторы отмечают уменьшение концентрации метаболитов азота в сыворотке при преэклампсии средней тяжести с дальнейшим снижением их уровня при тяжелой форме заболевания [15]. Вместе с тем, показано, что при физической нагрузке у здоровых лиц, вдыхающих дизельный выхлоп, уровень NOx плазмы возрастает [8]. Алиментарные факторы, в частности нитраты, содержащиеся в пищевых продуктах, также способны оказывать влияние на концентрацию метаболитов азота в крови [16].

Асимметричный диметиларгинин (ADMA). Дефицит NO может возникать как за счет уменьшения содержания аргинина в эндотелиоците, так и в связи с накоплением в клетке эндогенных конкурентных ингибиторов eNOS, в частности ADMA [6]. ADMA – побочный продукт белкового обмена в клетке, который образуется в результате замещения двух атомов водорода в молекуле L-аргинина метильными группами [17]. Являясь структурным аналогом L-аргинина, ADMA ингибирует активность всех изоформ NOS, вызывая нарушение механизмов образования оксида азота в эндотелии [18], что обуславливает его использование в качестве одного из перспективных биохимических маркеров ЭД.

В физиологических условиях концентрация ADMA в периферической крови варьирует, по данным разных авторов, от 0,23 до 0,86 мкмоль/л [6, 19, 20]. Среди возможных механизмов увеличения концентрации данного вещества в периферической крови рассматривают снижение активности диметиларгинин-диметиламиногидролазы (фермента, гидролизующего ADMA до цитруллина и диметиламина), а также нарушение функции почек [6].

Установлена тесная взаимосвязь между повышенным содержанием АДМА и риском развития болезней сердца [21]. Показано, что нарушение метилирования аргинина, оценка которого проводится с учетом соотношения концентрации в плазме крови АДМА, симметричного диметиларгинина и некоторых аминокислот, связанных с метаболизмом аргинина (аргинина, цитруллина, орнитина), увеличивает риск развития острого коронарного синдрома при ИБС [18]. Резкое повышение уровня данного маркера описано также при диффузном поражении коронарных сосудов у больных СД [20, 22], при легочной гипертензии [6] и системной АГ [9]. АДМА является маркером риска инсульта и транзиторных ишемических атак. Поскольку АДМА является конкурентным аналогом аргинина, то снижение соотношения L-аргинин/АДМА также достоверно связано с ростом цереброваскулярного риска [17].

Показана роль сывороточного АДМА как маркера ЭД при патологии почек. В частности, повышение этого маркера зарегистрировано при ХБП на любой стадии заболевания [10], указывая на вероятность ее прогрессирования [19]. Уровень АДМА является показательным маркером ЭД при СД. Так, повышенная концентрация циркулирующего АДМА коррелирует с общей смертностью у таких больных [23]. С другой стороны, снижение уровня АДМА, наблюдаемое при СД у беременных, рассценивается как механизм защиты организма от ЭД, возникающей при гипергликемии в условиях ограничения синтеза NO [24].

Эндотелин-1 (ЭТ-1). Еще одним маркером ЭД, отражающим состояние вазомоторной функции эндотелия, может служить ЭТ-1 – биологически активный пептид широкого спектра действия [25, 26, 27]. ЭТ-1 представлен главным образом в эндотелии, однако он образуется также во многих других клетках [26]. ЭТ-1 является мощным вазоконстриктором и митогенным фактором для гладкомышечных клеток сосудов, фибробластов, кардиомиоцитов. В низких концентрациях он участвует в регуляции роста клеток эндотелия и стимулирует продукцию ими NO и простагличина.

Содержание ЭТ-1 в крови чаще всего определяется иммуноферментным методом. Выработка данного пептида усиливается при ишемии, гипоксии, стрессе, гиперхолестеринемии и гипергликемии, а также под действием ангиотензина II, тромбина, ЛПНП, кортизола [25, 26]. ЭТ-1 служит одним из значимых маркеров ЭД при целом ряде распространенных соматических заболеваний: ИБС [25], ХСН и инфаркте миокарда [4, 27], ишемическом повреждении головного мозга [28, 29], СД и его сосудистых осложнениях [30, 31]. Более того, данный пептид рассматривается как предиктор тяжести и исхода этих патологических состояний.

Метаболиты арахидоновой кислоты. Простагличин (ПЦ), или простагличин I_2 , представляет собой конечный метаболит арахидоновой кислоты, образующийся под действием циклооксигеназы COX-2. COX-2 превращает арахидоновую кислоту в простагличин H_2 , который затем под действием простагличин-синтетазы преобразуется в ПЦ [32]. Оценку выработки ПЦ проводят путем определения концентрации в моче его стабильного метаболита – 6-кето-простагличина $F_{1\alpha}$ [4, 32].

Важным физиологическим эффектом ПЦ является его противодействие вазоконстрикторному и агрегационному эффекту другого простаноида – тромбосана A_2 (ТХА₂). Баланс между этими веществами в орга-

низме играет важную роль в поддержании сердечно-сосудистого гомеостаза, особенно у матери и плода во время беременности, а также у новорожденных [32]. Показано, что снижение соотношения ПЦ/ТХА₂ в циркулирующей крови матери, плода и новорожденного играет значительную роль в развитии преэклампсии, внутриматочной ростовой рестрикции и персистирующей легочной гипертензии соответственно [32].

Изменение синтеза ПЦ происходит при ЭД, сопровождающей ХОБЛ и ряд сопутствующих заболеваний [33]. Биосинтез ТХА₂ клетками эндотелия возрастает при воспалительном поражении сосудистой стенки, в частности при кардиоваскулярных болезнях, связанных с атеросклерозом [34]. Оценка уровня в крови ТХА₂ чаще всего проводится по содержанию 11-дегидротромбосана B_2 – стабильного метаболита ТХА₂, обнаруживаемого в моче методом ИФА [4, 32]. Так, повышенный уровень тромбосана B_2 считается фактором риска нежелательных сердечно-сосудистых событий [34].

Эпоксидокосатриеновые кислоты (ЕЕТ) – продукты метаболизма арахидоновой кислоты, образующиеся в эндотелиальных клетках при участии цитохром-Р450-эпоксигеназ. ЕЕТ вносят определенный вклад в эндотелий-зависимое расслабление различных кровеносных сосудов, гиперполяризуя гладкомышечные клетки сосудистой стенки [35]. На уровне микроциркуляторного русла, помимо сосудорасширяющего эффекта, ЕЕТ оказывают противовоспалительное и дезагрегационное действие, улучшая микроциркуляцию и способствуя восстановлению тканей после ишемического повреждения, например, после ишемического инсульта или инфаркта миокарда. ЕЕТ способствуют снижению системного артериального давления, усилению диуреза, клеточной пролиферации, могут оказывать эндокринные эффекты [35].

Для обнаружения ЕЕТ в плазме крови разработан высокочувствительный современный метод LC-MS/MS (метод жидкостной хроматографии/тандемной масс-спектрометрии) [36], который на сегодняшний день может быть использован только при проведении научных исследований.

Таким образом, оценка нарушений вазомоторной функции может быть проведена путем определения концентрации в крови различных маркеров, включая метаболиты системы оксида азота, ЭТ-1, метаболиты арахидоновой кислоты. Вместе с тем следует отметить, что возможности клинического использования данных маркеров не одинаковы, что обусловлено особенностями методологии их определения, а также, как в случае нитратов и нитритов – неоднозначностью трактовки изменений. В настоящее время наиболее удобными для оценки нарушений вазомоторной функции являются АДМА и ЭТ-1, определение концентрации которых позволяет характеризовать эндотелий-зависимые дилатацию и констрикцию.

Маркеры нарушения тромборезистентности эндотелия

Фактор Виллебранда (фактор фон Виллебранда, ФВ, vWF) – крупный мультимерный гликопротеид плазмы крови, синтезируемый в эндотелии и мегакариocyтах [37]. Известны две основные физиологические функции ФВ. Во-первых, он участвует в первичном гемостазе, исполняя роль посредника в сосудисто-тромбоцитарном

взаимодействии на этапах адгезии и агрегации тромбоцитов [25, 38]. Во-вторых, ФВ принимает участие во вторичном коагуляционном гемостазе, связываясь с молекулой фактора VIII, стабилизируя ее и направляя к месту повреждения сосуда [25, 37].

Наиболее часто ФВ выявляется иммуноферментным методом; его средняя концентрация при этом, по данным разных авторов, колеблется от 80,8 до 128 IU/dL [38, 39, 40]. Повышение уровня ФВ наблюдается при многих патологических состояниях, сопровождающихся острым и хроническим повреждением эндотелиальных клеток. Так, повышенное содержание ФВ в крови отмечено при ИБС и ассоциировано с тяжестью течения стенокардии, острой и хронической сердечной недостаточности [25]. Доказана роль ФВ как маркера эндотелиального повреждения при гипертонической болезни, мерцательной аритмии и остром коронарном синдроме [4]. Определение уровня циркулирующего ФВ является информативным также при тяжелом течении ХОБЛ [38] и истинной полицитемии [39].

Тромбомодулин (ТМ, CD141). Эндотелий сосудов синтезирует интегральный мембранный гликопротеид – ТМ, выполняющий функцию рецептора тромбина. При взаимодействии ТМ с тромбином образуется тромбомодулин/тромбиновый комплекс, который активирует протеин С. Последний является основным естественным антикоагулянтом в организме. Активный протеин С инактивирует факторы свертывания fVa и fVIIIa, и способствует высвобождению тканевого активатора плазминогена из стенки сосуда. Тромбомодулин/тромбиновый комплекс, кроме того, ингибирует превращение фибриногена в фибрин, ускоряет инактивацию тромбина антитромбином III, а также препятствует инактивации протеина S и активации тромбоцитов, моноцитов, Т-лимфоцитов и тучных клеток [41, 42].

В физиологических условиях ТМ связан с мембраной эндотелиоцитов и практически отсутствует в свободной циркуляции в кровеносном русле, поэтому увеличение концентрации растворимой формы этого гликопротеида в крови, регистрируемое методом ИФА, позволяет рассматривать ТМ в качестве маркера ЭД [39, 41, 42]. Действительно, повышенный уровень растворимого ТМ обнаружен таких патологических состояниях, связанных с ЭД, как хроническая венозная недостаточность [40], ХБП [42], истинной полицитемии [39], а также при инфекционных и паразитарных болезнях [41, 43].

Таким образом, определение концентрации ФВ и ТМ позволяет выявить нарушения тромборезистентности сосудистой стенки при эндотелиальной дисфункции.

Факторы, регулирующие ангиогенез

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). При повреждении тканей гипоксического или иного генеза в пораженном участке запускается процесс ремоделирования сосудистого русла, играющий важную адаптивную роль [44]. Одним из важнейших положительных регуляторов ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) – цитокин, выполняющий также роль регулятора проницаемости сосудистой стенки [45].

VEGF – гомодимерный гликопротеин с молекулярной массой 46–48 kDa, содержащий 26 аминокислотных остатков. Он существует по крайней мере в пяти изоформах, обладающих сходной биологической активностью, но отличающихся по биодоступности, при этом ключевым фактором роста кровеносных сосудов явля-

ется VEGF A [45]. В физиологических условиях VEGF продуцируется многими типами клеток, включая эндотелиальные, и обнаруживается в различных органах и тканях [44].

Функция VEGF в организме человека двойственна. С одной стороны, VEGF необходим для стабильности эндотелия и реализации физиологического ангиогенеза, с другой, данный цитокин играет ведущую роль в патологическом ангиогенезе при целом ряде заболеваний [44]. Поскольку VEGF обладает митогенной активностью преимущественно в отношении эндотелиальных клеток, его уровень в крови может служить одним из показателей ЭД [45].

Наибольшее диагностическое значение имеет определение VEGF при онкологических заболеваниях. Повышенные концентрации VEGF в опухоли, а также в плазме и сыворотке крови обнаруживаются при ряде злокачественных новообразований, например, при мышечно-инвазивном раке мочевого пузыря [46], раке поджелудочной железы [44], яичников, эндометрия и молочной железы [47].

Кроме того, увеличение концентрации VEGF в крови и других биологических жидкостях отмечают при атеросклерозе [4], системной склеродермии [48], РА [49], что указывает на участие данного фактора в патогенезе этих заболеваний.

В то же время VEGF является трофическим фактором, играющим ключевую роль в обеспечении выживания эндотелиальных клеток [33], и повышение его уровня в крови иногда носит компенсаторный характер и свидетельствует о благоприятном течении патологического процесса. Так, высокая концентрация VEGF в остром периоде инфаркта мозга связана со стимуляцией неоваскуляризации и нейропротективных процессов, приводящих к значительному восстановлению нарушенных неврологических функций и, как следствие, благоприятному клиническому исходу [50].

Вазогин-1 (VASH-1). Новым, активно изучаемым в настоящее время маркером ЭД является белок VASH-1, который образуется в эндотелиальных клетках под действием VEGF и основного фактора роста фибробластов (FGF-2) [51]. Первоначально VASH-1 был описан как аутокринно действующий ингибитор ангиогенеза [51, 52], однако в последние годы представления о его функциях в организме существенно расширились. Экспериментально доказано, что VASH-1 предотвращает преждевременное старение эндотелиальных клеток и повышает их устойчивость к стрессу [51], а при репликативном старении эндотелиоцитов экспрессия VASH-1 существенно снижается [52]. Предполагается, что угнетение гена *VASH-1* может быть одной из причин связанной со старением ЭД, которая является причиной болезней сосудов, ассоциированных с возрастом [52].

Установлено, что повышение экспрессии VASH-1 отмечается в эндотелиальных клетках сосудов патологически измененных тканей, в частности в злокачественных новообразованиях, что, по-видимому, связано с гиперпродукцией VEGF [53, 54]. При атеросклерозе сонных артерий увеличение продукции данного белка в бляшках свидетельствует об их нестабильности, отражая усиленную неоваскуляризацию и воспаление и указывая на риск развития ишемического инсульта [55]. При ХБП повышение уровня вазогина-1 в плазме и моче по данным сэндвич-ELISA ассоциировано с прогрессирующим ухудшением функции почек [56].

Таким образом, определение концентрации регуляторов ангиогенеза, в частности, VEGF и VASH-1 в крови позволяет, с одной стороны, оценивать повреждение эндотелиальных клеток, так как данные факторы обеспечивают поддержание жизнеспособности эндотелиоцитов, с другой стороны, оценивать выраженность особой формы ЭФ, наблюдаемой при опухолевых процессах и характеризующейся преимущественным нарушением ангиогенной функции эндотелиальных клеток.

Факторы, отражающие нарушение адгезии и барьерной функции эндотелия

Молекулы адгезии ICAM-1 и VCAM-1. При ЭД под влиянием различных стимулов, таких как модифицированные липопротеины, провоспалительные цитокины, тромбин, происходит усиление экспрессии на поверхности эндотелиоцитов клеточных сосудистых VCAM-1 (vascular cellular adhesion molecule-1) и межклеточных ICAM-1 (inter cellular adhesion molecule-1) молекул адгезии [57], которые рассматриваются как потенциальные маркеры ЭД. ICAM-1 и VCAM-1 представляют собой трансмембранные гликопротеины из семейства иммуноглобулинов. Они опосредуют межклеточные взаимодействия, включая адгезию и трансмиграцию лейкоцитов в сосудистую стенку [5].

В настоящее время доказано, что адгезия моноцитов к активированным клеткам эндотелия является наиболее ранним этапом воспаления, характерного, в частности, для атеросклеротического повреждения сосудистой стенки [5, 57, 58]. Поэтому представляется закономерным, что уровень растворимых молекул адгезии повышается при различных формах ИБС, включая стенокардию разных функциональных классов и острый инфаркт миокарда [57]. Более того, рост содержания ICAM-1 в сыворотке считается рядом исследователей независимым фактором риска ССЗ [57, 58]. Повышенный уровень молекул адгезии регистрируется при СД у беременных [24], при РА [59] и ХОБЛ [12]. Кроме того, показана важная роль VCAM-1 в патогенезе злокачественных новообразований, их росте, метастазировании, опухолевом ангиогенезе [60].

Таким образом, в настоящее время среди доступных маркеров ЭД относительно немного факторов, позволяющих оценить нарушения барьерной функции сосудистой стенки. К этим маркерам можно отнести растворимые формы ICAM-1 и VCAM-1, характеризующие нарушения адгезивных свойств эндотелия и, как указывалось выше VEGF, регулирующий проницаемость сосудистой стенки.

Факторы, повреждающие эндотелий

С-реактивный белок (СРБ). СРБ – один из основных белков острой фазы, который считается общепризнанным неспецифическим маркером воспалительных процессов [61, 62]. Для стратификации риска сосудистых осложнений значимыми являются уровни СРБ ниже 10 мг/л – так называемые базовые или субклинические. Уровень СРБ выше 10 мг/л свидетельствует об остром воспалении, хронических заболеваниях и др. [61]. Многочисленные исследования базовых концентраций СРБ позволили оценить вялотекущие воспалительные процессы в эндотелии, с которыми связано развитие атеросклероза и его осложнений [62]. Установлено, что измерение базового уровня СРБ имеет прогностическое

значение при ИБС и позволяет оценить степень риска ОИМ, а также мозгового инсульта, внезапной сердечной смерти [3, 62]. Повышение уровня СРБ в сыворотке крови при ХОБЛ [63] и злокачественных новообразованиях [64] отражает роль ЭД в патогенезе этих заболеваний.

Гомоцистеин (ГЦ) – аминокислота, образующаяся в организме при метаболизме метионина. ГЦ в крови легко подвергается процессу окисления, в результате которого освобождаются свободные радикалы в виде супероксида кислорода и перекиси водорода, напрямую повреждающие эндотелий [3, 1]. Оксидативный стресс приводит к угнетению синтеза NO вследствие нарушения активности NO-синтазы и увеличению синтеза ЭТ-1, что усугубляет повреждение эндотелия [1].

В норме уровень ГЦ в плазме крови, определяемый методом ИФА, колеблется от 4 до 12,3 мкмоль/л [65]. Повышенное содержание ГЦ рассматривается в настоящее время как независимый фактор риска развития ССЗ [1, 65]. Гипергомоцистеинемия отмечается также при инсульте [66], периферическом артериальном стенозе и диабете [65], воспалительных заболеваниях кишечника [67], обуславливая развитие ЭД при этих патологических состояниях.

8-гидрокси-2'-деоксигуанозин (8-OHdG) – модифицированный нуклеозид, являющийся продуктом окислительного повреждения ДНК, вызванного действием активных форм кислорода и других факторов. В настоящее время он рассматривается в качестве чувствительного и специфического клинико-лабораторного маркера оксидативного стресса и раннего маркера ЭД [68]. В клинической практике данный нуклеозид выявляется в крови и моче методами ИФА и масс-спектрометрии [69]. Повышение этого маркера наблюдается при многих патологических состояниях, включая злокачественные заболевания, атеросклероз, ССЗ, диабет, гипертензию и рассматривается как их предиктор [68, 69].

Таким образом, определение в крови концентрации веществ, повреждающих эндотелиальные клетки, позволяет характеризовать развитие ЭД. Эти маркеры не отражают нарушения конкретных функций эндотелия, но могут быть использованы для стратификации риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений.

Заключение. Представленные в настоящем обзоре литературные данные свидетельствуют о том, что эффективная лабораторная диагностика ЭД, несмотря на значительные успехи, достигнутые в этой области, нуждается в дальнейшем совершенствовании. Очевидно, что не все показатели дисфункции эндотелия имеют одинаковую диагностическую ценность, поскольку значительная часть маркеров ЭД образуется не только в эндотелиоцитах, но и в других клетках. Кроме того, повышение уровня большинства биомаркеров не является специфичным для определенной нозологической формы. Это ограничивает возможность использования отдельных биомолекул в качестве самостоятельных диагностических и прогностических показателей. Оценка ЭД, по всей видимости, должна носить комплексный и системный характер, базироваться на одновременном определении маркеров, отражающих как структурное, так и функциональное состояние эндотелия. Именно такой подход позволит добиться максимальной сопоставимости результатов лабораторных исследований с реальными изменениями, происходящими в организме. Поэтому разработка и подбор оптимальных комбинаций

тестов, позволяющих адекватно качественно и количественно оценить ЭД, является актуальной задачей современной науки и практики. Следует подчеркнуть, что специфические маркеры могут служить более тонкими и чувствительными индикаторами возникновения начальных патологических изменений в организме и прогрессирования возникшего заболевания, чем традиционные лабораторные тесты. Своевременная диагностика дисфункции эндотелия будет способствовать оптимизации целенаправленной коррекции этого патологического состояния и совершенствованию контроля адекватности проводимого лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 5, 7–10, 14, 16–22, 23, 24, 26, 30–34, 36, 37, 39–44, 48–56, 59, 60, 62–66, 68, 69 см. REFERENCES)

1. Афонасьева Т.Н. Эндотелиальная дисфункция. Возможности ранней диагностики. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2016; 18(11):101–4.
2. Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложнений сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. *Endokrynologiya*. 2017; 22(2):171–81.
3. Иванов А.Н., Гречихин А.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2014; 13(4): 4–11.
4. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2017; 16(1): 4–15.
6. Казымлы А.В., Гончарова Н.С., Березина А.В., Наймушин А.В., Моисеева О.М. Исследование сыровоточного уровня асимметричного диметиларгинина у больных легочной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2014; 20(1):45–52.
11. Завьялова О.В., Спиваковский Ю.М., Черненко Ю.В., Лукина О.А. Васкулоэндотелиальный фактор роста и некоторые показатели эндотелиальной дисфункции у больных с хроническими воспалительными заболеваниями гастроуденальной зоны. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015; 116(4):44–7.
12. Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Соодаева С.К., Новиков В.В., Шумилова С.В., Касатова Е.С. и др. Значение растворимых молекул клеточной адгезии, метаболитов оксида азота, эндотелина-1 и их ассоциаций как маркеров прогрессирования воспаления при ХОБЛ. *Клиническая медицина*. 2017; 9(2):105–17.
13. Окрут И.Е., Конторщикова К.Н., Шакерова Д.А. Клинико-лабораторная оценка эндотелиальной дисфункции и активности свободнорадикального окисления при раке молочной железы. *Медицинский альманах*. 2012; 2(21): 68–70.
15. Сергеева О.Н., Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Рогожина И.Е., Глухова Т.Н. Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной развитием преэклампсии. *Вестник РАМН*. 2015; 7 (5): 599–603.
25. Соколов Е.И., Гришина Т.И., Штин С.Р. Влияние фактора Виллебранда и эндотелина-1 на формирование тромботического статуса при ишемической болезни сердца. *Кардиология*. 2013; (3):25–30.
27. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Каня О.В., Дремина Н.Н., Лушников Е.Л., Непомнящих Л.М. Значение повышения продукции эндотелина при инфаркте миокарда. *Фундаментальные исследования*. 2015; (1):1281–7.
28. Степанова Ю.И., Гончар И.А. Эндотелин-зависимые эффекты при цереброваскулярной патологии ишемического генеза. *Медицинские новости*. 2013; 10: 12–8.

29. Molchanova E.E. The possibilities of non-pharmacological correction of endothelial dysfunction in the acute period of ischemic stroke. *Амурский медицинский журнал*. 2016; (3–4): 91–2.
35. Каратеев А.Е., Алейникова Т.Л. Эйкозаноиды и воспаление. *Современная ревматология*. 2016; 10(4): 73–86.
38. Кулик Е.Г., Павленко В.И., Нарышкина С.В. Фактор Виллебранда и дисфункция сосудистого эндотелия у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Амурский медицинский журнал*. 2017; 1(17):41–3.
45. Герштейн Е.С., Кушлинский Д.Н., Терешкина И.В., Ермилова В.Д., Овчинникова Л.К., Галдава Д.Э., Кузнецова О.В. Фактор роста эндотелия сосудов и опухоли женской репродуктивной системы. Часть 1. Рак молочной железы. *Онкогинекология*. 2015; (1): 34–41.
46. Попков В.М., А.Н. Понукалин, Захарова Н.Б. Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2016; 12(2): 53–7.
47. Герштейн Е.С., Кушлинский Д.Н., Терешкина И.В., Ермилова В.Д., Овчинникова Л.К., Галдава Д.Э., Кузнецова О.В. Фактор роста эндотелия сосудов и опухоли. Женской репродуктивной системы. Часть 2. Рак яичников и эндометрия. *Онкогинекология*. 2015; (2): 4–11.
48. Ребров А.П., Патрикеева Д.А., Захарова Н.Б., Карпова О.Г., Оксенчук А.Н. Диагностическое значение определения факторов ангиогенеза и показателей цитокинового состава в сыворотке крови и моче у пациентов с системной склеродермией. *Терапевтический архив*. 2014; (5): 18–25.
49. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96(4): 659–665.
50. Гончар И.А., Прудывус И.С., Степанова Ю.И. Экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста у пациентов с острым ишемическим инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии*. 2013; 3(2): 25–9.
57. Белокопытова И.С., Москалец О.В., Палеев Ф.Н., Зотова О.В. Диагностическое значение растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 при ишемической болезни сердца. *Атеросклероз и дислипидемия*. 2013; 4: 62–5.
58. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И., Шарлаева Е.А., Фомичева М.Л., Соколова Г.Г., Казызаева А.С., Батанина И.А. Дисфункция эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях: факторы риска, методы диагностики и коррекции. *Acta Biologica Sibirica*. 2016; 2(1): 21–40.
61. Блинова Т.В., Рахманов Р.С., Страхова Л.А., Колесов С.А. К вопросу о прогностической значимости С-реактивного белка. *Медицинский альманах*. 2016; 2(42): 39–43.
67. Бабаева Г.Г., Бабаев З.М. Частота выявления некоторых маркеров эндотелиальной дисфункции у больных с воспалительными заболеваниями кишечника. *Терапевтический архив*. 2018; 4:12–6.

REFERENCES

1. Afonaseva T.M. Endothelial dysfunction. The availability of early diagnosis. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2016; 18(11):101–4. (in Russian)
2. Gozhenko A.I., Kuznetsova H.S., Kuznetsova K.S., Byts T.N., Susla A.B. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetes complications. Message I. Endothelial dysfunction: etiology, pathogenesis and diagnostic methods. *Endokrynologiya*. 2017; 22(2):171–81. (in Russian)
3. Ivanov A.N., Grechikhin A.A., Norkin I.A., Puchinyan D.M. Methods of endothelial dysfunction diagnosis. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocykulyatsiya*. 2014; 13(4):4–11. (in Russian)
4. Vasina L.V., Petrishchev N.N., Vlasov T.D. Markers of endothelial dysfunction. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocykulyatsiya*. 2017; 16(1): 4–15. (in Russian)
5. Storch A.S., de Mattos J.D., Alves R., Galdino I.S., Rocha H.N.M. Methods of endothelial function assessment: description and applications. *Int. J. Cardiovasc. Sci*. 2017; 30(3): 262–73.
6. Kazimli A.V., Goncharova N.S., Berezina A.V., Naymushin A.V., Moiseeva O.M. Assessment of asymmetric dimethylarginine in

- patients with pulmonary hypertension. *Arterial'naya gipertenziya*. 2014; 20(1):45–52. (in Russian)
7. Klinger J.R. Plasma nitrite/nitrate levels: a new biomarker for pulmonary arterial hypertension? *Pulmonary vascular diseases*. 2016; 48:1265–7.
8. Giles L.V., Tebbutt S.J., Carlsten C., Koehle M.S. The effect of low and high-intensity cycling in diesel exhaust on flow-mediated dilation, circulating NOx, endothelin-1 and blood pressure. *PLoS ONE*. 2018; 13(2): e0192419.
9. Neves J.A., Neves J.A., de Cassia Meneses Oliveira R. Biomarkers of endothelial function in cardiovascular diseases: hypertension. *J. Vasc. Bras*. 2016; 15(3): 224–33.
10. Bitla A.R., Kiranmayi V.S., Krishna G.S., Srinivasa Rao P.V.L., Reddy N., Sivakumar V. Nitric oxide status in patients with chronic kidney disease. *Indian J. Nephrol*. 2015; 25(5): 287–91.
11. Zav'yalova O.V., Spivakovskiy Yu.M., Tchernenkoy Yu.V., Lukina O.A. Vascular endothelial growth factor and some indicators of endothelial dysfunction of patients having chronic inflammatory diseases of the gastroduodenal zone. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya*. 2015; 116(4): 44–7. (in Russian)
12. Kubysheva N.I., Postnikova L.B., Soodaeva S.K., Novikov V.V., Shumilova S.V., Kasatova E.S. et al. The Significance of Soluble Molecules of Cellular Adhesion, Nitric Oxide Metabolites, and Endothelin-1 and their Associations as Markers of Progression of Inflammation in COPD. *Klinicheskaya meditsina*. 2017; 9(2): 105–17. (in Russian)
13. Okrut I.E., Kontorshikova K.N., Shakerova D.A. Clinical and laboratory assessment of endothelial dysfunction and the activity of free-radical oxidation in case of breast cancer. *Meditsinskiy Almanakh*. 2012; 2(21): 68–70. (in Russian)
14. Rokotyanskaya E.A., Malysheva A.I., Nazarov S.B., Smirnova E.V., Sytova L.A., Panova I.A. Markers of endothelial dysfunction as criteria for differential diagnosis of hypertensive disorders in pregnant women. *Clinical medicine*. 2016; 8(3): 75–9.
15. Sergeeva O.N., Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Rogozhina I.E., Glukhova T.N. Pathogenetic Relationship between Endothelial Dysfunction and Disorders of Blood Coagulation Potential in Pregnancy Complicated by Pre-Eclampsia. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2015; 70(5): 599–603. (in Russian)
16. d'El-Rei J., Cunha A.R., Trindade M., Neves M.F. Beneficial Effects of Dietary Nitrate on Endothelial Function and Blood Pressure Levels. *International Journal of Hypertension*. 2016; Article ID 6791519.
17. Tousoulis D., Georgakis M.K., Oikonomou E., Papageorgiou N., Zaromitidou M., Latsios G. et al. Asymmetric Dimethylarginine: Clinical Significance and Novel Therapeutic Approaches. *Curr. Med. Chem*; 2015; (22): 2871–901.
18. Zhang S., Zhang S., Wang H., Wu W., Ye Y. Arginine methylation dysfunction increased risk of acute coronary syndrome in coronary artery disease population. *Medicine*. 2017; 96: 7:e6074.
19. Eiselt J., Rajdl D., Racek J., Vostry M., Rulcová K., Wirth J. Asymmetric Dimethylarginine and Progression of Chronic Kidney Disease – a One-Year Follow-Up Study. *Kidney Blood Press Res*. 2014; 39: 50–7.
20. Ozdogan O., Cekic B. Is There a Correlation Between Plasma Levels of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) Levels and Atherosclerosis in Type 2 Diabetes Patients in Turkey? *The Medikal Bulletin Sisli Etfal Hospital*. 2017; 51(1): 63–70.
21. Willeit P., Freitag D.F., Laukkanen J.A., Chowdhury S., Gobin R., Mayr M. et al. Asymmetric Dimethylarginine and Cardiovascular Risk: Systematic Review and Meta-Analysis of 22 Prospective Studies. *J. Am. Heart Assoc*. 2015; (4): e001833.
22. Zhuravlyova L.A., Lopina N.V. Asymmetrical dimethylarginine level and its importance in diagnostic of coronary atherosclerosis. *Klinichni doslidzhennya*. 2016; (28): 45–50.
23. Zobel E.H., von Scholten B.J., Reinhard H., Persson F., Teerlink T., Hansen T.W. et al. Symmetric and asymmetric dimethylarginine as risk markers of cardiovascular disease, all-cause mortality and deterioration in kidney function in persons with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Cardiovasc. Diabetol*. 2017; (16): 88.
24. Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., Nishigaki Y., Sakthisekaran D., Sethi G. et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *Int. J. Biol. Sci*. 2013; 9(10):1057–69.
25. Sokolov E.I., Grishina T.I., Shtin S.R. Effect of von Willebrand Factor and Endothelin-1 on Formation of Thrombotic Status in Patients With Ischemic Heart Disease. *Kardiologiya*. 2013; (3): 25–30. (in Russian)
26. Davenport A.P., Hyndman K.A., Dhaun N., Southan C., Kohan D.E., Pollock J.S., Pollock D.M., Webb D.J., Maguire J.J. Endothelin. *Pharm. rev*. 2016; 68: 357–418.
27. Shurygin M.G., Shurygina I.A., Kanya O.V., Dremina N.N., Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M. et al. Significance of the increased production of endothelin in myocardial infarction. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015; (1):1281–7. (in Russian)
28. Stepanova Yu.I., Gonchar I.A. Endothelin-dependent effects in cerebrovascular pathology of ischemic genesis. *Meditsinskie Novosti*. 2013; (10):12–8. (in Russian)
29. Molchanova E.E. The possibilities of non-pharmacological correction of endothelial dysfunction in the acute period of ischemic stroke. *Amurskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; (3–4): 91–2.
30. Omanwar S., Gupta C., Dhyani N., Saidullah B. NO (Nitric Oxide) to Type 2 Diabetes Induced Endothelial Dysfunction: Crosstalk with ET-1 (Endothelin-1). *J. of Toxicol*. 2017; 2(1): e555578.
31. Sorrentino F.S., Matteini S., Bonifazzi C., Sebastiani A., Parmeggiani F. Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye*. 2018; 32:1157–1163. doi:10.1038/s41433-018-0032-4
32. Majed B.H., Khalil R.A. Molecular Mechanisms Regulating the Vascular Prostacyclin Pathways and Their Adaptation during Pregnancy and in the Newborn. *Pharmacol. Rev*. 2012; 64(3): 540–82.
33. Polverino F., Celli B.R., Owen C.A. COPD as an endothelial disorder: endothelial injury linking lesions in the lungs and other organs? *Pulmonary Circulation*. 2018; 8(1):1–18.
34. Wang N., Vendrov K.C., Simmons B.P., Schuck R.N., Stouffer G.A., Lee C.R. Urinary 11-dehydro-thromboxane B₂ levels are associated with vascular inflammation and prognosis in atherosclerotic cardiovascular disease. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*. 2018; 134: 24–31.
35. Karateev A.E., Aleinikova T.L. Eicosanoids and inflammation. *Sovremennaya revmatologiya*. 2016; 10(4): 73–86. (in Russian)
36. Duflo T., Pereira T., Roche C., Jacob M., Cardinal P., El-Gharbi Hamza N. A sensitive LC-MS/MS method for the quantification of regioisomers of epoxyeicosatrienoic and dihydroxyeicosatrienoic acids in human plasma during endothelial stimulation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2017; 409(7): 1845–55.
37. Wu M.D., Atkinson T.M., Lindner J.R. Platelets and von Willebrand factor in atherogenesis. *BLOOD*. 2017; 129 (11): 1415–19.
38. Kulik E.G., Pavlenko V.I., Naryshkina S.V. Von Willebrand factor and vascular endothelial dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Amurskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; (17): 41–3. (in Russian)
39. Mahmood I.A., Hamdan F.B., Al-Tameemi W.F. Role of endothelial dysfunction in relation to prothrombogenesis in polycythemia vera. *Iraqi J. Hematol*. 2018; 7: 8–13.
40. Budzyń M., Iskra M., Turkiewicz W., Krasinski Z., Gryszczyńska B., Kasprzak M.P. Plasma concentration of selected biochemical markers of endothelial dysfunction in women with various severity of chronic venous insufficiency (CVI) – A pilot study. *PLoS ONE*. 2018; 13(1): e0191902.
41. Page A.V., Liles W.C. Biomarkers of endothelial activation dysfunction in infectious diseases. *Virulence*. 2013; 4(6): 507–16.
42. Kudo I.K., Toyofuku T.T., Inoue Y. The Relationship between Endothelial Dysfunction and Endothelial Cell Markers in Peripheral Arterial Disease. *PLoS ONE*. 2016; 11(11): e0166840.
43. Lin J.J., Hsiao H.J., Chan O.W., Wang Y., Hsia S.H., Chiu C.H. Increased serum thrombomodulin level is associated with disease severity and mortality in pediatric sepsis. *PLoS ONE*. 2017; 12(8): e0182324.
44. Costache M.I., Mihai I., Iordache S., Ene D., Costache C.A., Săftoiu A. VEGF expression in pancreatic cancer and other malignancies: a review of the literature. *Rom. J. Intern. Med*. 2015; 53(3):199–208.
45. Gershteyn E.S., Koushlini D.N., Tereshkina I.V., Ermilova V.D.,

- Ovchinnikova L.K., Galdava D.E., Kouznetsova O.V. Vascular endothelial growth factor and the tumors of female reproductive system. Part I. Breast cancer. *Onkoginekologiya*. 2015;(1): 34–41. (in Russian)
46. Popkov V.M., Ponukalin A.N., Zakharova N.B. Vascular endothelial growth factor in diagnostics of metastases of a muscle-invasive bladder cancer. *Onkourologiya*. 2016;12(2): 53–7. (in Russian)
47. Gershtein E.S., Kushlinskiy D.N., Tereshkina I.V., Ermilova V.D., Ovchinnikova L.K., Galdava D.E., Kouznetsova O.V. Vascular endothelial growth factor and the tumors of female reproductive system. Part II. Ovarian cancer and endometrial cancer. *Onkoginekologiya*. 2015; (2): 4–11. (in Russian)
48. Rebrov A.P., Patrikeeva D.A., Zakharova N.B., Karpova O.G., Oksenchuk A.N. Diagnostic value of the determination of angiogenic factors and cytokine composition parameters in the serum and urine of patients with scleroderma systemica. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; (5): 18–25. (in Russian)
49. Mel'nikova Yu.S., Makarova T.P. Endotelial'naya disfunkciya kak central'noye zveno patogeneza khronicheskikh boleznej. *Kazanskiy medicinskiy zhurnal*. 2015; 96(4): 659–665. (in Russian)
50. Gontschar I.A., Prudyvus I.S., Stepanova Yu.I. Vascular endothelial growth factor expression in patients with acute ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2013; 3(2): 25–9. (in Russian)
51. Miyashita H., Watanabe T., Hayashi H., Suzuki Y., Nakamura T., Ito S. et al. Angiogenesis Inhibitor Vasohibin-1 Enhances Stress Resistance of Endothelial Cells via Induction of SOD2 and SIRT1. *PLoS ONE*. 2012; (7): e46459.
52. Takeda E., Suzuki Y., Sato Y. Age-associated downregulation of vasohibin-1 in vascular endothelial cells. *Aging Cell*. 2016; (15): 885–92.
53. Tor II C., Hida Y., Shindoh M., Akiyama K., Ohga N., Maishi N. et al. Vasohibin-1 as a Novel Prognostic Factor for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer research*. 2017;(37):1219–26.
54. Sano R., Kanomata N., Suzuki S., Shimoya K., Sato Y., Moriya T. et al. Vasohibin-1 Is a Poor Prognostic Factor of Ovarian Carcinoma. *Tohoku J. Exp. Med*. 2017; 243; (2):107–14.
55. Fukumitsu R., Minami M., Yoshida K., Nagata M., Yasui M., Higuchi S. et al. Expression of Vasohibin-1 in human carotid atherosclerotic plaque. *J. Atheroscler Thromb*. 2015;22(9): 942–8.
56. Hinamoto N., Maeshima Y., Saito D., Yamasaki H., Tanabe K., Nasu T. et al. Urinary and Plasma Levels of Vasohibin-1 Can Predict Renal Functional Deterioration in Patients with Renal Disorders. *PLoS ONE*. 2014; 9(6): e96932.
57. Belokopytova I.S., Moskaletz O.V., Paleev F.N., Zotova O.V. The diagnostic value of adhesive molecules sICAM-1 and sVCAM-1 in ischemic heart disease. *Ateroskleroz i dislipidemii*. 2013; 4: 62–5. (in Russian)
58. Vorobyeva E.N., Vorobyev R.I., Sharlaeva E.A., Fomicheva M.L., Sokolova G.G., Kazizaeva A.S., Batanina I.A. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: risk factors, methods of diagnostic, and correction. *Acta Biologica Sibirica*. 2016; 2 (1): 21–40. (in Russian)
59. Steyers C. M., Miller F. J., Jr. Endothelial Dysfunction in Chronic Inflammatory Diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2014; 15: 11324–49.
60. Schlesinger M., Bendas G. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) – an increasing insight into its role in tumorigenicity and metastasis. *Int. J. Cancer*. 2015; (136): 2504–14.
61. Blinova T.B., Rakhmanov R.S., Strakhova L.A., Kolesova S.A. To the question of prognostic value of C-reactive protein. *Meditsinskiy Almanakh*. 2016; 2(42): 39–43. (in Russian)
62. Strang F., Schunkert H. C-Reactive Protein and Coronary Heart Disease: All Said – Is Not It? *Mediators of Inflammation*. 2014; Article ID 757123.
63. Leuzzi G., Galeone C., Taverna F., Suatoni P., Morelli D., Pastorino U. C-reactive protein level predicts mortality in COPD: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. Rev*. 2017; 26: e160070.
64. Shrotiya S., Walsh D., Bennani-Baiti N. et al. C-reactive protein is an important biomarker for prognosis tumor recurrence and treatment response in adult solid tumors: a systematic review. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0143080.
65. Lai W.K.C., Kan M.Y. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction. *Ann. Nutr. Metab*. 2015; 67: 1–12.
66. Murmu M., Karun M.K.P., Dash S., Singh L.K., Kar A., Mishra P.K. Study of serum homocysteine level in cases of non-diabetic ischemic stroke. *Int. J. Res. Med. Sci*. 2018; 6(5): 1611–6.
67. Babayeva G.H., Babayev Z.M. Frequency of detection of some markers of endothelial dysfunction in patients with inflammatory bowel diseases. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2018; 4: 12–6. (in Russian)
68. Mahat R.K., Singh N., Gupta A., Rathore V. Oxidative DNA Damage and Carotid Intima Media Thickness as Predictors of Cardiovascular Disease in Prediabetic Subjects. *J. Cardiovasc. Dev. Dis*. 2018; 5(15).
69. Di Minno A., Turno L., Porro B., Squellerio I., Cavalca V., Tremoli E., Di Minno M. N.D. 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Levels and Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Literature. *Antioxidants & Redox signaling*. 2016; 24(10).

Поступила 26.07.18

Принята к печати 15.09.18

Мухамеджанова Н.И., Арипов О.А.

ВНЕШНЯЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ. ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ОШИБОК

Ташкентский институт усовершенствования врачей Минздрава Республики Узбекистан 100007, Ташкент,
Республика Узбекистан

Целью данного исследования явилась оценка качества лабораторных исследований, ее проблемные области и потенциальные возможности улучшения на примере ряда региональных клинико-диагностических лабораторий Ташкентской области и сопоставимости данных лабораторных анализов, полученных в разных лабораториях. Нами проведена оценка качества лабораторных исследований в 40 клинико-диагностических лабораториях Ташкентской области. Контроль осуществляли по 9 биохимическим параметрам крови. В работе, проведенной, с использованием контрольной сыворотки, результаты были плачевные: при определении общего белка и глюкозы ошибка составила 50%, при определении мочевины – правильные результаты получены только в 30% лабораторий; билирубин – недостоверные результаты выданы в 40% лабораторий, АЛТ – в 45%, и креатинин в 60%. Причем, результаты выдавали в разных единицах. Для оценки сходимости, воспроизводимости и правильности измерений лабораторных показателей в контрольном материале и пробах пациентов использовали коэффициент вариации (CV). Результаты показали, что величина его превышала рекомендуемый предельно допустимый коэффициент вариации при измерении уровней концентрации для более чем половины исследуемых компонентов

Ключевые слова: клиническая лабораторная диагностика; контроль качества; коэффициент вариации.

Для цитирования: Мухамеджанова Н.И., Арипов О.А. Внешняя оценка качества клинико-диагностических лабораторий. Возможные источники ошибок. Клиническая лабораторная диагностика. 2019 64 (1): 42-45.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-42-45>

Mukhamedjanova N.I., Aripov O.A.

EXTERNAL EVALUATION OF THE QUALITY OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORIES. POSSIBLE SOURCES OF ERRORS

Tashkent Institute of Postgraduate medical education, Tashkent, 100007, Uzbekistan;

The purpose of this study was to assess the quality of laboratory research, its problem areas and potential improvements using the example of a number of regional clinical diagnostic laboratories in the Tashkent region and the comparability of laboratory analysis data obtained in various laboratories. We have evaluated the quality of laboratory tests in 40 clinical diagnostic laboratories of the Tashkent region. The control was carried out on 9 biochemical parameters of blood. In our studies using the control serum, the results were deplorable: the error was 50% in determining the OB and glucose, and the correct results were obtained in only 30% of the laboratories; bilirubin - unreliable results were issued in 40% of laboratories, ALT - in 45%, and creatinin in 60%. Moreover, the results were issued in different units. The coefficient of variation (CV) was used to assess the convergence, reproducibility and accuracy of measurements of laboratory parameters in the control material and patient samples. The results of the study showed that its value exceeded the recommended maximum permissible coefficient of variation when measuring concentration levels for more than half of the studied components.

Key words: clinical laboratory diagnostics; quality control; coefficient of variation.

For citation: Mukhamedzhanova N.I., Aripov O.A. External quality assessment of clinical diagnostic laboratories. Possible sources of error *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 42-45 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/2084-0869-2019-64-1-42-45>

For correspondence: Mukhamedjanova N.I., Ph.D. (Medical), Senior Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics; e-mail: araukariy77@mail.ru

Conflict of interests. The author declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 15.11.2018
Accepted 01.12.2018

Введение. Наиболее массовыми и востребованными населением среди лечебно-диагностических мероприятий являются лабораторные исследования. Результаты лабораторных исследований имеют существенное значение для принятия врачебных диагностических, прогностических, лечебных мероприятий. В современной медицине лабораторные анализы составляют значительную часть общего объема объективных диагностических исследований. В Узбекистане еже-

годно (по данным 2015-2017 гг.) осуществляется более 352,8 млн единиц клинических лабораторных исследований. В их исполнении задействованы более 4 тыс. медицинских лабораторий, где работают 5,6 тыс. специалистов с высшим и 23,5 тыс. специалистов со средним образованием. К сожалению, как признано (в том числе и на уровне Минздрава), несмотря на такое значительное количество выполненных анализов, предоставление лабораторных услуг не соответствует современным требованиям и является тормозом для развития отечественной медицины из-за несовершенной организации этой работы, недостаточной ее эффективности и низкого качества результатов исследований.

Для корреспонденции: Мухамеджанова Нодира Исмаилджановна, канд. мед. наук, ст. преподаватель каф. клин. лаб. диагностики; e-mail: araukariy77@mail.ru

КЛД одна из самых интенсивно развивающихся областей медицины. Значительно возросли методические возможности лабораторий. Соответственно возросли требования к качеству лабораторной диагностики. В мировой практике появилось понятие и широко внедряется система менеджмента качества и управления качеством в клиничко-диагностической лаборатории. Однако, недостаточный уровень технологического обеспечения и профессиональной подготовки кадров обуславливают трудности внедрения международной системы менеджмента качества лечебно-диагностических услуг [2,3,5]. В этой связи, характеристика текущего состояния и динамики развития диагностической службы в Республике Узбекистан, обоснование мероприятий по ее совершенствованию, внедрения системы управления качества, несомненно, является актуальной задачей.

Целью данного исследования явилась оценка качества лабораторных исследований, ее проблемные области и потенциальные возможности улучшения на примере ряда региональных клиничко-диагностических лабораторий Ташкентской области и сопоставимости данных лабораторного анализа, полученных в различных лабораториях.

Материал и методы. В Ташкентской области работает около 280 клиничко-диагностических лабораторий. Материально-техническое оснащение службы включает (по данным 2016 г.): микроскопы бинокулярные 205 штук, гематологические анализаторы - 23, полуавтоматические биохимические анализаторы - 77, автоматические анализаторы биохимические - 13, анализаторы кислотно-щелочного равновесия - 2, анализаторы агрегации тромбоцитов - 4, анализаторы бактериологические для идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным препаратам - 1, полуавтоматические анализаторы для иммуноферментного анализа - 18, аппаратура для полимеразной цепной реакции - 1, полуавтоматические анализаторы для анализа мочи - 15. Эти цифры являются динамичными, приводятся для примерной ориентировки в оснащенности клиничко-диагностических лабораторий Ташкентской области.

Нами проведена оценка качества лабораторных исследований в 40 клиничко-диагностических лабораториях Ташкентской области. Контроль осуществлялся по 9 биохимическим параметрам крови. В процессе работы осуществлялся постоянный мониторинг проведения лабораторных исследований. В данной работе не делался акцент на специфике методов, которые применялись во всех лабораториях, так как, несмотря на применение различных методов, результаты, полученные в разных лабораториях, должны быть сопоставимы между собой для их адекватной интерпретации клиницистами. В качестве контрольного материала использовался биоматериал фирмы «Human Diagnostica» (Германия).

Результаты и обсуждение. Кадровые и материальные ресурсы клинической лабораторной службы Ташкентской области позволяют ежегодно выполнять 20-35 млн лабораторных исследований. В амбулаторно-поликлиническом звене здравоохранения на 100 посещений выполняется около 116 лабораторных анализов, на 1 стационарного больного - около 24 анализов, из которых более половины выполняется при поступлении в стационар 60,7%, 17,3% - в период пребывания в стационаре для коррекции лечения, 22% - при выписке. Кратность предоставления общего анализа крови варьировала от 1 до 3 раз (в среднем $1,5 \pm 0,07$; с диагностической целью - 1,0, для контроля результатов лечения - 2), общего анализа мочи от 1 до 4 раз.

Доля наиболее информативных, но относительно дорогостоящих и трудоемких видов исследования (биохимических, микробиологических и иммуноферментных) очень незначительна и составляет от 4 до 10%. В странах с развитой лабораторной службой она составляет 50-60%. Особенно

страдает лабораторная диагностика гормональных нарушений, наследственных заболеваний, сдвигов обмена веществ, иммунодефицитных состояний. Такое положение свидетельствует о серьезном отставании лабораторной службы от современного уровня развития и о настоятельной необходимости модернизации парка диагностического оборудования, повышении качества исследований, полноценного лабораторного обследования больных, и недостаточной квалификации специалистов.

Каждый год наблюдается прирост исследований на 10-12 %.

Имеется определенная степень ненадежности в каждом лабораторном измерении, как при ручных исследованиях, так, в какой-то мере, и при автоматизированных. При проведении оценки качества лабораторных исследований в ряде лабораторий Ташкентской области выявлено отсутствие четко сформулированных критериев проведения контроля качества. В наших исследованиях с использованием контрольной сыворотки результаты были такие: при определении ОБ и глюкозы ошибочные результаты получены в 17% лабораторий, при определении мочевины - правильные результаты получены только в 69% лабораторий; билирубин - недостоверные результаты выданы в 30% лабораторий, АЛТ - в 35%, и креатинин в 40%. Причем, результаты выдавались в разных единицах.

Для оценки сходимости, воспроизводимости и правильности измерений лабораторных показателей в контрольном материале и пробах пациентов использовали коэффициент вариации. [4,5]. Коэффициент вариации (CV) представляет собой соотношение среднеквадратического отклонения и среднего арифметического значения, выраженное в процентах. Вычисляли его по формуле:

$$CV = \frac{S}{X_{cp}} \cdot 100\%.$$

Наилучшие показатели межлабораторной воспроизводимости отмечались в лабораториях, использующих полуавтоматические анализаторы фирмы «Hospitax Diagnostica» (Италия). Лаборатории, работающие на биохимических анализаторах и реагентах данной фирмы, показали сопоставимые результаты исследований при измерении уровней концентрации всех анализов, кроме аланинаминотрансферазы (АЛТ, межлабораторный CV %: 21,4 % для низкого уровня активности и 19,9 % - для высокого). Однако, оценка суммарного межлабораторного коэффициента вариации, характеризующего межлабораторную воспроизводимость, показала, что его величина превышала рекомендуемый предельно допустимый коэффициент вариации при измерении уровней концентрации для более чем половины исследуемых компонентов (табл. 1).

Имеющийся разброс свидетельствует о необходимости проведения рекалибровки в лабораториях, где результаты измерений сильно отличаются от других лабораторий.

При стартовом анализе результатов оценки и обеспечения клиничко-биохимическими исследованиями выявлены проблемные области в части планирования процесса, управления процессом, прогнозирование развития процесса, ошибки входных и выходных данных, отсутствие единых требований к оформлению внутренней медицинской и регистрационной документации, несоответствие форм документации и порядка их заполнения нормативным требованиям. При анализе медицинских карт стационарных больных за 2017 г. выявлены следующие несоответствия: в 15,7 % медицинских карт стационарных больных отсутствовали назначения лечащих врачей на проведение лабораторных исследований; 2,2 % медицинских карт стационарных больных содержали результаты исследований других пациентов.

Таблица 1

Показатели межлабораторного коэффициента вариации CV, %

Показатель	CV% для низкого уровня	CV% для высокого уровня	Рекомендованный показатель CV%
Альбумин, г/л	9,3	5,9	4,0
ЩФ, Е/л	15,6	16,1	10,0
Са общий, ммоль/л	6,4	10,2	3,0
Глюкоза, ммоль/л	7,1	6,9	5,0
Na, ммоль/л	2,5	3,5	2,0

В 50% от общего количества проанализированных бланков результатов лабораторных исследований выявлены следующие несоответствия:

- ошибки в написании паспортных данных пациента - 29%;
- неправильное внесение результатов лабораторных исследований - 5%.
- не полностью внесены результаты лабораторных исследований - 4%.

Полученные данные позволили сделать вывод о недостаточной эффективности существовавшей ранее системы обеспечения диагностического процесса результатами лабораторных исследований. Необходимо определить проблемные области и направления совершенствования.

При анализе всех поступающих в лабораторию заявок нами изучены ошибки, допущенные при проведении лабораторных исследований, определена их структура. Количество заявок, не принятых к исследованию, колеблется от 7,5% в 2016 г. до 9,9% в 2017 г.

Все ошибки, допущенные при регистрации заявки, были связаны с невнимательностью сотрудников лаборатории при написании времени взятия материала и составили в 2017 г. 2,5% от всех зарегистрированных заявок.

При анализе ошибок, допущенных в лаборатории при выдаче бланков результатов, выявлено, что в 2,5% случаев от общего количества бланков анализов результаты исследований выданы отделением, но не проверены ответственным сотрудником, а в 7,7% — все результаты проверены, но не выданы в профильные отделения.

Выводы. Возможные источники ошибок: прием лекарственных препаратов накануне забора материала для исследования. Результаты лабораторных исследований нередко изменяют не сами лекарственные вещества, а их промежуточные или конечные продукты. В результате обнаружены отклонения таких показателей как билирубин, щелочная фосфатаза, аланинаминотрансфераза.

Рекомендовано:

1. Собирать материал для исследования до начала приема лекарственных препаратов, а также до проведения диагностических и лечебных процедур.

2. При взятии крови частой причиной искажения лабораторных анализов является гемолиз крови. В гемолизированных сыворотках завышаются результаты определения билирубина, активности ферментов (щелочной фосфатазы).

Важным фактором, который тормозит развитие лабораторной помощи, составляет отсутствие системного подхода на национальном уровне к формированию системы по обеспечению качества [2,7]. В частности, практически отсутствует нормативная документация и система администрирования процесса стандартизации лабораторных услуг. Среди основных факторов такого положения: недостаточная материально-техническая база, устаревшие методики выполнения лабораторных исследований, недостаточно

квалифицированный персонал, устаревшее представление по метрологическому обеспечению, несовершенная организация работы. Следует заметить, что именно организация работы, как считают специалисты по менеджменту качества, на 85% обуславливает качество лабораторных исследований [7].

Достижению необходимого качества и полноты диагностических исследований способствуют комментарии врача клинической лабораторной диагностики на бланке результатов исследований. Эта рекомендация согласуется с мнениями врачей-клиницистов, более 75% которых в своих ответах отметили эту необходимость, т.к. особенность клинической лабораторной диагностики состоит в том, что она является составной частью всех разделов медицины. Однако, именно из-за очень большого объема знаний она выделяется в отдельную специальность. Врач узкой клинической специальности не в состоянии в полной мере освоить те знания в области клинической лабораторной диагностики, которые необходимо применять в лечебно-диагностическом процессе. Ему необходим консультант — врач клинической лабораторной диагностики, который должен помочь лечащему врачу, как на этапе назначения лабораторных исследований, так и при интерпретации полученных из лаборатории результатов.

Из вышеизложенного следует, что для эффективной реализации потенциала современной клинической лабораторной диагностики необходимо адекватное кадровое обеспечение. В современной КДЛ необходимы специалисты двух специальностей:

1. Врач клинической лабораторной диагностики. За рубежом такой специалист часто называется клиническим патологом.

2. Специалист-аналитик клинической лабораторной диагностики.

Врач клинической лабораторной диагностики должен иметь медицинское образование и обладать знаниями в области клинической лабораторной диагностики. Вне всякого сомнения, врач КЛД должен иметь представление о тех аналитических методах, с применением которых получают результаты лабораторных исследований. Врач КЛД не выполняет лабораторные исследования за исключением микроскопических исследований биологического материала. Анализ мазка крови, цитологических и гистологических препаратов должен выполнять врач, поскольку это фактически не аналитическое исследование с четко регламентированным процессом, а обследование пациента на клеточном уровне.

Для достижения успеха ведущую роль в разработке политики качества должно играть высшее руководство лабораторией (заведующий лабораторией и его заместитель, если для этого назначают других сотрудников, в этом случае руководитель должен сообщить всему персоналу КДЛ, что этим работникам он лично делегировал часть своих полномочий, и они действуют от его имени), что соответствует одному из базовых принципов организации системы менеджмента качества — лидерству руководства [1, 2, 6].

Основным «инструментом» организации работы по обеспечению качества является стандартизация — деятельность, заключающаяся в установлении положений для всеобщего и многократного применения в отношении имеющихся или возможных задач. Основой этой деятельности является принятие соответствующих нормативных документов. Для стандартизации нормативный документ — это документ, устанавливающий правила, общие принципы или характеристики различных видов деятельности или их результатов. Этот термин охватывает такие понятия как «стандарт», «кодекс установившейся практики» и «технические условия».

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п. 7 см. REFERENCES)

1. Меньшиков В.В. Стандартизация в лабораторной медицине: цели и пути решения: *Проблемы стандартизации в здравоохранении. Управление качеством*. 2008; 1: 162–3.
2. Меньшиков В.В. Точность, неопределенность и прослеживаемость в клинических лабораторных исследованиях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; 9: 33–4.
3. Меньшиков В.В. Управление качеством исследований и стандартизация в лабораторной медицине России: гармонизация с международными стандартами. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2005; 9: 7–8.
4. Меньшиков В.В., Кадашева О.Г. Качество лабораторных исследований и современные подходы к его оценке. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; 6: 25–32.
5. Санжиева Д.Ч., Батоева Г.Ц., Салдамаева Е.Я. Контроль качества в клинической лабораторной диагностике. *Acta Biomedica Scientifica* 2009; 2: 71–2.
6. Шатохина С.Н. Состояние лабораторной службы Московской области к предстоящей модернизации в здравоохранении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 9: 4.

REFERENCES

1. Menshikov V.V. Standardization in laboratory medicine: purposes and solutions: scientific publication. *Problemy standartizatsii v zdra-voohranenii Upravleniye kachestvom*. 2008; 1: 162–3. (in Russian)
2. Menshikov V.V. Accuracy, uncertainty and traceability in clinical laboratory trials. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2009; 9: 33–4. (in Russian)
3. Menshikov V.V. Quality management of researches and standardization in laboratory medicine of Russia: harmonization with the international standards *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2005; 9: 7–8. (in Russian)
4. Menshikov V.V., Kadasheva O.G. Quality of laboratory researches and modern approaches to its assessment. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2009; 6: 25–32. (in Russian)
5. Sanjiyeva D.Ch., Batoyeva G.Ts., Saldamaeva E.Ya. Quality control in clinical laboratory diagnostics. *Acta Biomedica Scientifica* 2009; 2: 71–2. (in Russian)
6. Shatokhina S.N. A condition of laboratory service of the Moscow region to the forthcoming modernization in health care. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2011; 9: 4. (in Russian)
7. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. [Electronic resource]. – Access mode http://www.iso.org/iso/iso_technical_committee. February, 2012: 12–14.

Поступила 15.11.18
Принята к печати 01.12.18

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 57.083.1:616.98:618.17-055.2

Омарова С.М., Ахмедова Р.С., Багандова Д.Ш., Акаева Ф.С., Муслимов М.О., Исаева Р.И.

МОНИТОРИНГ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ХЛАМИДИОЗЕ У ЛИЦ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 367015, Махачкала, Россия

Определение и анализ микробиологических и иммунологических нарушений при урогенитальном хламидиозе смешанной этиологии играет важную роль для понимания патогенеза хронического течения заболевания с тяжёлыми формами осложнений (бесплодие, невынашивания беременности). Наряду с микробиологическими исследованиями (выделение и изучение свойств микробиоты при микст-инфекциях) определена роль антигенов всех участников инфекционного процесса (бактерий, вирусов, грибов) в возникновении адекватных иммунных реакций (уровень интерферона, γ -интерферона), как показателей состояния иммунного ответа.

Ключевые слова: урогенитальный хламидиоз; микст-инфекция; микробиологические и иммунологические нарушения; иммунитет.

Для цитирования: Омарова С.М., Ахмедова Р.С., Багандова Д.Ш., Акаева Ф.С., Муслимов М.О., Исаева Р.И. Мониторинг микробиологических и иммунологических нарушений при урогенитальном хламидиозе у лиц репродуктивного возраста. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 46-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-46-48>

Omarova S.M., Akhmedova R.S., Bagandova D.S., Akayeva F.S., Muslimov M.O., Isayeva R.I.

MONITORING OF MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN UROGENITAL CHLAMYDIA IN INDIVIDUALS OF REPRODUCTIVE AGE

Dagestan state medical University, Ministry of health of the Russian Federation, 367015, Makhachkala, Russia

The identification and analysis of microbiological and immunological disorders in urogenital chlamydiosis of mixed etiology plays an important role in understanding the pathogenesis of the development of the chronic course of the disease with severe complications (infertility, miscarriage). Along with classical microbiological studies (isolating and studying the properties of the microbiota in mixed infections), the role of antigens of all participants of the infectious process (bacteria, viruses, fungi) in the occurrence of adequate immunological reactions (the level of interferon, γ -interferon) as indicators of the immune response.

Key words: urogenital chlamydia; mixed infection; microbiological and immunological disorders; immunity.

For citation: Omarova S.M., Akhmedova R.S., Bagandova D.Sh., Akayeva F.S., Muslimov M.O., Isayeva R.I. Monitoring of microbiological and immunological disorders in urogenital chlamydiosis in people of reproductive age. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 46-48 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-46-48>

For correspondence: Omarova Salidat Magomedovna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology; e-mail: omarovanpo@mail.ru.

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 02.11.2018
Accepted 14.11.2018

Введение. Данные последних лет свидетельствуют о клинической значимости урогенитальных хламидийных инфекций, относящихся к инфекциям малого таза, передаваемым половым путём [1-3, 6, 11-13]. Хроническое течение таких инфекций оказывают негативное влияние на репродуктивное здоровье, часто являясь причиной тяжёлых осложнений - бесплодия, невынашивания беременности и т. д. Уровень невынашивания беременности у женщин с урогенитальным хламидиозом (УГХ) в популяции репродуктивно активного населения составляет около 25%. При этом урогенитальная инфекция является основной причиной подобных осложнений.

Для корреспонденции: Омарова Салидат Магомедовна, д-р биол. наук, доц., зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии; e-mail: omarovanpo@mail.ru

Уровень заболеваемости УГХ в мире ежегодно составляет более 90 млн. человек [1, 3, 6, 12]. В настоящее время в диагностике инфекционных процессов, особенно хронического течения, применяется комплекс методов исследования, с целью всестороннего изучения патогенеза заболеваний, что особо важно, когда речь заходит о репродуктивном здоровье [2-7]. Наряду с микробиологическими методами широко изучается роль антигенов всех участников инфекционного процесса (бактерий, вирусов, грибов) в возникновении иммунных реакций. В таких иммунопатологических реакциях при персистирующих инфекциях, которые поддерживают постоянный воспалительный процесс, в частности при УГХ, происходят и иммунные изменения в виде вторичного гуморального иммунного ответа с повышенным синтезом специфических антител классов

IgM и IgG к *C. trachomatis*, бактериальным и вирусным патогенам при микст-инфекции. Воздействие на организм возбудителя ведёт к выработке провоспалительных цитокинов и как результат происходят изменения слизистой оболочки шейки матки (действие простагландинов ведёт к её размягчению). Повышение уровня иммунной ответной реакции в виде гиперстимуляции антигенов возбудителей УГХ приводит к хронизации воспалительного процесса уrogenитального тракта и соответственно к рубцеванию тканей, что может играть важную роль в развитии бесплодия и прерывания беременности у женщин репродуктивного возраста [5, 7-9, 12].

Как правило, хламидийная инфекция носит смешанный характер, представляя ассоциацию хламидий с бактериями, вирусами, грибами, что усложняет патогенез воспалительного процесса. В связи с этим возникает необходимость комплексного изучения уrogenитального хламидиоза, как с точки зрения общего инфекционного процесса, так и для выяснения факторов способствующих хроническому течению воспалительных процессов с развитием тяжёлых осложнений [1, 3, 5, 6, 8].

Цель исследования – определение микробного пейзажа и антибиотикочувствительности штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), выделенных у лиц репродуктивного возраста при смешанной хламидийной инфекции, и выявление нарушений иммунологических показателей.

Материал и методы. В исследование включены 52 женщины и 75 мужчин репродуктивного возраста с диагнозом уrogenитальный хламидиоз, обратившихся по поводу бесплодия. Диагноз УГХ смешанной этиологии подтверждён с учётом положительных результатов бактериологического метода – посев клинического материала осуществляли в соответствии с Приказом МЗ СССР № 535. Определение чувствительности выделенных условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) к антимикробным препаратам, определяли диско-диффузионным методом в соответствии с Методическими указаниями МУК 4.2.1890-04.

Выделение ДНК возбудителя производили с помощью сертифицированных коммерческих наборов «ДНК-сорб-А-М», «ДНК-сорб-В», «ДНК-сорб-С». Для ПЦР применяли коммерческие наборы ООО НПФ «Гентех» (Москва) и ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора с учётом инструкции фирмы-производителя. Для ПЦР исследований использован амплификатор «Терцик» (ЗАО НПФ ДНК-Технология, Москва).

Оценку изменений иммунных реакций - уровень γ -интерферона (тест-система γ -Интерферон-ИФА-БЕСТ); уровень интерлейкина-1 β ; интерлейкина 4 и 6 определяли с применением тест-систем «ProCon ИЛ-1 β », «ProCon ИЛ-4», «ProCon ИЛ-6», (Санкт-Петербург); показатели циркулирующих иммунных комплексов и лактоферина («Лактоферрин-стрип D-4106», ЗАО «Вектор-Бест») в сыворотке крови у больных с УГХ анализировали с помощью иммуноферментных и биохимических методов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием относительных величин показателей в процентах. Оценку точности и надёжности - с помощью расчёта 95% доверительного интервала. Оценку значимости различий для независимых величин - сопоставлением доверительных интервалов с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Образцы, полученные из соскобов эпителиальных клеток цервикального канала женщин с диагнозом неспецифический эндоцервицит и

соскобов из уретры у мужчин с диагнозом неспецифический уретрит, изучены на наличие специфических фрагментов ДНК - *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, HSV (1 и 2 типов), HPV (16 и 18 типов).

Частота обнаружения ДНК труднокультивируемых возбудителей среди женщин различна. В 44,2% случаях выявлялись хламидии, трихомонады – в 18%, папиллома вирус человека (16 и 18 типов) – в 16%, гонококки – в 8,8%, уреаплазмы и вирус простого герпеса (1 и 2 типов) обнаруживались в 8% и 5% соответственно. Наибольшую этиологическую роль в развитии эндоцервицита играли хламидии (44,2%).

У 58,4% обследованных мужчин выявлялись хламидии, гонококки – у 10%, трихомонады – в 11,6% случаев, уреаплазма – у 11%, микоплазмы – в 5% случаев. Как в образцах от женщин с эндоцервицитом (44,2%), так в материале от мужчин с уретритом (58,4%) достоверно чаще ($p < 0,05$) выявлялись хламидии.

У 52 женщин с установленным ПЦР методом диагнозом хламидиоз выделена сопутствующая бактериальная микрофлора. Чаще всего бактерии выявлялись в ассоциациях (39%), которые состояли из двух и/или более видов бактерий и грибов рода *Candida*. Бактериальная микрофлора не обнаружена у 21% пациентов. Среди положительных результатов *Klebsiella pneumoniae* выделялась в 19% случаев, *Staphylococcus aureus* – в 14%, *Escherichia coli* – в 8%.

От 75 мужчин с установленным хламидийным уретритом выделен 81 штамм сопутствующей микрофлоры, из них 18 (13,7%) штаммов *K. pneumoniae*, 12 (9,2%) штаммов *E. coli*, 42 (71%) штамма *S. aureus*. Другие уропатогены (9 штаммов) встречались значительно реже в 6,1% случаев.

У пациентов с установленным диагнозом эндоцервицит и уретрит хламидийной этиологии более чем в 89% случаев в клиническом материале отмечалась сопутствующая микрофлора представленная двумя и более микроорганизмами различных таксономических групп. Встречалась микст-инфекция хламидийно-бактериально-грибковой (36,7%), хламидийно-вирусной (29,5%), хламидийно-бактериально-вирусной (21,2%) этиологии. В монокультуре *C. trachomatis* выявлена в 1,8% случаев. У пациентов с высокой микробной нагрузкой отмечался и высокий уровень воспалительных реакций, которые закономерно вели к осложнениям в виде бесплодия и невынашивания беременности.

Выделенные бактериальные патогены, участвующие в патогенезе смешанной хламидийной инфекции, протестированы на чувствительность к антимикробным препаратам, так как при хламидийно-бактериальной инфекции существует необходимость коррекции схем лечения УГХ. Изоляты стафилококков в 86,4% случаев чувствительны к цефалексину, цефазолину, цефотаксиму, цефоперазону, цефтазидиму, цефепиму, имипинему, амоксиклаву, ванкомицину, гентамицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, доксициклину, оксациклину, линкомицину; 72,9% - чувствительны к левомицетину, эритромицину; 28,1% - к пенициллину; 22,6 - к ампициллину. Штаммы стрептококков в 98-80% случаев чувствительны к офлоксацину, пefлоксацину, ванкомицину, имипинему; 65,3% - к амоксиклаву, тетрациклину, цефепиму, ампициллину, доксициклину; 37,1% - к цефалексину, ципрофлоксацину, цефазолину, линкомицину; 22,6% - к левомицетину, эритромицину, гентамицину. Представители семейства энтеробактерий (преимущественно штаммы *K. pneumoniae* и

E. coli) в 98% чувствительны к цефоперазону, имипинему, офлоксацину, ципрофлоксацину; в 70,7% – к цефотаксиму, цефепиму, амикацину, цефуроксиму, цефтриаксону, гентамицину; 42,0% – к доксациклину; устойчивы к ампициллину и карбенициллину.

УПМ выделенные из мазков и соскобов обследованной группы лиц репродуктивного возраста с микстинфекцией наиболее чувствительны к цефалоспорином III-IV поколения, фторхинолонам, имипинемам, ванкомицинам, устойчивы (энтеробактерии) к пенициллинам.

Важную роль при хламидийной инфекции играет иммунный статус организма, в частности молекулярно-клеточные механизмы защиты, к которым относятся цитокины. Особую роль в иммунитете против хламидийной инфекции, по мнению ряда авторов, отводят γ -интерферону (γ -ИНФ), что вероятно связано с частым выявлением хламидий с вирусами [9,10]. Анализируя уровень γ -ИНФ в сыворотке крови у пациентов с УГХ в 1,59 раза ниже, чем у здоровых – $21,8 \pm 3,9$ и $45,2 \pm 4,1$ пг/мл соответственно ($p < 0,05$).

Для понимания патогенеза хламидийной инфекции имеют значение показатели интерлейкинов (ИЛ) в сыворотке крови, их баланс с учётом провоспалительных и противовоспалительных свойств при УГХ [9,12]. Уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови у пациентов с УГХ в 2,9 раз выше, чем у здоровых лиц. Аналогичные изменения отмечаются и для ИЛ-6, содержание которого увеличилось до уровня 1,96-2,17 раза ($p < 0,001$) и для противовоспалительного ИЛ-4 показатель которого достоверно выше в $1,48 \pm 0,2$ в сравнении с данными иммунных показателей здоровых лиц.

Заключение. Анализ данных по уровню антибиотикорезистентности УПМ, выделенных у пациентов с хламидийной инфекцией, обратившихся по поводу бесплодия, позволяют сформулировать некоторые рекомендации, важные для обоснования этиотропной терапии цервицитов и уретритов смешанной хламидийно-бактериальной этиологии, в которых существенную роль играют штаммы *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus*. Согласно полученным результатам, антимикробными препаратами выбора терапии смешанных хламидийных цервицитов и уретритов могут быть цефалоспорины III-IV поколения, что необходимо учитывать при составлении адекватных схем лечения у пациентов с данной патологией.

Результаты изучения некоторых показателей иммунного статуса у обследованной группы пациентов свидетельствуют об активности иммунных реакций при хронической урогенитальной хламидийной инфекции, с наличием некоторого дисбаланса в продукции интерлейкинов с увеличением провоспалительных видов.

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории клинической микробиологии НПП «Питательные среды» за оказанную помощь при подготовке исследований.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айламазян Э.Х., Евсюкова И. И. Генитальный хламидиоз - проблема бесплодия. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2000; 2: 7-12.
2. Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Медицинская книга; 2003.

3. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Лапин Б.А. Хламидийная инфекция. Новые аспекты патогенеза, иммунологии, верификации и лечения инфекции у человека и приматов. М.: Изд-во «Первого МГМУ им. И.М. Сеченова»; 2012.
4. Кубанова А.А., Васильев М.М., Говорун В.М. и др. Современные подходы к диагностике и терапии латентной хламидийной инфекции урогенитального тракта. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2004; 3: 6-10.
5. Омарова С.М., Муслимов М.О., Акаева Ф.С. Изучение методов диагностики хламидийных уретритов смешанной этиологии. *Российский иммунологический журнал РАН*. 2015; 9 (8), 2 (1): 141-2.
6. Урогенитальный хламидиоз. Учебное пособие. Молочков А.В., ред. М.: МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского; 2014.
7. Федина Е.Д. Комплексная лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза и ассоциированных с ними инфекций при эндоцервицитах. Дисс. канд. биол. наук. Москва; 2002.
8. Хрянин А.А., Решетников О.В. Хламидийные инфекции: от науки к практике. Киев: ООО Тетрис-принт. 2012.
9. Хрянин А.А., Решетников О.В. Интерферон-гамма: новые горизонты терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2016; 3-4: 3-8.
10. Хрянин А.А., Решетников О.В. Иммунологические нарушения при урогенитальной инфекции и методы их коррекции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2017; 62: 3-4: 46-51.
11. Christiansen G., Bircelund S. Surface structure of Chlamydia. Proceedings fourth meetings of the European society for Chlamydia research. August 20-23. 2000; Helsinki.-Finland. Abstracts.
12. Domeika M., Karabanov L. et. al. Chlamydia trachomatis infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment. *Sex Transm. Infect.* 2002; 78 (2): 115-9.
13. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. MMWR. Recommend and Reports. 2015; 64:3: 78-82.

REFERENCES

1. Ajlamazyan E.H., Evsyukova I. I. Genital chlamydia is a problem of infertility.
2. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2000; 2: 7-12. (in Russian)
3. Dmitriev G.A. Laboratory diagnosis of bacterial urogenital infections. [Laboratornaya diagnostika bakterial'nyh urogenital'nyh infektsiy]. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2003. (in Russian)
4. Karaulov A.V. Afanasev S.S. Aleshkin V.A. Lapin B.A. Chlamydia infection. New aspects of the pathogenesis, immunology, verification and treatment of infection in humans and primates. [Hlamidiynaya infektsiya. Noveye aspekty patogeneza immunologii i verifikatsii i lecheniya infektsii u cheloveka i primatov]. Moscow: «Pervyi Moskovskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet im. I.M. Sechenova»; 2012. (in Russian)
5. Kubanova A.A. Vasilev M.M. Govorun V.M. et al. Modern approaches to the diagnosis and treatment of latent chlamydial infection of the urogenital tract. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2004; 3: 6-10. (in Russian)
6. Omarova S.M., Muslimov M.O., Akaeva F.S. The study of diagnostic methods for chlamydial urethritis of mixed etiology. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal RAN*. 2015; 9 (8), 2(1): 141-2. (in Russian)
7. Urogenital chlamydia. Tutorial. [Urogenitalnyi khlamidioz. Uchebnoe posobie]. Molochkov A.V., ed. Moscow: GBUZ MO Moskovskiy oblastnoy nauchno-klinicheskiy institut im. M.F. Vladimirovskogo; 2014. (in Russian)
8. Fedina E. D. Integrated laboratory diagnosis of urogenital chlamydia and their associated infections in the endocervicitis. Diss. Moscow; 2002. (in Russian)
9. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Chlamydial infections: from science to practice.
10. Kiev: Izdatelstvo OOO Tetris print; 2012.
11. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Interferon-gamma: new horizons of therapy.
12. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2016; 3-4: 3-8. (in Russian)
13. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Immunological disorders in urogenital infections and methods for their correction. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2017; 62 (3-4): 46-51. (in Russian)
14. Christiansen G., Bircelund S. Surface structure of Chlamydia. Proceedings fourth meetings of the European society for Chlamydia research. August 2000; Helsinki.-Finland. - Abstracts.
15. Domeika M., NaHnp A., Karabanov L. et. al. Chlamydia trachomatis infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment. *Sex Transm Infect.* 2002; 78 (2): 115-9.
16. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. MMWR. *Recommend and Reports*. 2015; 64:3: 78-82.

Поступила 02.11.18

Принята к печати 14.11.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гизатуллина Л.Г., Масыгутова Л.М., Бакиров А.Б.

ЭТИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ОБОСТРЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ У РАБОТНИКОВ РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЕЙ ЭКОНОМИКИ

ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

*Показано, что у больных с заболеваниями верхних дыхательных путей профессиональной этиологии преобладает грамотрицательная флора (в 38% случаев), далее следуют дрожжеподобные грибы (до 36% случаев), грамположительная флора составила 26%. Наиболее эффективными антибактериальными препаратами в отношении штаммов золотистого стафилококка у пациентов изученной группы являются цефотаксим, спарфлоксацин, левофлоксацин. В отношении штаммов бактерий кишечной группы - препараты цефотоксим, цефтриаксон, ципрофлоксацин. В отношении штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий - цефепим, цефтазидим. В отношении грибов рода *C. albicans* - амфотерицин и флуконазол.*

Ключевые слова: содержание условно-патогенных бактерий; заболевания верхних дыхательных путей; профессиональные болезни; чувствительность к антибактериальным препаратам.

Для цитирования: Гизатуллина Л.Г., Масыгутова Л.М., Бакиров А.Б. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность отдельных штаммов микроорганизмов при обострении хронической бронхолегочной патологии у работников различных отраслей экономики. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 49-52.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-49-52>

Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Bakirov A.B.

ETIOLOGICAL SIGNIFICANCE AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF CERTAIN MICROORGANISMS IN AGGRAVATION OF CHRONICAL BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY IN WORKERS OF DIVERSE ECONOMIC SECTORS

Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russia

*It has been shown that in patients with upper respiratory diseases of occupational etiology gram negative flora prevail (38% of cases). They are followed by yeast-like fungi (up to 36% of cases), gram positive flora – 26%. The most effective antibacterial agents for treating golden staphylococcus in patients of the group studied are cefotaxime, sparfloxacin, levofloxacin. Cefotaxime, ceftriaxone, ciprofloxacin are used against intestinal bacteria. Cefepim, ceftazidime are used against non-fermenting gram negative bacteria. *C. Albicans* can be treated with amphotericin and fluconazole.*

Key words: opportunistic bacteria; upper respiratory diseases; occupational diseases; sensitivity to antibacterial agents.

For citation: Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Bakirov A.B. Etiological significance and antibiotic sensitivity of certain microorganisms in aggravation of chronic bronchopulmonary pathology in workers of diverse economic sectors. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64(1): 49-52 (in Russ.).
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-49-52>

For correspondence: Gizatullina L. G., a biologist at the Department of laboratory study methods; e-mail: instityt.Ufa@mail.ru

Information about authors:

Gizatullina L.G. <https://orcid.org/0000-0001-6593-2704>

Masyagutova L.M. <https://orcid.org/0000-0003-0195-8862>

Bakirov A.B. <https://orcid.org/0000-0001-7900-233X>

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 16.11.2018
Accepted 13.12.2018

Введение. Болезни органов дыхания занимают одно из ведущих мест в структуре профессиональных заболеваний [1]. В возникновении и прогрессировании патологии немаловажное значение придается неблагоприятным производственным факторам, способствующим снижению у работников естественной резистентности, размножению условно-патогенных микроорганизмов и проявлению их патогенных

свойств. Указанные факторы могут иметь важное значение в развитии болезней органов дыхания у работников различных производств [2, 3].

Необходимость изучения вопросов чувствительности к применяемым антибактериальным препаратам обусловлена широким распространением госпитальных штаммов, большим арсеналом адаптационных механизмов у условно-патогенных микроорганизмов, расширением спектра применяемых антибактериальных препаратов [4].

Особую озабоченность вызывает формирование штаммов сапрофитных микроорганизмов, обладающих множе-

Для корреспонденции: Гизатуллина Лилия Галиевна, биолог отделения лаб. методов исследований; e-mail: instityt.Ufa@mail.ru

ственной лекарственной устойчивостью. Так, рядом авторов установлена 100% резистентность золотистого стафилококка, выделенного из воздуха рабочей зоны животноводческих помещений, к препаратам клиндамицин, окситетрациклин, тетрациклин [5, 6].

Цель исследования – изучение видового разнообразия микроорганизмов, выделенных у пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей профессиональной этиологии, а также их чувствительность к антимикробным препаратам.

Материал и методы. Микробиологические исследования проведены 2027 пациентам с заболеваниями верхних дыхательных путей, которые находились на стационарном лечении в клинике института, в том числе больные с хроническим бронхитом (50,3%); с бронхиальной астмой – (25,8%); с ХОБЛ – (16,5%); с внебольничными пневмониями – (5,9%); с аллергическими ринитами (1,5%). Средний возраст больных составил $55,7 \pm 1,9$ лет.

Материалом для бактериологического исследования являлась свободно отделяемая мокрота. Все образцы проб, которые удовлетворяли критериям Murrey- Wasington (<10 эпителиальных клеток и <25 лейкоцитов х 100), исследованы на бактериальную флору. Первичный посев биологического материала, культивирование, идентификация, учет результатов проведен в соответствии с нормативной документацией. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным и противогрибковым препаратам осуществлен стандартным методом исследования – методом диско-диффузным, где в качестве носителя АБП используется бумажный диск.

Оценка чувствительности к антибактериальным и противогрибковым препаратам выполнена 959 выделенным чистым культурам микроорганизмов, с проведением контроля качества на каждом этапе исследований. Объектом изучения антибиотикорезистентности явились изолированные штаммы патогенов.

Использованы диски к антимикробными препаратами производства «HIMEDIA» (Индия) – азитромицин, кларитромицин, амикацин, цiproфлоксацин, цефотоксим, норфлоксацин, амоксициллин, левофлоксацин, цефепим, спарфлоксацин, имипинем, меронем, азтреонам, цефтазидим амфотерецин, итраконазол, клотримазол, флюконазол и кетоконазол. Интерпретация результатов антибиотикочувствительности штаммов проведена согласно международным стандартам PSADST (Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test).

Результаты. В таблице представлено количество выделенных штаммов (2027 – общее число), наиболее значимых микроорганизмов в среднем по годам. Изучение частоты высеваемости условно-патогенных бактерий у больных с заболеваниями верхних дыхательных путей профессиональной этиологии показало, что преобладала грамотрицательная флора – 38%, дрожжеподобные грибы – 36%, грамположительная флора составила 26%. Из них *S. aureus* – 30,6%, *K. pneumoniae* – 36,1%, *Paeruginosa* – 8,6, *C. albicans* – 24,7%.

Представляло определенный интерес изучить чувствительность к антибактериальным препаратам выделенных штаммов микроорганизмов.

По нашим данным, 90% выделенных стафилококков были чувстви-

Количество выделенных штаммов (2027- общее число), наиболее значимых микроорганизмов в среднем по годам

Микроорганизмы	2015 г.	2016 г.	2017 г.
Грамположительные	112	82	100
Грамотрицательные	66	94	121
Неферментирующие	13	13	12
Дрожжеподобные грибы	148	84	171

тельны к цефотаксиму и спарфлоксацину; чувствительность к левофлоксацину, амикацину и цефепиму установлена у 60%, и наименьшую чувствительность стафилококк проявлял в отношении амоксициллина и цiproфлоксацин.

Дальнейший анализ продемонстрировал устойчивую динамику снижения чувствительности циркулирующих штаммов *S. aureus* к антибактериальным препаратам. Так, количество штаммов резистентных к одному и более антибактериальным препаратам составило 30% к одному и двум антибактериальным препаратам, до 20% штаммов к трем и четырем антибактериальным препаратам, к пяти устойчивы до 5% выделенных штаммов и к шести – 1,4% штаммов *Staph. aureus*.

Как видно из рис. 1, наиболее эффективными антибактериальными препаратами в отношении штаммов золотистого стафилококка у пациентов изученной группы являются цефотаксим, спарфлоксацин, левофлоксацин. В качестве препаратов выбора можно рекомендовать цефалоспорины (цефотаксим) и фторхинолоны (спарфлоксацин и левофлоксацин). Оказались не чувствительными к амоксициллину и цiproфлоксацину.

Среди бактерий кишечной группы чувствительность определялась у штаммов *Klebsiella pneumoniae* – 29,3%. Чувствительность к цефотаксиму проявили до 90% штаммов, цефепиму и цiproфлоксацину до 60 %. Наименьшая чувствительность выделенных штаммов отмечена к амикацину (10%), меронему, азтреонаму и имепинему (3%) .

Резистентность к одному препарату проявили до 25% штаммов, к трем препаратам до 20% штаммов, к пяти – до 2%, к семи – до 1% штаммов.

Наиболее эффективными антибактериальными препаратами в отношении штаммов бактерий кишечной группы у пациентов изученной группы являются препараты цефотоксим, цефтриаксон, цiproфлоксацин и цефепим. В качестве препаратов выбора можно рекомендовать цефалоспорины треть-

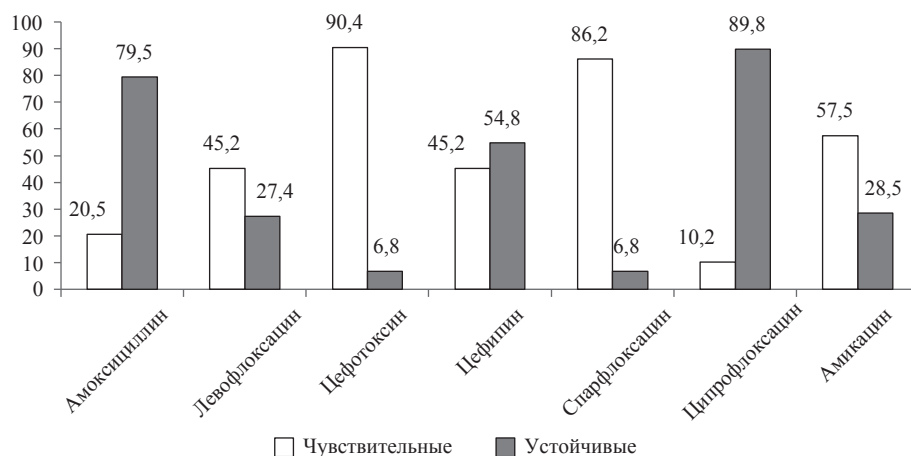


Рис. 1. Чувствительность *S. aureus* к различным антимикробным препаратам.

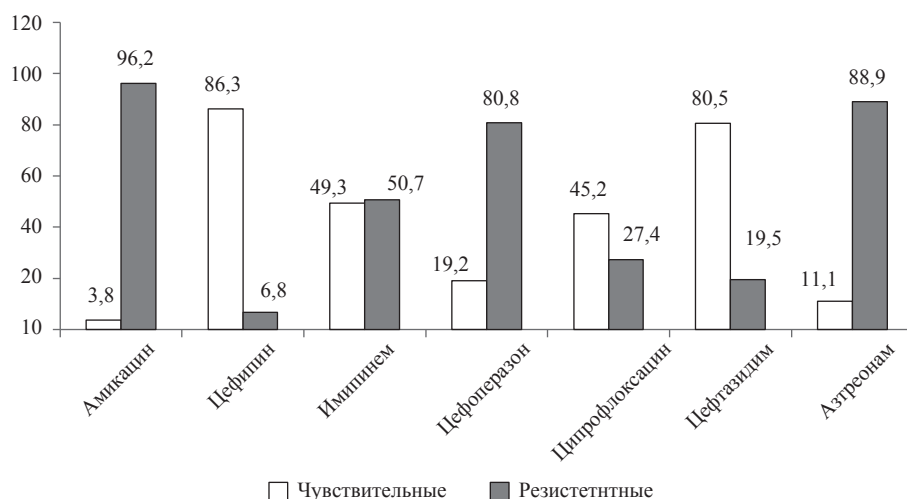


Рис. 2. Количество штаммов *P.aeruginosa*, чувствительных и резистентных к антибактериальным препаратам (АБП), %.

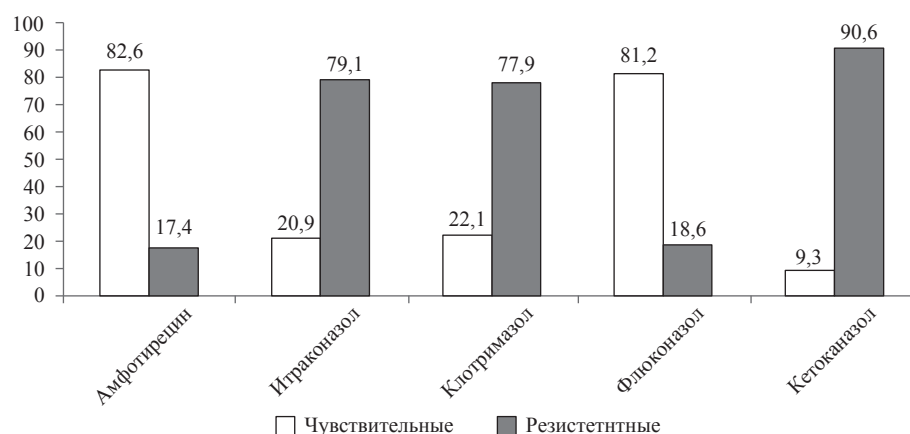


Рис. 3. Количество штаммов *C. albicans*, чувствительных и резистентных к антигрибковым препаратам, %.

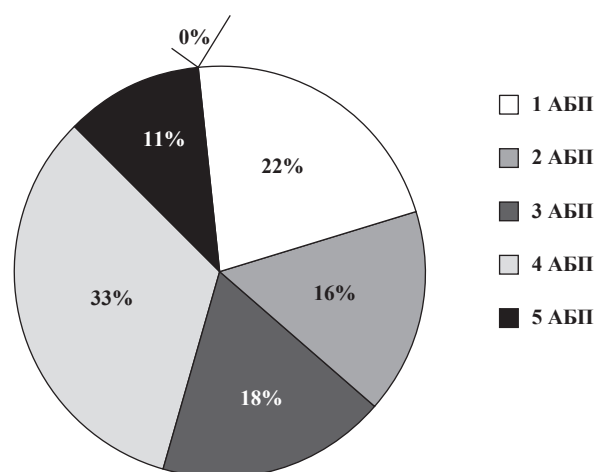


Рис. 4. Количество штаммов *C. albicans*, резистентных к антигрибковым препаратам, %.

го и четвертого поколения, резервные препараты хинолоны.

В группе неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* обнаружили в 4% случаев. Штаммы *P. aeruginosa* в 90% обладали чувствительностью к цефепиму и к цефтазидиму, в 50% – к имипенему и ципрофлоксацину. Наименьшую чувствительность штамм *P. aeruginosa* проявил к амикацину – менее 4% (рис. 2).

Резистентность к одному препарату выявилась у 40% штаммов, к двум препаратам у 20%, к трем и четырем препаратам у 15%, а к шести и семи антибактериальным препаратам у 1,5% штаммов *P. aeruginosa*.

Наибольшую активность проявляли антибактериальные препараты в отношении штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий – цефепим, цефтазидим (препараты выбора), имипенем и ципрофлоксацин (резервные препараты).

У этих же пациентов проведено исследование на предмет грибковой обсемененности. Среди грибов, колонизирующих слизистые оболочки верхних дыхательных путей у пациентов в большинстве случаев были идентифицированы условно-патогенные микроорганизмы рода *Candida*: 42% – *C. albicans*, 19% – *C. krusei*, 21% проб биоматериала грибы не выявлялись. 82,6% штаммов *C. albicans* продемонстрировали чувствительность к амфотерицину, в тоже время 73,2% колоний лизировались препаратом флюконазол.

Данные противогрибковые препараты показали себя как наиболее эффективные препараты в отношении грибов рода *C. albicans* (рис. 3).

Наименее чувствительными оказались клотримазол, (до 20%) и кетоконазол (менее 10%). Резистентность проявилась наибольшая к четырем препаратам – 18,6% к пяти препаратам резистентность у 3% штаммов *C. albicans* (рис. 4).

Препараты выбора можно рекомендовать амфотерицин и флюконазол, резервный препарат – итраконазол.

Заключение. Проведенное исследование продемонстрировало видовое разнообразие микроорганизмов, выделенных у пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей профессиональной этиологии.

Наиболее активными антибактериальными агентами в зависимости от преобладания возбудителя являются: цефотаксим и спарфлоксацин – для штаммов золотистого стафилококка; в отношении штаммов бактерий кишечной – цефотоксим, цефтриаксон; в отношении штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий – цефепим, цефтазидим; в отношении грибов рода *C.albicans* – амфотерицин и флюконазол.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4–6 см. REFERENCES)

1. Бакиров А.Б., Мингазова С.Р., Каримова Л.К., Серебряков П.В., Мухаммадиева Г. Ф. Клинико-гигиенические аспекты риска развития и прогрессирования пылевой бронхолегочной патологии у работников различных отраслей экономики под воздействием производственных факторов риска. *Анализ риска здоровью*. 2017; (3): 83–91.
2. Федотов В.Д., Мокеева Н.В., Макаров И.А., Добротина И.С. Особенности микро биоценоза мокроты у пациентов с хронической профессиональной легочной патологией в зависимости от сопутствующих заболеваний. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; (2): 17–9.
3. Хасанова Г.Ф., Мавзютов А.Р., Мирсаяпова И.А., Хасанова С.Г., Хазеева Г.Д., Магазов Р.Ш., Ворошилова Н.Н. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность неферментирующих грамотрицательных бактерий в клинической практике. *Медицинский Вестник Башкортостана*; 2012, (1): 63–5.

REFERENCES

1. Bakirov A.B., Mingazova S.R., Karimova L.K., Serebryakov P.V., Mukhammadiyeva G.F. Clinico-hygienic aspects of risks for the development and progressing dust bronchopulmonary pathology in workers of diverse economic sectors exposed to occupa-

- tional risk factors. *Analiz riska zdorov'yu*. 2017; (3): 83–91. (in Russian)
2. Fedotov V.D., Mokeeva N.V., Makarov I.A., Dobrotina I.S. Specific features of sputum microbiocenosis of patients with chronic occupational pulmonary pathology depending on concomitant diseases. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2016; (3): 17–9. (in Russian)
3. Khasanova G.F., Mavzyutov A.R., Mirsayapova I.A., Khasanova S.G., Khazeeva G.D., Magazov R.Sh., Voroshilova N.N. Etiologic significance and antibioticsensitivity of non-fermenting gram negative bacteria in clinical practice. *Meditinskiy vestnik Bashkortostana*. 2012; (1): 63 - 5. (in Russian)
4. Sikkeland L., Eduard W., Stangeland A.M., Thorgersen E.B., Haug T., Aukrust P., Halvorsen B., Mollnes T.E., Kongerud J. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *Inhal Toxicol*; 2009,(21): 674–81.
5. Patchanee P., Tadee P., Arjkumpa O. et al. Occurrence and characterization of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig industries of northern Thailand. *J.Vet.Sci*. 2014; 15: 529–36.
6. Ménoret A., Svedova J., Behl B., Vella A.T. Trace levels of staphylococcal enterotoxin bioactivity are concealed in a mucosal niche during pulmonary inflammation. *PLoS One*. 2015;10: E0141548.

Поступила 16.11.18

Принята к печати 13.12.18

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Квливидзе Т.З.¹, Заводовский Б.В.², Ахвердян Ю.Р.², Полякова Ю.В.², Сивордова Л.Е.², Яковлев А.Т.¹,
Зборовская И.А.²

СЫВОРОТОЧНЫЙ НЕСФАТИН-1 КАК МАРКЕР СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 400131, Волгоград, Россия;
²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского», 400138, Волгоград, Россия

Цель исследования – определение уровня несфатина-1 (НФ-1) в сыворотке крови здоровых людей и больных ревматоидным артритом (РА) для установления границ нормальных значений данного параметра и выявления взаимосвязи между уровнем НФ-1 и клиническими проявлениями РА. Под наблюдением находились 170 человек, из которых 110 пациентов с РА и 60 доноров, составивших группу сравнения. Средний уровень НФ-1 в сыворотке крови здоровых лиц составил $31,61 \pm 3,17$ нг/мл ($M \pm \sigma$). Уровень нормальных значений НФ-1 здоровых лиц, определяемый как $M \pm 2\sigma$, составил от 25,27 до 37,95 нг/мл. Данные исследования показали взаимосвязь между выраженностью клинических проявлений РА и концентрацией НФ-1. Мы выяснили, что более высокий уровень НФ-1 в сыворотке крови был характерен для пациентов с более тяжёлым клиническим течением заболевания. Полученные данные свидетельствуют о том, что высокий уровень НФ-1 положительно коррелирует с концентрациями С-реактивного белка и СОЭ, что косвенно говорит в пользу провоспалительного характера действия НФ-1 и подтверждает гипотезу о первичной роли системного воспаления в патогенезе РА.

Ключевые слова: несфатин; nesfatin/nucleobindin-2 (nucb2); адипокины; системное воспаление; ревматоидный артрит; артрит.

Для цитирования: Квливидзе Т.З., Заводовский Б.В., Ахвердян Ю.Р., Полякова Ю.В., Сивордова Л.Е., Яковлев А.Т., Зборовская И.А. Сывороточный несфатин-1 как маркер системного воспаления при ревматоидном артрите. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 53-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-53-56>

Kvliyidze T.Z.¹, Zavadovsky B.V.², Akhverdyan Yu.R.², Polyakova Yu.V.², Sivordova L.E.², Yakovlev A.T.¹, Zborovskaya I.A.²

SERUM NESFATIN-1 AS A MARKER OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN RHEUMATOID ARTHRITIS

¹The Volgograd State Medical University, 400131, Volgograd, Russian Federation;

²The research institute of clinical and experimental rheumatology Named after A.B. Zborovskiy, 400138 Volgograd, Russian Federation

The purpose of this study was to determine the level of nesfatin-1 (NF-1) in the blood serum of healthy volunteers and patients with rheumatoid arthritis (RA) to establish the threshold for normal values of this parameter and to reveal the relationship between the level of NF-1 and clinical manifestations of RA.

We examined 170 people, of which 110 patients with RA and 60 donors who made up the comparison group. The mean level of serum nesfatin-1 in healthy subjects was 31.61 ± 3.17 ng/ml ($M \pm \sigma$). The level of normal values of nesfatin-1 in healthy individuals, defined as $M \pm 2\sigma$, was from 25.27 to 37.95 ng/ml.

These studies showed the relationship between the concentration of NF-1 and the severity of clinical manifestations of RA. We found that a higher serum level of NF-1 was characteristic of patients with a more severe clinical course of the disease. The data obtained indicate that high level of NF-1 positively correlates with higher concentrations of C-reactive protein and ESR. This data indirectly proves the pro-inflammatory effect of NF-1 and confirms the hypothesis about the primary role of systemic inflammation in the pathogenesis of RA.

Key words: nesfatin; nesfatin / nucleobindin-2 (nucb2); adipokines; systemic inflammation; rheumatoid arthritis; arthritis.

For citation: Kvliyidze T.Z., Zavadovsky B.V., Akhverdyan Yu.R., Polyakova Yu.V., Sivordova L.E., Yakovlev A.T., Zborovskaya I.A. Serum nesfatin-1 as a marker of systemic inflammation in rheumatoid arthritis. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 53-56 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-53-56>

For correspondence: Kvliyidze T.Z., tzady.ka@yandex.ru

Information about authors:

T.Z. Kvliyidze <https://orcid.org/0000-0001-5280-5650>

B.V. Zavadovsky <http://orcid.org/0000-0002-8864-9570>

Yu.R. Akhverdyan <http://orcid.org/0000-0001-8010-6777>

Yu.V. Polyakova <http://orcid.org/0000-0002-3022-4166>

L.E. Sivordova <https://orcid.org/0000-0002-0965-6060>

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 19.04.2018
Accepted 21.11.2018

Для корреспонденции: Мухамеджанова Нодира Исмаилджановна, канд.мед.наук, ст. преподаватель каф. клин. лаб. диагностики;
e-mail: araukariy77@mail.ru

Введение. Среди ревматических заболеваний (РЗ) ревматоидный артрит (РА) относится к категории частых и наиболее важных в социальном и медицинском аспекте заболеваний [1,3,4]. Прогрессирующее течение РА быстро приводит к нарушению функции суставов и снижению трудоспособности.

В основе патогенеза ревматоидного артрита лежат генетически детерминированные аутоиммунные процессы, возникновению которых способствует дефицит Т-супрессорной функции лимфоцитов. Незвестный этиологический фактор вызывает развитие иммунной ответной реакции. Повреждение сустава начинается с воспаления синовиальной оболочки (синовита), приобретающего затем пролиферативный характер (паннус) с повреждением хряща и костей. Интенсивность и клинический тип воспалительного процесса определяются генами иммунного ответа [1].

Современная лабораторная диагностика РА включает определение широкого спектра биомаркеров: аутоантитела, белки острой фазы воспаления, цитокины, маркеры активации эндотелия, субпопуляции лимфоцитов, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани, генетические маркеры [1,3].

Несмотря на это проблема ранней диагностики РА не решена. В связи с этим возникает необходимость в изучении отдельных звеньев патогенеза РА и поиске новых потенциальных биомаркеров, которые позволят диагностировать развитие воспаления, характерного для этого заболевания.

Одним из перспективных направлений в лабораторной диагностики является изучение адипокинов (или адипоцитокинов — от (греч.) жир, клетка и движение), которые представляют собой гормоны жировой ткани и являются разновидностью цитокинов [2,3].

В последнее время было показано, что гормоны жировой ткани — адипокины, играют важную роль в патогенезе ревматических заболеваний [4].

На сегодняшний день известно более 50 адипокинов. Они гетерогенны по структуре и выполняемым функциям [3,4]. Имея паракринный, аутокринный и эндокринный механизмы действия, адипокины влияют на метаболизм липидов, гомеостаз глюкозы, процессы воспаления, свертывания крови, иммунитета, ангиогенеза, образования костной ткани, опухолевого роста и др. [5].

В последние годы появляются данные о новом адипокине — несфатине-1 [НФ-1]. НФ-1 человека представляет собой белок с $M_r=9,7$ КДа, содержащий 82 аминокислотных остатка. Он впервые был обнаружен S.Oh-I с соавт. [6] в 2006 г. Они показали, что НФ-1 синтезируется в жировой ткани, слизистой оболочке желудка, эндокринных бета-клетках поджелудочной железы и яичках, участвует в регуляции энергетического гомеостаза путем регуляции аппетита и потребления воды [6, 8]. Он также может проходить через гематоэнцефалический барьер в обоих направлениях и подавляет аппетит независимо от уровня лептина и увеличивает секрецию инсулина из бета-клеток поджелудочной железы. Именно поэтому НФ-1 привлекает внимание исследователей в качестве потенциально нового терапевтического средства для лечения ожирения и сахарного диабета. [6-8].

Имеются данные об участии НФ-1 в патогенезе хронического воспаления и РЗ. Так, Y. Zhang с соавт. в 2015 г. показали, что уровни НФ-1 в сыворотке крови и синовиальной жидкости коррелируют со скоростью прогрессирования остеоартроза (ОА). Это подтверждается исследованием Jiang et al., 2014, которые также выявили повышение уровня НФ-1 при этом заболевании [8, 9].

Показано, что НФ-1 может способствовать высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-8 (IL-8), IL-6, и макрофагального воспалительного протеина-1а (MIP-1a) в хондроцитах пациентов с ОА [9-11]. Таким обра-

зом, имеются данные о тесной взаимосвязи между секрецией НФ-1, активностью и тяжестью РЗ. В связи с вышеизложенным можно предположить, что уровень НФ-1 будет изменен и при других РЗ.

Есть основание считать, что НФ-1 в сыворотке крови может участвовать в патогенезе РА, оказывать катаболическое действие на суставной хрящ, способствовать поддержанию хронического воспалительного процесса, негативно влиять на сердечно-сосудистую систему, оказывать воздействие на минеральную плотность костной ткани (МПКТ).

Таким образом, изучение НФ-1 при РА, вероятно, может помочь в диагностике и уточнении прогноза этого заболевания.

Целью данной работы было изучение уровня НФ-1 в сыворотке крови здоровых лиц и больных РА, а также выявление возможной корреляции уровня НФ-1 с тяжестью клинической картины и маркерами системного воспаления при этом заболевании.

Материал и методы. С целью уточнения отдельных вопросов патогенеза РА мы определяли уровень НФ-1 в сыворотке крови пациентов с РА. Обследовали 170 пациентов: 110 пациентов с РА и 60 практически здоровых людей, составивших контрольную группу.

Все пациенты проходили предварительный скрининг на соответствие критериям включения:

1. Возраст от 18 до 90 лет.
2. Ревматоидный артрит в анамнезе, согласно критериям РА ACR / EULAR 2010 г.
3. Добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: тяжелая сопутствующая патология (сахарный диабет, злокачественные новообразования, терминальная стадия почечной недостаточности).

В исследование вошли пациенты, проходящие амбулаторное лечение в клинко-диагностическом отделении ФГБНУ «НИИ КиЭР им. А.Б. Зборовского» (г. Волгоград), а также практически здоровые — доноры отделения переливания крови ГУЗ «ГКБ СМП № 25» г. Волгограда, не имеющие жалоб на боли в суставах в течение всей жизни, и без клинических проявлений РА. Исследование продолжалось с 2015 по 2018 г.

Всем больным проводилось полное клинко-лабораторное обследование, включающее сбор анамнеза, осмотр, лабораторные и инструментальные исследования. Комплекс лабораторных тестов включал общеклинический анализ крови и мочи, определение содержания СРБ, общего билирубина и трансаминаз, мочевой кислоты, мочевины и креатинина в сыворотке крови, а также липидного спектра крови.

Уровень НФ-1 в сыворотке крови определяли непрямым твердофазным иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест систем (RaiBiotech, cat№ EIA-NESF) согласно инструкции изготовителя.

Среди пациентов с РА было 105 женщин и 5 мужчин, средний возраст которых составил $54,07 \pm 11,32$ лет ($M \pm \sigma$). Пациенты были сопоставимы по возрасту с группой здоровых. Большая часть обследованных была моложе 60 лет, т.е. была представлена лицами трудоспособного возраста.

Контрольную группу составили 60 практически здоровых лиц, 33 женщины и 27 мужчин, средний возраст которых — $49,29 \pm 11,14$ лет ($M \pm \sigma$), не имеющие жалоб на боли в суставах в анамнезе.

Этическая экспертиза Комитета по биомедицинской этике ВолгГМУ (протокол № 2095-2016 от 13 января 2017 г.).

Статистическая обработка данных клинического обследования проводилась с использованием программного пакета «STATISTICA 10.0 для Windows». Количественные данные обрабатывали статистически с использованием параметрического критерия достоверности Стьюдента, качественные

Таблица 1

Взаимосвязь между уровнем несфатина и клиническими проявлениями РА

Показатели	Нормальный уровень несфатина, <37,95 нг/мл (M±σ), n=44	Повышенный уровень несфатина, >37,95 нг/мл (M±σ), n=66	Достоверность различий между группами
По наличию РФ			
РФ (+)	28(64%)	55(83%)	$\chi^2=5,53$ $p=0,02$
РФ (-)	16(36%)	11(17%)	
Активность заболевания по DAS28			
0	15(34%)	11(16%)	$\chi^2=8,37$ $p=0,04$
I	12(27%)	15(23%)	
II	15(34%)	27(41%)	
III	2(5%)	13(20%)	
Наличие эрозий			
Эрозивный	31(70%)	46(70%)	$\chi^2=0,01$ $p=0,93$
Неэрозивный	13(30%)	20(30%)	
Наличие антител к цитрулированному пептиду			
АЦЦП (+)	28(63%)	45(68%)	$\chi^2=0,244$ $p=0,621$
АЦЦП (-)	16(36%)	31(46%)	
Форма заболевания			
Суставная форма	30(68%)	53(80%)	$\chi^2=2,09$ $p=0,14$
С внесуставными проявлениями	14(32%)	13(20%)	
Продолжительность болезни			
от 1 года до 4 лет	11(25%)	19(29%)	$\chi^2=9,53$ $p=0,01$
от 5 лет до 9 лет	17(39%)	9(14%)	
более 10 лет	16(36%)	38(57%)	
Рентгенологическая стадия по Steinbrocker			
I	2(4%)	5(7%)	$\chi^2=4,45$ $p=0,21$
II	23(53%)	22(34%)	
III	17(39%)	37(56%)	
IV	2(4%)	2(3%)	
Функциональный класс			
I	17(39%)	19(29%)	$\chi^2=2,54$ $p=0,28$
II	23(52%)	44(67%)	
III	4(9%)	3(4%)	

данные с использованием непараметрического критерия достоверности “хи-квадрат”. Достоверность различий между группами определяли с помощью дисперсионного анализа. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Нами была произведена оценка уровня несфатина-1 в сыворотке крови здоровых лиц. Средний уровень несфатина составил $31,61 \pm 3,17$ нг/мл ($M \pm \sigma$). Уровень нормальных значений несфатина у здоровых лиц, определяемый как $M \pm 2\sigma$, составил от 25,27 до 37,95 нг/мл.

Достоверной разницы зависимости уровня циркулирующего НФ-1 от индекса массы тела (ИМТ), пола, возраста как здоровых лиц, так и больных РА выявлено не было ($p > 0,05$).

Для выяснения взаимосвязи между уровнем НФ-1 и клиническими проявлениями РА все пациенты были разде-

Таблица 2

Взаимосвязь между лабораторными показателями, отражающими активность ревматоидного артрита, и уровнем несфатина в сыворотке крови

Показатель	Коэффициент корреляции (r) с несфатином-1	Достоверность, p
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	0,1937	0,043
С-реактивный белок, мг/л	0,214	0,025

лены нами на 2 группы – 1 группа (66 пациентов) с повышенным уровнем несфатина в сыворотке крови ($>37,95$ нг/мл), и 2 группа (44 пациента) – с нормальными показателями ($<37,95$ нг/мл). В обеих группах нами были изучены клинические проявления ревматоидного артрита. Результаты представлены в табл. 1. Видно, что высокий уровень несфатина у больных РА был характерен для пациентов с более высокой степенью активности по DAS28, серопозитивностью по ревматоидному фактору (РФ) и продолжительностью болезни более 10 лет.

В табл. 2 представлены данные о корреляционных взаимосвязях между концентрацией НФ-1 и показателями системного воспаления в сыворотке крови. Из представленных данных видно, что существует достоверная положительная корреляционная связь между уровнем НФ-1 в сыворотке крови и маркерами, отражающими тяжесть РА, что косвенно подтверждает данные о наличии у НФ-1 провоспалительных свойств.

Таким образом, в результате нашего исследования выявлен целый ряд факторов, свидетельствующих о негативном влиянии НФ-1 на течение РА. На наш взгляд, положительная корреляция между уровнем НФ-1 и классическими маркерами воспаления, такими как С-реактивный белок (СРБ) и скорость оседания эритроцитов (СОЭ), подтверждает роль НФ-1 как медиатора воспаления. Об этом же говорит и взаимосвязь между высокими уровнями концентрации НФ-1 в сыворотке крови с более тяжелой клинической картиной этого заболевания.

В процессе исследования каких-либо нежелательных явлений отмечено не было.

Закключение. Из результатов нашего исследования следует, что уровень НФ-1 у больных с РА достоверно выше, чем у здоровых людей. Более высокий уровень несфатина у больных РА характерен для пациентов с более высокой степенью активности по DAS28, серопозитивностью по РФ и продолжительностью болезни более 10 лет.

Высокий уровень НФ-1 положительно коррелировал с более высокими концентрациями СРБ и СОЭ, что косвенно говорит о провоспалительном характере действия НФ-1. В ходе исследования удалось уточнить отдельные звенья патогенеза РА. Результаты исследования можно применить для повышения качества диагностики РА, в частности, для прогнозирования тяжести течения заболевания, что требует дальнейшего изучения проблемы.

Кроме того, понимание роли НФ-1 в патогенезе РА дает стимул для создания специфических ингибиторов НФ-1, что открывает новые возможности терапии РА.

Учитывая то, что НФ-1 играет важную роль в развитии РА, дальнейшее изучение молекулярных механизмов активации НФ-1 может привести к разработке новых терапевтических средств для лечения широкого спектра воспалительных заболеваний.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов Е.Л., ред. *Ревматология. Российские клинические рекомендации*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017.
2. Ахвердян Ю.Р., Заводовский Б.В., Полякова Ю.В., Сивордова Л.Е., Зборовская И.А. Никотинамидфосфорибозилтрансфераза как маркер системного воспаления при остеоартрозе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (10): 606-10.
3. Зборовская И.А., Симакова Е.С., Заводовский Б.В., Ахвердян Ю.Р., Кононов В.Е. Прогностическое значение определения уровня лептина у работников промышленных предприятий города Волгограда с остеоартрозом. *Медицина труда и промышленная экология*. 2013; 1: 34-8.
4. Павлова А.Б., Ахвердян Ю.Р., Симакова Е.С., Заводовский Б.В., Сивордова Л.Е. Определение адипонектина у работников промышленных предприятий с воспалительными заболеваниями суставов. *Медицина труда и промышленная экология*. 2013; 1: 38-41.
5. Wajchenberg B.L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 2000; 21: 697-738.
6. Oh-I S., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K. et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*. 2006; Oct 12; 443(7112):709-12.
7. Ayada C., Toru U., Korkut Y. Nesfatin-1 and its effects on different systems. *Hippokratia*. 2015; 19 (1): 4-10.
8. Scotece M., Conde J., Abella V., Lo'pez V., Lago F., Pino J. NUCB2/ nesfatin-1: A New Adipokine Expressed in Human and Murine Chondrocytes with Pro-Inflammatory Properties, An In Vitro . *Journal of Orthopaedic Research*. 2014; May, 32(5): 653-60.
9. Foo K., Brismar H., Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience*. 2008; 156: 563-79.
10. Kluzek S., Arden N.K., Newton J., Adipokines as potential prognostic biomarkers in patients with acute knee injury. *Biomarkers*. 2015; 20(8):519-25.
11. Aydin S. Role of NUCB2/nesfatin-1 as a possible biomarker. *Curr. Pharm. Des.* 2013; 19: 6986-92.

REFERENCES

1. Nasonov E.L., ed. *Rheumatology. Russian Clinical Recommendations* [Revmatologiya. Klinicheskie rekomendatsii]. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. (in Russian)
2. Ahverdyan Ju.R., Zavadovskij B.V., Poljakova Ju.V., Sivordova L.E., Zborovskaya I.A. Nicotinamide phosphoribosyltransferase as a marker of systemic inflammation in osteoarthritis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62 (10): 606-10. (in Russian)
3. Zborovskaya I.A., Simakova E.S., Zavadovskij B.V., Ahverdyan Yu.R., Kononov V.E. Prognostic value of determining the level of leptin in workers of industrial enterprises in Volgograd with osteoarthritis. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2013; 1: 34-8. (in Russian)
4. Pavlova A.B., Ahverdjan Ju.R., Simakova E.S., Zavadovskij B.V., Sivordova L.E. Definition of adiponectin in workers of industrial enterprises with inflammatory joint diseases. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2013; 1: 38-41. (in Russian)
5. Wajchenberg B.L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 2000; 21, 697-738.
6. Oh-I S., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K. et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*. 2006; Oct 12; 443(7112):709-12.
7. Ayada C., Toru U., Korkut Y. Nesfatin-1 and its effects on different systems. *Hippokratia*. 2015, 19, 1: 4-10.
8. Scotece M., Conde J., Abella V., Lo'pez V., Lago F., Pino J. NUCB2/ nesfatin-1: A New Adipokine Expressed in Human and Murine Chondrocytes with Pro-Inflammatory Properties, An In Vitro . *Journal of Orthopaedic Research*. 2014; May; 32(5):653-60.
9. Foo K., Brismar H., Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience*. 2008; 156: 563-79.
10. Kluzek S., Arden N.K., Newton J., Adipokines as potential prognostic biomarkers in patients with acute knee injury. *Biomarkers*. 2015; 20(8):519-25.
11. Aydin S. Role of NUCB2/nesfatin-1 as a possible biomarker. *Curr Pharm. Des.* 2013; 19: 6986-92.

Поступила 19.04.18
Принята к печати 21.11.18

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Светоч Э. А.¹, Воложанцев Н. В.¹, Верёвкин В. В.¹, Мякина В. П.¹, Алёшкин А. В.², Киселёва И. А.²,
Баннов В. А.¹, Красильникова В. М.¹, Борзенков В. Н.¹, Карцев Н. Н.¹, Дятлов И. А.¹

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ БАКТЕРИОФАГ V32 КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ БЫСТРОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ *ESCHERICHIA COLI* СЕРОГРУППЫ O₁₅₇

¹ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, 142279, п.Оболensk, Московская область, Россия;

²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия

Для быстрого поиска и идентификации *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇, включая шига-токсин продуцирующие *E. coli* O₁₅₇:H₇ (STEC O₁₅₇:H₇), среди культур энтеробактерий из первичного посева исследуемого материала предложен эшерихиозный бактериофаг V32 – представитель вирусов бактерий семейства Myoviridae, подсемейства Ounavirinae. Геном фага представлен линейной двунитевой ДНК размером 87875 пар оснований (содержание G/C-пар – 38,9%) и включает 132 открытые рамки считывания (ORF). В геноме отсутствуют детерминанты устойчивости к антибиотикам, гены вирулентности STEC и других известных патогенов *E. coli*. Фаг V32 обладает литической активностью в отношении всех исследуемых культур серогруппы *E. coli* O₁₅₇ (n=183), выделенных от людей и сельскохозяйственных животных в различных регионах Российской Федерации, Японии, Италии. Фаг лизирует лишь 6 из 182 штаммов (3,3%) *E. coli*, не относящихся к серогруппе O₁₅₇, не активен в отношении штаммов других видов энтеробактерий, что свидетельствует о его высокой специфичности.

Использование бактериофага V32 в качестве диагностического инструмента является высокоэффективным, быстрым, дешёвым и простым в исполнении методом, позволяющим идентифицировать *E. coli* серогруппы O₁₅₇, включая серовар *E. coli* O₁₅₇:H₇, в любой бактериологической лаборатории без специального оборудования и специальной подготовки исполнителей.

Ключевые слова: шига-токсин продуцирующие *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇; бактериофаг; литическая активность фага; гены вирулентности; идентификация *E. coli* O₁₅₇

Для цитирования: Светоч Э. А., Воложанцев Н. В., Верёвкин В. В., Мякина В. П., Алёшкин А. В., Киселева И. А., Баннов В. А., Красильникова В. М., Борзенков В. Н., Карцев Н. Н., Дятлов И. А. Диагностический бактериофаг V32 как инструмент для быстрой идентификации *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 57-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-57-64>

Svetoch E. A.¹, Volozhantsev N. V.¹, Verevkin V. V.¹, Myakinina V. P.¹, Aleshkin A. V.², Kiseleva I. A.², Bannov V. A.¹, Krasilnikova V. M.¹, Borzenkov V. N.¹, Kartsev N. N.¹, Dyatlov I. A.¹

DIAGNOSTIC BACTERIOPHAGE V32 AS A TOOL FOR THE RAPID IDENTIFICATION OF *ESCHERICHIA COLI* SEROGROUP O₁₅₇

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Obolensk, 142279, Russia;

²G.N. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, 125212, Russia

Bacteriophage V32, a representative of bacterial viruses of the Myoviridae family Ounavirinae subfamily, is proposed for search and identification of *E. coli* O₁₅₇ serogroup, including Shiga-toxin producing *E. coli* O₁₅₇:H₇ (STEC O₁₅₇:H₇), among cultures of enterobacteria from the primary seeding of the material studied. Phage genome contains a linear double-stranded DNA of 87875 base pairs with G/C-content of 38.9% and includes 132 open reading frames (ORF). In the genome, there are no determinants of antibiotic resistance, virulence genes of STEC and other well-known pathogroups of *E. coli*. It has been established that phage V32 has lytic activity against all studied cultures of *E. coli* O₁₅₇ serogroup (n=183) isolated from people and farm animals in various regions of the Russian Federation, as well as in Japan and Italy. At the same time, the phage lyses only 6 of 182 strains (3.3%) of *E. coli* not belonging to the O₁₅₇ serogroup and is not active against strains of other enterobacteria. That is, the phage has a high specificity. The use of bacteriophage V32 as a diagnostic tool is a highly efficient, fast, cheap and simple method for identifying *E. coli* serogroup O₁₅₇, including the serotype *E. coli* O₁₅₇:H₇, in any bacteriological laboratory without special equipment and special training of performers.

Key words: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157: H7; bacteriophage; phage lytic activity; virulence genes; *E. coli* O157 identification.

For citation: Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Verevkin V.V., Myakinina V.P., Aleshkin A.V., Kiseleva I.A., Bannov V.A., Krasilnikova V.M., Borzenkov V.N., Kartsev N.N., Dyatlov I.A. Diagnostic bacteriophage V32 as a tool for the rapid identification of *Escherichia coli* serogroup O₁₅₇. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 57-64. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-57-64>

For correspondence: Svetoch E.A., Chief Researcher, Department of Molecular Microbiology; e.mail: svetoch@obolensk.org

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interest.

Acknowledgment. The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing.

Received 23.11.2018
Accepted 30.11.2018

Введение. *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇ играют важную роль в патологии человека и сельскохозяйственных животных. Представитель этой группы, шига-токсин продуцирующий серовар *E. coli* O₁₅₇:H₇ (STEC O₁₅₇:H₇), является основным возбудителем тяжёлой пищевой инфекции – геморрагического колита (ГК), нередко ассоциированного с гемолитико-уремическим синдромом (ГУС), потенциально опасным для жизни больного. При ГК и ГУС у больных развиваются микроангиопатия, гемолитическая анемия, тромбоцитопения, которые проявляются поражением толстого кишечника, острой почечной недостаточностью, нарушением функций центральной нервной системы [1; 2]. У пациентов развивается диарея, иногда с кровью. Особенно опасны ГК и ГУС для детей первых лет жизни и пожилых людей, смертность при ГУС может достигать 5% и более [3]. Геморрагический колит, вызываемый *E. coli* O₁₅₇:H₇, регистрируется во многих странах, включая Российскую Федерацию [4–6]. Протекает инфекция в виде спорадических случаев и эпидемических вспышек, поражая десятки, сотни, тысячи человек [4]. До настоящего времени эффективных средств лечения ГК не разработано, поскольку использование этиотропных препаратов при этой инфекции ограничено, их применение лишь усугубляет тяжесть течения болезни и увеличивает число случаев ГУС у больных ГК [5]. Трудности лечения ГК и ГУС, вызываемые STEC, ярко проявились при вспышке пищевой инфекции в Германии в 2011 г., когда заболело около 4000 человек, из которых 54 умерло [7]. С учётом высоких рисков заражения и потенциальной опасности для общественного здравоохранения STEC, особенно STEC O₁₅₇:H₇ и O₁₀₄:H₄, эта группа патогенов в 2011 г. в РФ отнесена к микроорганизмам I-II групп патогенности (опасности).

Основным естественным резервуаром и источником STEC O₁₅₇ являются сельскохозяйственные животные [8], с фекальными массами которых возбудитель попадает во внешнюю среду, контаминируя почву, воду, сельскохозяйственные растения, пищевое сырьё и продукты питания. Заболевая люди ГК, как правило, после употребления контаминированных STEC O₁₅₇:H₇ продуктов питания или воды [4; 8].

При подозрении на ГК чрезвычайно важным для подтверждения диагноза и выбора тактики лечения является раннее выявление возбудителя у больного, установление источника патогена с тем, чтобы предотвратить распространение инфекции. В том и в другом случаях необходимо выделить чистую культуру возбудителя и её идентифицировать. Для быстрой детекции *E. coli* O₁₅₇ среди колоний *E. coli*, полученных после первичного посева исследуемого материала, используют реакцию латексной агглютинации (РАЛ), реже реакцию агглютинации (РА) со специфическими диагностическими РАЛ и РА позволяют проанализировать большое количество выделенных культур *E. coli* O₁₅₇. На конечной стадии идентификации STEC O₁₅₇:H₇ используют ПЦР, ПЦР-РВ, ИХ-тест, позволяющие идентифицировать гены патогенности (*rfb*_{O157}, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, *fliC*) или способность культуры продуцировать шига-токсины.

Цель работы – выделить, охарактеризовать и предложить в качестве диагностического теста для быстрого поиска и первичной идентификации культур *E. coli* серогруппы O₁₅₇, в том числе STEC O₁₅₇:H₇ – основного возбудителя ГК у человека, специфический литический бактериофаг.

Материал и методы. Для оценки спектра литической активности эшерихиозного бактериофага V32 использовали референс-штаммы *E. coli* O₁₅₇:H₇, изоляты *E. coli* O₁₅₇:H₇, *E. coli* других серогрупп и серологически нетипированные эшерихии, выделенные авторами в период с 1998 по 2018 г. от людей, больных ГК, ГУС, острыми кишечными инфекциями (ОКИ), и от сельскохозяйственных животных в различных регионах Российской Федерации. Также использованы штаммы *E. coli* O₁₅₇:H₇, любезно предоставленные профессором Харуо Ватанабе, директором Департамента бактериологии Национального института здоровья (Токио, Япония). Часть исследований по изучению литической активности бактериофага V32 выполнена на STEC O₁₅₇:H₇ и STEC штаммах других серогрупп в референс-лаборатории Европейского Союза (ЕС) по изучению веротоксин-продуцирующих *E. coli*, VTEC (Рим, Италия). Штаммы микроорганизмов других видов получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk».

Индикаторные культуры выращивали на ГРМ-агаре, сорбитол *E. coli* O₁₅₇:H₇-агаре, агаре Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk) при температуре 37°С. Для подтверждения принадлежности *E. coli* к серогруппе O₁₅₇ для детекции генов патогенности STEC (*rfb*_{O157}, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, *fliC*) применяли РАЛ и ПЦР тест-систему (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk) согласно МУК 4.2.2963-11.4.2. от 19.08.2011.

Бактериофаги, специфически лизирующие *E. coli* O₁₅₇:H₇, выделяли из образцов городских сточных вод, сточных вод животноводческих ферм, речной воды, фекалий больных диареей детей. Жидкие образцы фильтровали через марлевые салфетки и осветляли центрифугированием при 10 тыс. g в течение 10 мин, твёрдые – предварительно суспендировали в фаговом SM-буфере (50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM MgSO₄), затем центрифугировали при 10 тыс. g в течение 10 мин. Супернатанты стерилизовали добавлением 1% хлороформа с последующим интенсивным перемешиванием в течение 20 мин, либо фильтрованием через фильтр с порами 0,22 мкм (Millex, Ирландия). Наличие бактериофагов в приготовленных образцах определяли в спот-тесте: капли образца наносили на свежеприготовленный газон бактериальной культуры *E. coli* O₁₅₇:H₇ с последующим выращиванием её в течение 18 час при температуре 37°С. При появлении на газоне индикаторного штамма стерильного пятна на месте нанесения капли исследуемого образца, материал из него отбирали с помощью бактериологической петли, суспендировали в 1 мл SM-буфера, добавляли в полученную суспензию 20 мкл хлороформа, смесь перемешивали в течение 20 мин и анализировали на присутствие бактериофага методом агаровых слоев (метод Грация). Наличие бляшек (негативных колоний) в верхнем слое агара указывало на фаговую природу лизиса. Препараты бактериофагов нарабатывали после двух последовательных перекалываний отдельных бляшек на культуре чувствительного штамма *E. coli* O₁₅₇:H₇.

Для приготвления фаголизата бактериальную культуру штамма *E. coli* O₁₅₇:H₇ 3705 выращивали на питательном бульоне Лурия-Бертани (LB) в течение 18 час при температуре 37°С без аэрации до концентрации ~10⁹ КОЕ/мл. Выросшую культуру разводили в 5 раз средой LBM (LB, содержащей 10 mM MgSO₄), заражали бактериофагом с множественно-

Таблица 1

Чувствительность штаммов *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇, выделенных от людей, к бактериофагу V32

№	Регион и год выделения культур <i>E. coli</i>	Источник	Количество штаммов	Генотип штаммов					Чувствительность к бактериофагу V32 (спот-тест)
				<i>rfb</i> _{O157}	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>fliC</i> _{H7}	
1	Тульская обл., г. Тула, 1997-2000 гг.	Дети, ГК	18	+	+	+	+	+	+
2		Дети, ГК	3	+	+	-	+	+	+
3		Дети, ГК	3	+	+	+	+	-	+
4		Дети, ГК	3	+	+	+	+	-	+
5		Контакт	2	+	+	+	+	+	+
6		Контакт	4	+	+	-	+	+	+
7		Контакт	3	+	+	+	+	-	+
8	г. Санкт-Петербург, 2013 г.	Дети, ГК	3	+	+	-	+	+	+
9	Московская обл., г. Протвино, 2002 г.	Дети, ОКИ	6*	+	-	-	-	-	+
10	г. Вологда, 2018 г.	Ребенок, ОКИ	1	+	+	+	+	+	+
11	г. Ярославль, 2017 г.	Ребенок, ОКИ	1	+	+		+	+	+
12	Япония, 1998 г.	Дети, ГК	14	+	+	+	+	+	+
13	Референс лаборатория ЕС, Рим, Италия	Пищевые продукты	1	+	+	-	+	+	+
14		Больные ГК, пищевые продукты	10	+	+	+	+	+	+
15		Больные ГК, пищевые продукты	10	+	+	-	+	+	+
16		EDL933	1	+	+		+	+	+
17		904	1	+	+		+	+	+
18		ATCC35150	1	+	+		+	+	+
19		ATCC51659	1	+	+		+	+	+
20		ATCC51568	1	+	+		+	+	+
21		ATCC51567	1	+	+		+	+	+
22		KS	1	+	+		+	+	+
		ИТОГО	89						

Примечание. ГК – геморрагический колит; ОКИ – острая кишечная инфекция; *rfb*_{O157} – ген синтеза антигена O₁₅₇; *eae* – ген синтеза адгезина интимина; *stx1* и *stx2* – гены синтеза шига-токсинов типов 1 и 2; *fliC*_{H7} – гены синтеза жгутикового антигена H7. «+» – ген или признак присутствует; «-» – ген или признак отсутствует; * – штаммы продуцировали термолabileльный (Lt) и термостабильный (Est) энтеротоксины.

стью инфицирования (МИ) 0,01-0,1 БОЕ/КОЕ. Смесь инкубировали при температуре 37°С на качалке (скорость вращения 170 об/мин) до просветления культуральной жидкости. Фаголизат стерилизовали добавлением 1% хлороформа с последующим интенсивным перемешиванием в течение 20 мин., после чего из фаголизата удаляли клеточный дебрис путём центрифугирования при 10 тыс. г в течение 10 мин и определяли в нём количество фаговых частиц методом Грация.

Литическую активность бактериофага V32 в отношении индикаторных культур изучали методом спот-теста и методом фаговой дорожки [9].

Полногеномное секвенирование бактериофага V32 осуществляли в системе Ion Torrent PGM (Life Technologies, США) согласно инструкции фирмы-производителя (<http://ioncommunity.lifetechnologies.com>). Для секвенирования использовали наборы реагентов Ion PGM Reagents 200 Kit и Ion 318 Chip Kit (Life Technologies, США). Индивидуальные прочтения собирали в контиги с помощью программы Newbler 2.9 (Roche, Швейцария) и редактировали с использованием программного обеспечения SeqMan NGen (DNASTar, Madison, WI, США) и Vector NTI Advance 10.0.1 (Invitrogen, США). Кодированные последовательности ДНК выявляли и анализировали, используя программные ресурсы RAST [10] и BLAST [11].

Результаты. При исследовании 17 образцов материала, отобранного из различных источников, выделено 29 штаммов бактериофагов, проявлявших литическую активность в отношении *E. coli* O₁₅₇:H₇. После предварительной оценки спектра и специфичности литической активности выделен-

ных бактериофагов для дальнейшего изучения отобран бактериофаг V32, как наиболее перспективный. Бактериофаг V32 депонирован в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболениск» под номером Ph25.

Бактериофаг V32 выделен в 2008 г. из сточных вод одной из ферм крупного рогатого скота в Московской области. На штаммах *E. coli* O₁₅₇:H₇ фаг V32 формирует мелкие негативные прозрачные колонии с чёткими краями (рис. 1, см. обложку). Вторичный рост клеток бактерий в области негативных зон отсутствует. При выращивании на среде LB смеси фага V32 и чувствительного к нему штамма *E. coli* O₁₅₇:H₇ 3705 стабильно удается нарабатывать фаголизаты с концентрацией более 10⁹ БОЕ/мл.

На основании данных секвенирования ДНК и сравнительного геномного анализа бактериофаг V32 отнесён к вирусам семейства *Myoviridae*, подсемейства *Ounavirinae*. Геном фага V32 представлен линейной двунизовой ДНК размером 87875 пар оснований (содержание G/C-пар – 38,9%), включает 132 открытые рамки считывания (ORF), кодирующие 20% белков с предсказанными функциями и 80% гипотетических пептидов с неустановленными функциями. В дополнение к основным генам структурных белков капсида и хвостового аппарата, в геноме фага выявлены гены, кодирующие набор ферментов, связанных с репликацией, рекомбинацией, модификацией, метаболизмом ДНК, гены, определяющие лизис бактериальной клетки-хозяина. В геноме фага выявлено 20 генов транспортной РНК (рис. 2, см. обложку). В геноме фага не выявлены гены резистентности к антибиотикам, детерми-

Таблица 2

Чувствительность штаммов *Escherichia coli* серогруппы O₁₅₇, выделенных от сельскохозяйственных животных, к бактериофагу V32

№	Регион и год выделения культур <i>E. coli</i>	Источник	Количество штаммов	Генотип штаммов					Чувствительность к бактериофагу V32 (спот-тест)
				<i>rfb</i> _{O157}	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>fliC</i> _{H7}	
1	Рязанская обл., 2000 г.	Телята 10-дневные	6	+	+	-	+	+	+
2	Воронежская обл., 1999 г.	Телята 2-х месячные	2	+	+	+	+	+	+
3	Тульская обл., 1999-2000 гг.	Коровы	3	+	+	+	+	+	+
4		Корова	1	+	+	+	+	+	+
5		Коровы	7	+	+	-	+	+	+
6		Молоко сырое	3	+	+	+	+	+	+
7		Телята 5- месячные	3	+	+	+	+	+	+
8	Орловская обл., 2000 г.	Поросята 5- месячные	15	+	+	-	+	+	+
9	Рязанская обл., 2000 г.	Поросята 1-2-месячные	7	+	-	-	-	-	+
10		Поросята 1-месячные	5*	+	+	-	-	-	+
11		Поросята 2-месячные	8*	+	-	-	-	+	+
12	Московская обл., 2001 г.	Куры бройлерные, 38-дневные	14*	+	-	-	-	-	+
ИТОГО			74						

Примечание. *rfb*_{O157} – ген синтеза антигена O₁₅₇; *eae* – ген синтеза адгезина интимина; *stx1* и *stx2* – гены синтеза шига-токсинов типов 1 и 2; *fliC*_{H7} – гены синтеза жгутикового антигена H7. «+» – ген или признак присутствует; «-» – ген или признак отсутствует; * – штаммы *E. coli* O₁₅₇ не несли генов шига-токсинов типов 1 и 2.

нанты вирулентности, характерные для STEC *E. coli* O₁₅₇:H₇ (*rfb*_{O157}, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, *fliC*_{H7}), гены термолабильного (*lt*) и термостабильного (*est*) энтеротоксинов.

Спектр литической активности бактериофага V32 в отношении штаммов серогруппы *E. coli* O₁₅₇ представлен в табл. 1 и 2.

Все шига-токсин продуцирующие штаммы серотипа *E. coli* O₁₅₇:H₇, выделенные в разные годы в городах Туле, Санкт-Петербурге, Ярославле, Вологде от больных ГК, ГУС или ОКИ, чувствительны к бактериофагу V32, т. е. все они лизировались фагом V32 при испытании в спот-тесте. Высокая литическая активность фага V32 установлена и в отношении 15 шига-токсин продуцирующих штаммов *E. coli* O₁₅₇:H₇, вызвавших в 1996 г. в г. Сакаи (Япония) самую крупную (из известных на сегодняшний день) вспышку пищевой инфекции среди школьников. Тогда инфекция поразила более 10 тыс. человек [12]. Чувствительность к фагу V32 проявляли 20 штаммов STEC O₁₅₇:H₇ из коллекции референс-лаборатории ЕС по изучению STEC, семь шига-токсин продуцирующих референс-штаммов *E. coli* O₁₅₇:H₇ из «ГКПМ-Оболensk». Чувствительными к бактериофагу V32 оказались шесть энтеротоксигенных (ETEC) штаммов серогруппы *E. coli* O₁₅₇:H₇ изолированных от детей при ОКИ в г. Протвино Московской обл.

К фагу V32 чувствительны 74 штамма *E. coli* серогруппы O₁₅₇, выделенные в 1999-2001 гг. в семи регионах РФ от сельскохозяйственных животных и промышленной птицы (табл. 2). Из 74 изученных штаммов 52 принадлежали к серотипу STEC O₁₅₇:H₇, возбудителю ГК и ГУС у человека. Остальные 22 штамма, выделенные от поросят и птицы, не несли генов патогенности STEC и были не патогенными для человека.

Все 163 штамма серогруппы O₁₅₇, включая 130 штаммов STEC O₁₅₇:H₇, выделенные от людей и сельскохозяйственных животных (табл. 1 и 2), при испытании в спот-тесте чувствительны к бактериофагу V32. Штаммы *E. coli* O₁₅₇ лизировались фагом независимо от источника, региона, страны, года их выделения, их генотипа (наличия детерминант патогенности), принадлежности к патотипу эшерихий (энтерогеморрагическому или энтеротоксигенному). Полученные данные свидетельствуют о широком спектре литического действия бактериофага V32 в отношении эшерихий серогруппы O₁₅₇ в

том числе *E. coli* O₁₅₇:H₇ – ведущего возбудителя ГК и ГУС.

Для оценки возможности использования фага V32 в качестве диагностического с целью детекции культур *E. coli* серогруппы O₁₅₇ недостаточно, чтобы фаг проявлял лишь 100% литическую активность в отношении целевого микроорганизма, необходимо, чтобы он обладал ещё и высокой специфичностью, т. е. не лизировал другие (не принадлежащие к серогруппе *E. coli* O₁₅₇) микроорганизмы. Для определения специфичности литического действия фага V32 использовали *E. coli* других серогрупп, в том числе шига-токсин продуцирующие, выделенные от людей (табл. 3), серологически нетипированные, изолированные от людей и сельскохозяйственных животных культуры *E. coli* (табл. 4). С этой же целью использованы другие виды микроорганизмов (табл. 4). Из 20 штаммов *E. coli* серогрупп O₂₆, O₁₁₁, O₁₂₇, O₁₂₈, выделенных от детей с диагнозом ОКИ в г. Ярославле, только один изолят серогруппы *E. coli* O₂₆, принадлежащий к патотипу энтеропатогенных эшерихий (ЕПЕС), чувствителен к фагу V32, т. е. фаг V32 в данном случае вызвал лизис клеток изолята, что можно расценивать, как ложноположительный результат (табл. 3). Среди 31 серологически типированного шига-токсин продуцирующего штамма *E. coli* из референс-лаборатории ЕС по изучению STEC только один штамм серогруппы O₅₅ оказался чувствительным к фагу V32, остальные 30 были резистентными. Устойчивыми к фагу V32 оказались все 15 штаммов 14 серогрупп *E. coli* из коллекции «ГКПМ-Оболensk». Следовательно, из 66 штаммов *E. coli*, принадлежащих к 26 О-серологическим группам (O₁, O₂₇, O₄, O₁₅, O₂₀, O₂₅, O₂₆, O₂₈, O₅₅, O₇₉, O₇₈, O₁₀₃, O₁₀₄, O₁₁₀, O₁₁₄, O₁₂₁, O₁₂₆, O₁₂₇, O₁₂₈, O₁₃₀, O₁₃₅, O₁₄₄, O₁₅₄, O₁₅₆) только два штамма (~3%) из серогрупп *E. coli* O₂₆ и *E. coli* O₅₅ чувствительны к фагу V32, остальные 64 (97%) резистентны к литическому действию этого фага.

О высокой специфичности литической активности фага V32 свидетельствуют данные, полученные при испытании его на серологически нетипированной группе эшерихий, выделенных в 17 регионах РФ от людей и сельскохозяйственных животных: из 116 культур четыре (3,4%) (две от людей и две от птицы) оказались чувствительны к фагу V32 (табл. 4). Ни одна из 87 культур 15 гетерологичных *E. coli* видов не чувствительна к фагу V32, т. е. в этом случае специфичность

Таблица 3

Чувствительность штаммов *Escherichia coli* других (не O₁₅₇) серогрупп, выделенных от людей, к бактериофагу V32

Регион и год выделения культур <i>E. coli</i>	Серогруппа <i>E. coli</i> , источник выделения	Количество штаммов	Генотип штаммов	Чувствительность к фагу V32 (спот-тест)
Ярославская обл., г. Ярославль, 2015, 2016, 2017 гг.	<i>E. coli</i> O ₂₆ , клинические изоляты, ОКИ	12	<i>eae</i> ; <i>eae</i> , <i>ehxA</i> ; <i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>ehxA</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₂₆ , клинический изолят, ОКИ	1	<i>eae</i>	+
	<i>E. coli</i> O ₁₁₁ , клинические изоляты, ОКИ	4	<i>eae</i> ; <i>eae</i> , <i>ehxA</i> ; <i>lt/est</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₇ , клинические изоляты, ОКИ	2	<i>eae</i> , <i>stx1</i> ; <i>eae</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₈ , клинический изолят, ОКИ	1	<i>eae</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₆	1	<i>stx1</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₁	3	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₀₃	3	<i>eae</i> , <i>stx1</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₅₅	2	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₅₅	1	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	+
	<i>E. coli</i> O ₁₄₅	3	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₁₁	3	<i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₅₆	1	<i>eae</i> , <i>stx1</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₈	3	<i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₅	1	<i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₄₆	1	<i>stx1</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₂₈	3	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₁₄	1	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₅	1	<i>eae</i> , <i>stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> O ₁₂₇	1	<i>aggR stx2</i>	-
Референс-лаборатория ЕС (Рим, Италия) 2014 г.	<i>E. coli</i> O ₁₀₄ :H ₄	3	<i>aggR stx2</i>	-
	<i>E. coli</i> серогрупп: O ₁ , O ₂ , O ₄ , O ₁₅₄ , O ₂₀ , O ₂₅ , O ₂₈ , O ₇₉ , O ₁₂₇ , O ₁₄₁ , O ₇₈ , O ₁₁₀ , O ₁₃₀ , O ₁₀₄ :H ₁₂ , O ₁₀₄ :H ₄ (по одному штамму)	15	n/o	-
«ГКПМ- Оболенск»	Итого:	66		

Примечание. ОКИ – острая кишечная инфекция; *eae* – ген синтеза адгезина интимина; *stx1* и *stx2* – гены синтеза шига-токсинов типов 1 и 2; *lt* – ген синтеза термолabileного энтеротоксина; *est* – ген синтеза термостабильного энтеротоксина; *ehxA* – ген синтеза энтерогемолитина, *aggR* – ген синтеза адгезина энтероагрегативных эшерихий (*EAggEC*).

литического действия фага абсолютна (табл. 4). Специфичность литической активности фага оценена на 269 индикаторных культурах (табл. 3 и 4), из которых 263 (97,8%) резистентны и только 6 (2,2%) чувствительны к фагу V32.

Обсуждение. Контроль за STEC O157:H7 инфекцией весьма сложная задача и предполагает проведение комплекса мероприятий: мониторинг и профилактику носительства *E. coli* O157:H7 у крупного рогатого скота и других жвачных, соблюдение санитарно-гигиенических правил по предотвращению распространения патогена с фекалиями животных на продукты питания, воду и почву, деконтаминацию *E. coli* O157:H7 в потенциально опасных для человека продуктах питания, а также совершенствование диагностики и лечения ГК и ГУС. При реализации перечисленных мероприятий по контролю за STEC O157:H7 инфекцией важное место отводится использованию вирулентных бактериофагов, специфически лизирующих *E. coli* O157:H7. Так, широкое признание у исследователей получило фаготипирование штаммов *E. coli* O157:H7 с целью эпидемиологического анализа STEC-инфекции. Благодаря фаготипированию удалось показать, что за вспышечные и спорадические случаи ГК и ГУС у человека отвечает ограниченное число определенных фаготипов STEC O157:H7. Фаготипирование позволило выявить эпидемически значимые доминирующие фаготипы STEC O157:H7, циркулирующие на отдельных географических территориях, а также установить связь между носительством этого патогена у животных и заболеваемостью человека ГК. Фаготип штамма *E. coli* O157:H7 оказался хорошей фенотипической меткой, ис-

пользуемой при эпидемиологическом анализе вспышечных случаев ГК для установления источника инфекции [13–15].

Специфические бактериофаги, лизирующие STEC O157:H7, рассматриваются как одно из перспективных и эффективных антимикробных средств для борьбы с носительством этого патогена у сельскохозяйственных животных – основного природного резервуара и источника возбудителя ГК человека [16; 17]. Проводятся исследования и дискутируется вопрос о применении специфических бактериофагов для профилактики ГК у человека [18–20]. Нами на основе коктейля бактериофагов, в том числе лизирующих *E. coli* O157:H7, разработана и зарегистрирована в РФ пищевая добавка, способная снижать риски заболевания ГК [21].

Мощным инструментом для контроля за STEC O157:H7 инфекцией, как свидетельствуют результаты многочисленных исследований, является использование литических бактериофагов для деконтаминации культур *E. coli* O157:H7 из животноводческих (мясо, молоко) и зеленных растительных продуктов (салаты, укроп, сельдерей и др.), овощей, фруктов, соков и др. [22–24].

Мы предлагаем использовать специфический вирулентный бактериофаг в диагностических целях: для быстрой идентификации культур *E. coli* серогруппы O157, включая STEC O157:H7, как эффективный, дешёвый, легко выполнимый в любой бактериологической лаборатории диагностический тест. Основные требования к бактериофагам, используемым в практике – литическая активность (широкая или узкая), специфичность действия, безопасность для человека [17, 22,

Таблица 4

Чувствительность серологически нетипированных штаммов *Escherichia coli* и других видов микроорганизмов к бактериофагу V32

Регион и год выделения микроорганизмов	Вид микроорганизмов, источник выделения	Кол-во штаммов	Генотип	Чувствительность к фагу
Вологодская обл., г. Череповец, 2011 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, вспышка ОКИ	11	-	-
		1	-	+
Приморский край, г. Владивосток, 2012 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, вспышка ОКИ	4	-	-
Московская обл., г. Протвино, 2012 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, хирургические больные	3	-	-
Челябинская обл., г. Челябинск, 2009 г.	<i>E. coli</i> , клинический изолят, ОКИ	1	<i>stx2, hly</i>	+
		1	<i>hly</i>	-
г. Москва, МНИИЭМ им. Габричевского, 2012 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	3	<i>hly</i>	-
г. Москва, ЦКБ № 1, 2016 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	15	-	-
Тюменская обл., г. Тюмень, 2014 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	24	-	-
г. Санкт-Петербург, 2013 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	3	-	-
Тульская обл., г. Тула, 1997 г.	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	2	<i>stx1, stx2</i>	-
Ярославская обл., г. Ярославль, 2015	<i>E. coli</i> , клинические изоляты, ОКИ	3	<i>eae; ehxA</i>	-
Белгородская, Калужская, Московская, Псковская, Орловская обл., 1999-2002 гг.	<i>E. coli</i> , свиньи, крупный рогатый скот	34	-	-
Волгоградская обл., 2002 г.	<i>E. coli</i> , птица	9	-	-
	<i>E. coli</i> , птица	2	-	+
г.г. Архангельск, Якутск, Тюмень	<i>Shigella flexneri</i> , клинические изоляты	17	-	-
Краснодарский край, Хакасия, Ленинградская и Московская обл., 2005-2017 гг.	<i>Salmonella Enteritidis</i> , птица	8	-	-
«ГКПМ-Оболенск»	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	15	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	2	-	-
	<i>Salmonella Gallinarum-Pullorum</i>	9	-	-
	<i>Shigella dysenteriae</i>	1	-	-
	<i>Morganella morganii</i>	2	-	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	-	-
	<i>Proteus mirabilis</i>	2	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	-	-
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	10	-	-
	<i>Listeria monocytogenes</i>	2	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	1	-	-
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	3	-	-
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	4	-	-
	Итого:	203		

Примечание. *eae* – ген синтеза адгезина интимина; *stx1* и *stx2* – гены синтеза шига-токсинов типов 1 и 2; *hly* – ген синтеза гемолизина; *ehxA* – ген синтеза энтерогемолизина.

25]. Последнее предполагает отсутствие в геноме фага детерминант патогенности и антибиотикорезистентности, потенциально опасных для человека, генов, ответственных за лизогенное состояние бактериофага. Анализ работ, посвященных поиску бактериофагов, активных против STEC O₁₅₇:H₇, показывает, что выделение фагов со 100% литической активностью в отношении культур *E. coli* серогруппы O₁₅₇ – вполне разрешимая задача, хотя и требует значительных усилий [26; 27]. Выделяемые анти- *E. coli* O₁₅₇:H₇ фаги далеко не всегда обладают высокой специфичностью: нередко они лизируют культуры *E. coli*, не относящиеся к серогруппе O₁₅₇, и культуры гетерологичных видов энтеробактерий [17, 28].

При анализе 29 штаммов бактериофагов, лизирующих *E. coli* серогруппы O₁₅₇, удалось отобрать один бактериофаг, V32, отвечающий всем требованиям, предъявляемым к диагностическим фагам. Фаг V32 в 100% случаев лизировал все испытанные культуры *E. coli* серогруппы O₁₅₇, в том числе 130 шига-токсин продуцирующих штаммов серотипа *E. coli* O₁₅₇:H₇, выделенных из различных источников: от больных

ГК и ГУС людей, из продуктов, от сельскохозяйственных животных – крупного рогатого скота, свиней, птицы. Среди индикаторных штаммов *E. coli* O₁₅₇ были культуры другого (не энтерогеморрагического) патотипа – энтеротоксигенные (ETEC) штаммы, носители отдельных генов STEC. Индикаторные культуры *E. coli* O₁₅₇ эпидемически и эпизоотически не связаны между собой, поскольку выделены в девяти разных регионах РФ, Японии и Италии. Полученные данные свидетельствуют об уникально широком спектре литического действия фага V32 в отношении *E. coli* серогруппы O₁₅₇. Литическая активность обеспечивается взаимодействием фагов с рецепторами, расположенными на поверхности наружной мембраны клетки хозяина. Предполагают, что широкий спектр литической активности у фага связан с наличием у него двух и более специфических протеинов (локализованных на хвосте вируса), которые обеспечивают взаимодействие фага с липополисахаридом, главным рецептором для фагов у грамотрицательных бактерий, и белками наружной мембраны клетки хозяина [28].

Второе важное свойство диагностического фага V32 – его специфичность, т. е. способность фага *in vitro* лизировать только эшерихии серогруппы O₁₅₇ и не лизировать другие, не относящиеся к этой серогруппе, а также микроорганизмы других видов и родов. Специфичность литической активности фага выражают в процентах устойчивых к фагу нецелых (не *E. coli* O₁₅₇) микроорганизмов, взятых в эксперимент. Как показали исследования, проведенные на 182 штаммах *E. coli*, не относящихся к серогруппе O₁₅₇, специфичность фага V32 была высокой и составляла 96,7 %, т. е. только 6 штаммов *E. coli* из 182 неспецифически лизировались фагом. К фагу V32 устойчивы штаммы видов *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Choleraesuis*, *Salmonella Gallinarum-Pullorum*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*. Другие свойства фага V32, подтверждающие его уникальность и диагностическую ценность, получены в результате полногеномного секвенирования вируса. Биоинформационный анализ структуры генома фага V32 показал отсутствие в нём генов вирулентности, характерных для всех известных патогенов *E. coli*, и отсутствие детерминант антибиотикорезистентности. Следует отметить ещё одно важное для диагностики ГК свойство фага V32: лизис культур серогруппы *E. coli* O₁₅₇ под действием фага наступает очень быстро и может быть учтён в спот-тесте через 2-3 часа после нанесения фага на свежесазанную культуру *E. coli*.

100% чувствительность эшерихий серогруппы O₁₅₇ к литическому действию фага V32, его высокая специфичность, безопасность для человека и возможность получения быстрого результата свидетельствуют об уникальности фага и пригодности для использования в лабораторной практике для идентификации *E. coli* серогруппы O₁₅₇, включая шига-токсин продуцирующие серотипы *E. coli* O₁₅₇:H₇ и *E. coli* O₁₅₇:NM. Если идентифицированные фагом V32 *E. coli* серогруппы O₁₅₇ выделены от больного с клиникой диареи (простой водянистой или с кровью), то с большой долей вероятности можно ставить предварительный диагноз «геморрагический колит, вызванный *E. coli* O₁₅₇» и принимать соответствующие этому диагнозу лечебные мероприятия. Для постановки окончательного диагноза необходимо подтвердить способность штаммов *E. coli* O₁₅₇ продуцировать шига-токсины.

Уникальные свойства фага V32 открывают большие перспективы для использования его не только в диагностических целях, но и для профилактики ГК в период крупных вспышек пищевой инфекции, вызванной *E. coli* O₁₅₇:H₇, для борьбы с носительством эшерихий серогруппы O₁₅₇ у сельскохозяйственных животных. Фаг V32 может использоваться в пищевой промышленности для деконтаминации пищевого сырья, в первую очередь, говядины, от *E. coli* O₁₅₇:H₇. Уникальность фага V32 в качестве диагностического теста подтверждена получением на него патента [9].

Заключение. Получен диагностический бактериофаг, который может быть использован в медицинских и ветеринарных диагностических лабораториях для идентификации эшерихий серогруппы O₁₅₇ в том числе шига-токсин продуцирующих серотипов *E. coli* O₁₅₇:H₇ и *E. coli* O₁₅₇:NM, основных возбудителей ГК и ГС человека. Фаг V32 обладает 100% литической активностью в отношении *E. coli* серогруппы O₁₅₇ и высокой специфичностью (не менее 97%); в его геноме отсутствуют детерминанты устойчивости к антибиотикам, гены вирулентности STEC и других известных патогенов *E. coli*, т. е. фаг V32 безопасен для человека. Использование бактериофага V32 в качестве диагностического инструмента является высокоэффективным, быстрым, дешевым, простым в исполнении методом, позволяющим идентифицировать *E.*

coli серогруппы O₁₅₇, включая серовар *E. coli* O₁₅₇:H₇ в любой бактериологической лаборатории без специального оборудования и специальной подготовки исполнителей.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-4, 7, 8, 10-28 см. REFERENCES)

5. Подколзин А.Т., Коновалова Т.А., Веселова О.А.. Оценка эффективности схем диагностики энтерогеоморрагического эшерихиоза. Этиологическая верификация гемолитико-уремического синдрома в Российской Федерации. *Терапевтический архив*. 2014; 11: 66-9.
6. Онищенко Г.Г., Дятлов И.А., Светоч Э.А., Воложанцев Н.Н., Баннов В.А., Карцев, Н.Н.. Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 году. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 1: 70-81.
9. Вережкин В.В., Воложанцев В.В., Степаншин Ю.Г., Светоч Э.А., Мякина В.П. Штамм бактериофага *Escherichia coli* V32 для идентификации бактерий *Escherichia coli* серогруппы O157. Патент РФ № 2425877; 2011.

REFERENCES

1. Griffin P.M., Ostoff S.M., Tauxe R.V., Greene K.D., Wells J.G., Lewis J.H. et al. Illnesses associated with *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ infection. A broad clinical spectrum. *Ann. Intern. Med.* 1988; 109: 705-12.
2. Tarr P.I., Gordon C.A., Chandler W.L. Shiga A toxin-producing *Escherichia coli* and hemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005; 365 (9464): 1073-86.
3. Karch H., Tarr P.I., Bielazewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005; 295(6-7): 405-18.
4. Yang S.C., Lin C.H., Aljuffali J.A., Fang J.Y. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Arch. Microbiol.* 2017; 199(6): 811-25.
5. Podkolzin A.T., Kononova T.A., Veselova O.A. Evaluation of the efficiency of diagnostic regimens for enterohemorrhagic escherichiosis. Etiological verification of hemolytic uremic syndrome in the Russian Federation. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 11: 66 – 9. (in Russian)
6. Onishenko G.G., Dyatlov I.A., Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Bannov V.A., Kartsev, N.N. et al. Molecular-genetic characterization of shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated during a foodborne outbreak in St. Petersburg in 2013. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2015; 70(10): 70-81. (in Russian)
7. Soon J.M., Seaman P., Baines R.N. *Escherichia coli* O₁₀₄:H₄ outbreak from sprouted seeds. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2013; 216(3): 346-54.
8. Ferens W.A., Hovde C.J. *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇: animal reservoir and source of human infection. *Foodborne pathog. Dis.* 2011; 8(4): 465-80.
9. Verevkin V.V., Volozhantsev V.V., Stepanshin Yu.G., Svetoch E.A., Myakinina V.P. The strain of bacteriophage *Escherichia coli* V32 for the identification of bacteria *Escherichia coli* serogroup O₁₅₇. Patent RF № 2425877; 2011. (in Russian)
10. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., De Jongh M., Disz T., Edwards R.A. et al. The RAST server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*. 2008; 9: 75.
11. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215: 403-10.
12. Michino H., Araki K., Minami S., Tayaka S., Sakai N., Miyazaki M. et al. Massive outbreak of *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ infection in school children in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am. J. Epidemiol.* 1999; 150(8): 787-96.

13. Khakhria R., Duck D., Lior H. Extended phage-typing scheme for *Escherichia coli* O157:H7. *Epidemiol. Infect.* 1990; 105(3): 511-20.
14. Mora A., Blanco M., Blanco J.E., Alonso M.P., Dhahi G., Thomson-Carter F. et al. Phage types and genotypes of shiga toxin – producing *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ isolates from humans and animals in Spain: identification and characterization of two predominating phage types (PT2 and PT8). *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(9): 4007-15.
15. Tozzoli R., Grande L., Michelacci V., Fioravanti R., Gally D., Xu X. et al. Identification and characterization of a peculiar *vtx2*-converting phage frequently present in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ isolated from human infections. *Infect. Immun.* 2014; 82(7): 3023-32.
16. Sheng H., Knecht H.J., Kudva I.T., Hovde C.J. Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ levels in ruminants. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72(8): 5359-66.
17. Dini C., De Urraza P.J. Isolation and selection of coliphages as potential biocontrol agents of enterohemorrhagic and shiga toxin-producing *E. coli* (EHEC and STEC) in cattle. *J. Appl. Microbiol.* 2010; 109(3): 873-87.
18. Xu Y., Liu Y., Pei J., Yao S., Cheng C. bacteriophage therapy against enterobacteriaceae. *Virol. Sin.* 2015; 30(1): 11-8.
19. Brüssow H. Phage therapy: the *Escherichia coli* experience. *Microbiology*. 2005; 151(7): 2133-40.
20. Yang S.C., Aljuffali I.A., Fang J.Y. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Arch. Microbiol.* 2017; 199(6): 811-25.
21. Aleshkin A.V., Volozhantsev N.V., Svetoch E.A., Verevkin V.V., Krasilnikova V.M., Bannov V.A. et al. Bacteriophage cocktail in prophylaxis against food-borne infections. *Worldwide Research Efforts in the Fighting against Microbial Pathogens: From Basic Research to Technological Developments*. Edited A.Mendez-Vilas. Brown-Walker Press. 2013; 100-4.
22. Tomat D., Migliore L., Aquili V., Quiberoni A., Balagué C.. Phage biocontrol of enteropathogenic and shiga toxin-producing *Escherichia coli* in meat products. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; 3: 20.
23. Goodridge L.D., Bisha B. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. *Bacteriophage*. 2011; 1(3): 130-7.
24. Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Górski A.. Phages in the global fruit and vegetable industry. *J. Appl. Microbiol.* 2015; 118(3): 537-56.
25. Greer G.G. Bacteriophage control of foodborne bacteria. *J. Food Prot.* 2005; 68(5): 1102-11.
26. Nui Y.D., Stanford K., Kropinski A.M., Ackermann H.-W., Johnson R.P., She Y.-M. et al. Genomic, proteomic and physiological characterization of a T5-like bacteriophage for control of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇. *PLoS One*. 2012; 7(4): e34585.
27. Nui Y.D., Stanford K., Ackermann H.-W., McAllister T.A. Characterization of 4 T1-like lytic bacteriophages that lyse Shiga-toxin *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇. *Can. J. Microbiol.* 2012; 58(7): 923-7.
28. Niu Y.D., Johnson R.P., Xu Y., McAllister T.A., Sharma R., Louie M., et al. Host range and lytic capability of four bacteriophages against bovine and clinical human isolates of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇. *J. Appl. Microbiol.* 2009; 107(2): 646-56.

Поступила 23.11.18

Принята к печати 30.11.18



Рис. 1. Негативные колонии бактериофага V32 на газоне *E. coli* O₁₅₇:H₇.

К ст. Э.А. Светоч и соавт.

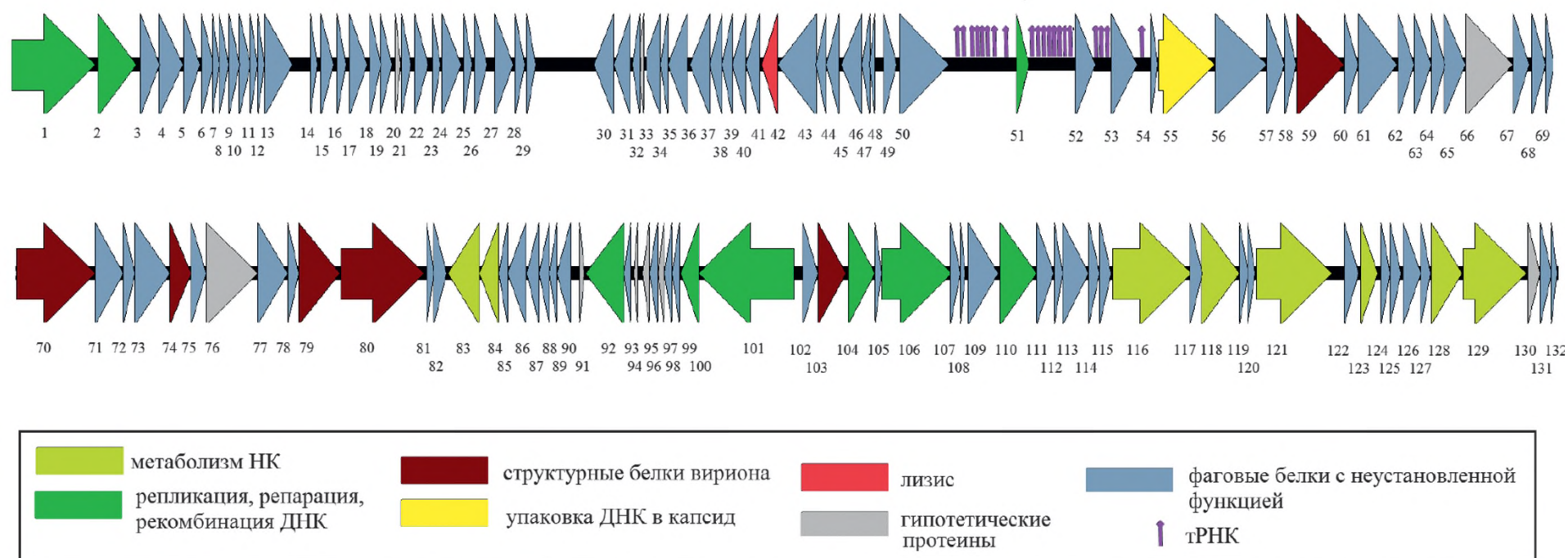


Рис. 2. Организация генома бактериофага V32.