

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

8 • 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

АВГУСТ

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 03.07.2019.
Подписано в печать 20.07.2019.
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 издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Журнал представлен в базе данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) и в следующих международных информационно-справочных изданиях: Abstracts of Microbiology, Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost 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), Thomson 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. № 8. 449–512.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор А.Ю. МИРОНОВ

А.Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ, В.В. ДОЛГОВ, Г. Н. ЗУБРИХИНА, А.А. ИВАНОВ, С.А. ЛУГОВСКАЯ, В.Т. МОРОЗОВА, Л.М. ПИМЕНОВА (ответственный секретарь), Л.М. СКУИНЬ, А.А. ТОТОЛЯН, И.П. ШАБАЛОВА

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А.Н. АРИПОВ (*Ташкент*), Т.В. ВАВИЛОВА (*Санкт-Петербург*), I. WATSON (*Великобритания, Ливерпуль*), А.Ж. ГИЛЬМАНОВ (*Уфа*), Д.А. ГРИЩЕНКО (*Красноярск*), В.С. ГУДУМАК (*Кишинёв*), Н.Г. ДАШКОВА (*Москва*), В.А. ДЕЕВ (*Киев*), Т.И. ДОЛГИХ (*Омск*), С.А. ЕЛЬЧАНИНОВА (*Барнаул*), А.В. ИНДУТНЫЙ (*Омск*), А. KALLNER (*Швеция, Стокгольм*), А.И. КАРПИЩЕНКО (*Санкт-Петербург*), 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-Петербург*), С.В. ЦВИРЕНКО (*Екатеринбург*), А.Н. ШИБАНОВ (*Москва*), В.Л. ЭМАНУЭЛЬ (*Санкт-Петербург*), Г.А. ЯРОВАЯ (*Москва*)



«Издательство "МЕДИЦИНА"»

OAO IZDATEL'STVO
"MEDITSINA"

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

D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA diagnostika

Volume 64
8 • 2019

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

AUGUST

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 Micology, Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost 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), Thomson Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory.

ISSN 0869-2084.

EDITOR BOARD:

Editor-in-Chief A.Yu MIRONOV

A.B. DOBROVOLSKYI, V.V. DOLGOV, G.N. ZUBRICHINA,
A.A. IVANOV, S.A. LUGOVSKAYA, 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 (*Sara-
tov*), G.M. KOSTIN (*Minsk*), A.G. KOCHETOV (*Moscow*),
N.E. KUSHLINSKII (*Moscow*), G.G. LUNEVA (*Kiev*), A.R. MA-
VZYTOV (*Ufa*), V.N. MALACHOV (*Moscow*), D.D. MEN'SHIKOV
(*Moscow*), E.N. OVANESOV (*Moscow*), Yu.V. PERVUCHIN
(*Stavropol'*), I.V. PICALOV (*Novosibirsk*), Yu.P. REZNIKOV
(*Moscow*), D.B. SAPRIGIN (*Moscow*), S.N. SUPLOTOV (*Tyu-
men'*), 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*)



IZDATEL'STVO "MEDITSINA"

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

БИОХИМИЯ

- Гитель Е.П., Гиндис А.А., Панин В.В., Тугаринова Г.В.* Актуальные аспекты определения и трактовки результатов исследования гликированного гемоглобина 452
- Шень Н.П., Пышминцева Н.П., Пашаев А.Н., Минин А.С., Цирятьева С.Б., Витик А.А., Калининченко А.П.* Пути оптимизации преаналитического этапа лабораторной диагностики в интенсивной терапии и медицине катастроф 459
- Бернс С.А., Шмидт Е.А., Нагирняк О.А., Осокина А.В., Клименкова А.В., Барбараш О.Л.* Роль антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы для прогнозирования отдаленных неблагоприятных исходов у больных острым коронарным синдромом 463
- Гусякова О.А., Мурский С.И., Тукманов Г.В., Комарова М.В.* Особенности метаболического состава спермальной плазмы при различных морфофункциональных патологиях эякулята 469

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Шахвердиева И.Дж.* Изучение гепсидина и других белков – регуляторов обмена железа в различные trimestры беременности 477

ЦИТОЛОГИЯ

- Сарибекян Э.К., Беляков М.М., Славнова Е.Н., Тукмаков А.Ю.* Комплексная морфологическая (цитологическая, гистологическая) диагностика папилломатоза соска в сочетании с субареолярной склерозирующей протоковой гиперплазией (случай из практики) 481

ИММУНОЛОГИЯ

- Еседов Э.М., Акбиева Д.С.* Провоспалительные цитокины в желудочном соке при кислотозависимых заболеваниях до и после стандартной терапии 484
- Артамонова З.А., Намоконов Е.В.* Новые лабораторные показатели в диагностике острой мезентриальной ишемии 490

МИКРОБИОЛОГИЯ

- Пименова А.С., Борисова О.Ю., Петрова М.С., Гадуа Н.Т., Борисова А.Б., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С.* Сравнительные испытания по оценке эффективности ПЦР-диагностики коклюша при использовании на преанатомическом этапе исследования традиционных вязкозных тампонов и универсальных вельюр-тампонов 493
- Савинова Т.А., Бочарова Ю.А., Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Маянский Н.А.* Разнообразие интегронов у blavim-2-несущих карбапенемрезистентных клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa* 497
- Боронина Л.Г., Саматова Е.В.* Применение технологии лазерного светорассеивания для диагностики катетер-ассоциированных инфекций 503
- Червинец В. М., Червинец Ю. В., Кравчук Э. С., Ганина Е. Б.* Динамика изменчивости микробиоты полости рта и толстого кишечника юношей при перемене условий жизни 507

BIOCHEMISTRY

- Gitel E.P., Gindis A.A., Panin V.V., Tugarinova G.V.* Relevant aspects of identification and interpretation of the glycated hemoglobin research findings 452
- Shen N.P., Pishmintseva N.P., Pashaev A.N., Minin A.S., Tsiryateva S.B., Vitik A.A., Kalinichenko A.P.* Optimization of the preanalytical phase of laboratory diagnostics in intensive care and disaster medicine 459
- Berns S.A., Schmidt E.A., Nagirnyak O.A., Osokina A.V., Klimenkova A.V., Barbarash O.L.* The role of the superoxide dismutase for predicting long-term adverse events in patients with acute coronary syndrome 463
- Gusyakova O.A., Murskiy S.I., Tukmanov G.V., Komarova M.V.* Features of the metabolic composition of spermal plasma in different morphofunctional pathologies of the ejaculate 469

HEMATOLOGY

- Shahverdiyeva I.J.* Study of hepsidin and other regulatory proteins in different periods of pregnancy 477

CYTOLOGY

- Saribekyan E.K., Belyakov M.M., Slavnova E.N., Tukmakov A.Yu.* Complex morphological (cytological, histological) diagnostics of papillomatosis nipping in combination with subareolar sclerose protective hyperplasia (case from practice) 481

IMMUNOLOGY

- Esedov E.M., Akbieva D.S.* Proinflammatory cytokines in the gastric juice in acid-related diseases before and after standard therapy 484
- Artamonova Z. A., Namokonov E. V.* New laboratory parameters in the diagnosis of acute mesenteric ischemia 490

MICROBIOLOGY

- Pimenova A.S., Borisova O.Yu., Petrova M.S., Gadua N.T., Borisova A.B., Kafarskaya L.I., Afanasiev S.S.* Comparison of rayon and flocked swabs for collection and transport of deep throat swabs for detection of bacteria causing whooping cough by multiplex real-time PCR assay 493
- Savinova T. A., Bocharova Yu. A., Lazareva A. V., Chebotar I. V., Mayanskiy N. A.* Integron diversity in blavim-2-carrying carbapenem-resistant clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates 497
- Boronina L.G., Samatova E.V.* Application of laser light scattering technique to diagnose catheter-associated infections 503
- Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Kravchuk E.S., Ganina E.B.* Dynamics of variability of microbiotes of the cavity of the mouth and the great intestine of young men when changing the conditions of life 507

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гитель Е.П., Гиндис А.А., Панин В.В., Тугаринова Г.В.

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ТРАКТОВКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА

Централизованная лабораторно-диагностическая служба и Центр крови лабораторно-гемотрансфузиологического комплекса клинического центра ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия

В статье представлены данные литературы о лабораторных критериях выявления и мониторинга течения заболевания у пациентов с диагнозом «сахарный диабет»; освещаются вопросы методических подходов определения гликированного гемоглобина, приводятся результаты собственных исследований гликированного гемоглобина у 149 пациентов в рамках сравнения двух методических подходов, сопоставление результатов, с последующей трактовкой полученных данных. Демонстрируется «случайная» лабораторная находка качественной гемоглинопатии, обсуждаются результаты, признанные невалидируемыми и подход к интерпретации подобных значений. Целью исследования было сопоставление результатов определения гликированного гемоглобина, выполненное хроматографическим и электрофоретическим методами. Для этого 149 пациентам выполнялось определение гликированного гемоглобина из одного образца плазмы, стабилизированной К2 ЭДТА на Bio-Rad D10 и Sebia Capillarys Flex Piercing 2. Сравнительное изучение результатов определения гликированного гемоглобина продемонстрировало разницу в абсолютных значениях, однако, выявлена статистически достоверная ($p < 0,05$) корреляционная связь между значениями гликированного гемоглобина, выраженными в процентах, полученными разными методами. Таким образом, выбор метода определения гликированного гемоглобина в данном случае не является принципиальным, однако, важно придерживаться в лечении и долгосрочном мониторинге одного и того же метода.

Ключевые слова: гликированный гемоглобин; сахарный диабет; хроматография; капиллярный электрофорез.

Для цитирования: Гитель Е.П., Гиндис А.А., Панин В.В., Тугаринова Г.В. Актуальные аспекты определения и трактовки результатов исследования гликированного гемоглобина. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 452-458. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2019-64-8-452-458>

Gitel E.P., Gindis A.A., Panin V.V., Tugarinova G.V.

RELEVANT ASPECTS OF IDENTIFICATION AND INTERPRETATION OF THE GLYCATED HEMOGLOBIN RESEARCH FINDINGS

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University),

The article contains the literature review on laboratory criteria of detection and monitoring of the progression of the disease in patients with the diagnosis of diabetes mellitus. It also covers the issues of methodical approaches to the identification of glycosylated hemoglobin (HbA1c). The findings of author's researches of glycosylated hemoglobin in 149 patients have been given within the framework of comparison of two methodical approaches and comparison of the results with the subsequent classification of the received data. A random laboratory finding of qualitative hemoglobinopathy has been demonstrated, and the results recognized as unqualifiable and the approach to classification of such values have been discussed. Comparison of the results of glycosylated hemoglobin identification performed by different methods. 149 patients underwent a one-stage identification of glycosylated hemoglobin from plasma stabilized with K2-EDTA on Bio-Rad D10 and Sebia Capillarys Flex Piercing 2. Comparative study of the results of glycosylated hemoglobin identification has shown a difference in absolute values. However, a statistically reliable ($p < 0.05$) correlation between the values of glycosylated hemoglobin, expressed as a percentage obtained by different methods, has been revealed. In this case, the choice of a method for identifying glycosylated hemoglobin is not a matter of principal but it is important to adhere to the same method in treatment and long-term monitoring.

Key words: glycosylated hemoglobin; diabetes mellitus; chromatography; capillary electrophoresis.

For citation: Gitel E.P., Gindis A.A., Panin V.V., Tugarinova G.V. Relevant aspects of identification and interpretation of the glycosylated hemoglobin research findings. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 452-458. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-453-458>

For correspondence. Gindis A.A., doctor of klinicheskaya laboratornaya diagnostika; e-mail: agindis@yandex.ru

Information about authors:

Gitel E.P., <https://orcid.org/0000-0001-5089-0249>

Gindis A.A., <https://orcid.org/0000-0002-3959-9482>

Panin V.V., <https://orcid.org/0000-0003-0332-2120>

Tugarinova G.V., <https://orcid.org/0000-0002-0545-4816>

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.03.2019
Accepted 25.06.2019

Для корреспонденции: Гиндис Алла Александровна, врач клин. лаб. диагностики межклинической биохимической лаборатории; e-mail: agindis@yandex.ru

По данным Международной федерации диабета на текущий момент количество пациентов с сахарным диабетом составляет 400 млн человек, а к 2040 г. прогнозируется увеличение числа пациентов с данным заболеванием до 640 млн человек [1]. Столь высокие цифры заболевших людей свидетельствуют о том, что выявление диабета происходит не своевременно. Это связано с его малосимптомным течением, недостаточным объемом первично проведенных исследований (определение уровня глюкозы), игнорирования пациентом рекомендаций врача по оценке состояния углеводного обмена [2]. Диагноз «сахарный диабет» устанавливается на основании уровня глюкозы в крови натощак (в течение не менее 8 и более 14 ч после последнего приема пищи) более 6,1 ммоль/л для капиллярной крови и более 7,0 ммоль/л для венозной плазмы [3]. С 2011 г. ВОЗ одобрила возможность использования гликированного гемоглобина (HbA1c) для диагностики сахарного диабета. Согласно клиническим рекомендациям «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 2017 г. диагноз сахарного диабета устанавливается на основании двукратного определения HbA1c или однократного определения HbA1c + однократного определения уровня глюкозы. В настоящее время исследование гликированного гемоглобина прочно вошло во врачебную практику, ориентируясь именно на этот показатель, врач определяет лечебную тактику в дебюте заболевания и при динамическом наблюдении [4-6]. Анализ данных о взаимосвязи гипергликемии и любых микроангиопатических осложнений показывает, что при снижении содержания HbA1c всего на 1% общий риск таких осложнений уменьшается на 37% [7]. Таким образом, правильный и регулярный контроль углеводного обмена обеспечивает снижение риска осложнений с последующим сокращением ближайшего и отдаленного риска смертности. Учитывая это, диabetологи рекомендуют регулярное исследование уровня гликированного гемоглобина HbA1c не менее 4 раз в год для оценки степени компенсации углеводного обмена [8-10] (табл. 1).

Гликирование – это присоединение сахара в N-концевому валину β-цепей гемоглобина A и происходит в два этапа. Первый этап – быстрый и обратимый (после приема пищи) с формированием лабильного HbA1c. Большая часть лабильного A1c превращается обратно в HbA₀ после высвобождения глюкозы. Второй – с образованием стабильного кетаминного продукта [11]. Гликированный гемоглобин HbA1 составляет 5-7% от общего гемоглобина A. HbA1 разделяется на подгруппы в зависимости от того, какой сахар он связывает: HbA1a связывает фруктоза -1,6 дифосфат или глюкоза -6-фосфат, HbA1b связывает пируват, HbA1c связывает глюкозу. HbA1a, HbA1b называют минорными фракциями. Количественно преобладает фракция HbA1c, поэтому она дает более тесную корреляцию с уровнем гликемии и со степенью выраженности сахарного диабета. Скорость гликирования и количество образующегося гликированного гемоглобина зависят от среднего уровня глюкозы в крови на протяжении срока жизни эритроцитов, поэтому показатель гликированного ге-

моглобина отражает средний уровень гликемии за три месяца, в отличие от однократного измерения глюкозы [12].

Существуют различные методологические подходы к определению гликированного гемоглобина: хроматография, электрофорез, колориметрия, иммунохимия [13]. Не все они отвечают требованиям высокой точности и соответствуют стандартам, принятым в исследовании DCCT (Diabetes Control and Complication Trial). Это послужило основанием для создания национальной программы стандартизации HbA1c NGSP – The National Glycohemoglobin Standardization Program (Национальная программа по стандартизации гликогемоглобина, США), целью которой явилась стандартизация результатов измерения [9]. В последующем методика исследования гликогемоглобина в исследовании UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) была стандартизована по DCCT. Таким образом, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), которым пользовались в вышеуказанных исследованиях, стал референсным. Согласно рекомендациям NGSP главным требованием к стандартизованным методам является воспроизводимость результатов, коэффициент вариации (CV) между независимыми сериями результатов не должен превышать 4% [14].

На текущий момент определение гликированного гемоглобина представлено двумя аналитическими концепциями:

1) сепарация (разделение) на фракции с последующей их количественной оценкой. К этой группе принадлежат методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярного электрофореза и аффинной хроматографии

2) химическое определение: в ходе иммунологической или каскада химических реакций образуются продукты, которые можно детектировать методом иммунотурбодиметрии или колориметрическим методом.

Для этих подходов в рамках преаналитического этапа происходит забор цельной стабилизированной крови (пробирка с ЭДТА). Далее при химическом колориметрическом определении биоматериал подвергают воздействию гемолизирующего агента. При иммунологическом исследовании гемолиза образца не происходит, так как образуется комплекс с гликированным гемоглобином пробы пациента с антигемоглобин A1c антителами. При использовании сепарационных методов из свежей крови изолируются эритроциты, далее происходит удаление остаточных белков, оставшаяся эритроцитарная масса пробы подвергается осмотическому лизису с последующим разделением. Основным преимуществом сепарационных

Таблица 1

Физиологические варианты гемоглобина

Фракция	% содержания
HbA (HbA 0+ HbA1)	96,5
HbA 2	Менее 3,5
Hb F	Менее 1

методов является то, что в этом случае фракция A1c определяется напрямую, а не путём пересчёта общего гликированного гемоглобина на фракцию HbA1c, как в методах второй группы.

При всем многообразии методов, предлагаемых для определения гликированного гемоглобина, наиболее полно соответствует современным требованиям метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в ион – обменной модификации, принятый NGSP как референсный метод и который используется в большинстве ведущих лабораторий мира. Оборудование, работающее по этому принципу, выполняет автоматическое разведение проб и вводит их в аналитический картридж. Прибор подает программируемый градиент буферов с возрастающей ионной силой в картридж, где происходит разделение фракций гемоглобина в соответствии с их ионным взаимодействием с материалом картриджа. Разделенные фракции гемоглобина затем проходят через точную фильтрационную фотометрическую ячейку, где происходит измерение оптического поглощения при 415 нм.

Большое внимание специалистов в последнее время обращено к способу определения гликированного гемоглобина методом капиллярного электрофореза. В процессе капиллярного электрофореза в заполненной электролитом капиллярной колонке происходит движение белков биологического образца от анода к катоду под действием электрического поля и зависит от их массы и заряда. Таким образом, формируется профиль электрофоретической миграции, включающий ряд пиков (также называемых фракциями), каждый из которых соответствует одному или нескольким белкам. Абнормальные гемоглобины, такие как HbS, HbC и HbE, имеют отличную от характерной для HbA электрофоретическую подвижность. Кроме того, из-за остатка сахара (фруктоза -1,6 дифосфат или глюкоза -6-фосфат, пируват, глюкоза), связанного с N-концевой аминокислотой в бета-цепи, HbA_{1c} свойственны меньшее значение изоэлектрической точки и, как результат, электрический заряд, немного отличающийся от характерного для других гемоглобинов HbA₀-типа. Таким образом, в электрофоретическом поле или в ионообменной смоле скорость миграции HbA₁ отличается от скорости HbA₀, что позволяет отделить HbA₁ от HbA₀, имеющего другой заряд. В Российской Федерации по данным ФСВОК-2016 используются следующие методы определения HbA1c: хроматография: ионообменная (ВЭЖХ), аффинная (микроколонки), иммунохимия [15].

На результаты измерения HbA1c влияют: условия взятия, транспортировки и хранения крови; также известно, что хроматографические колонки очень чувствительны к изменениям температуры и pH буфера. Завышенные результаты могут быть у пациентов с талассемиями (при хроматографии HbF движется вместе с HbA1), уремии, приеме высоких доз аспирина, высоком уровне алкоголя, триглицеридов или билирубина в крови [13, 16]. При гемоглинопатиях встречаются как завышенные, так и заниженные уровни HbA1c. Гемоглобины J, K, I, H, Bart и т.д. завышают уровни HbA1c, тогда как гемоглобины S, D,

C, E, G занижают [17, 19]. Степень влияния этих факторов на HbA1c и HbA1 зависит от того каким методом их измеряют, поэтому врач должен знать какой именно метод используется лабораторией. В сложных случаях, когда из-за возможной гемоглинопатии уровень HbA1c определить проблематично, можно исследовать уровень фруктозамина в сыворотке, но необходимо учитывать, что данный показатель отражает уровень гликемии за период 2 – 3 недели.

Референтные интервалы гликированного гемоглобина, приведенные в литературе и разнообразных инструкциях, варьируют в зависимости от типа метода. В настоящее время нет единой международной согласованной стандартизации, по которой все коммерческие методы могли бы быть откорректированы. Значимым обстоятельством является тот факт, что NGSP рекомендует использовать процентные (%) единицы измерения, а Международная федерация клинической химии (IFCC) придерживается мнения, что содержание гликогемоглобина должно выражаться в единицах IFCC (моль HbA1c/моль Hb). Установленная между двумя системами измерений взаимосвязь была проверена многочисленными исследованиями и утверждена документально [3].

Взаимосвязь данных показателей определяется соотношением:

$$NGSP = (0.915 * IFCC) + 2.15 \text{ (из ммоль/моль в \%)}.$$

Так как абсолютные значения NGSP больше значений IFCC всего на 1,5–2 единицы, то одновременное существование двух близких систем оценки вызывает трудности и может явиться предпосылкой к ошибочному истолкованию результатов клиницистами и пациентами. В Российской Федерации принято ориентироваться на процентные значения DCCT (NGSP), но необходимо иметь в виду и эти различия [3]. В современных условиях пациенты могут пользоваться медицинскими услугами в разных городах, странах, поэтому вопрос стандартизации метода, используемых калибровочных и контрольных материалов приобретает существенное значение [19, 20].

На текущий момент лаборатории с ежедневным потоком проб пациентов свыше 500 человек, как правило, используют оборудование с хроматографическим и электрофоретическим принципом определения HbA1c. В межклинической биохимической лаборатории Первого МГМУ им. И.М. Сеченова установлено оборудование, позволяющее работать обоими методами. Повседневная работа по определению гликозилированного гемоглобина проводится на анализаторе Bio-Rad D10. В основе работы прибора лежит референсный метод – жидкостная ионообменная хроматография высокого давления (ВЭЖХ). Коэффициент вариации (CV) <4% (на практике 1-1,5%). Прибор создает градиент концентрации за счет изменения скорости подачи буферов на хроматографическую колонку, благодаря чему происходит разделение различных фракций гемоглобина (A1c, A1a, A1b, LA1c/CHb, A2, F) на ионообменной смоле колонки, затем происходит регистрация фракций путем фотометрии при длине волны 415 нм. Результаты исследований представляются в виде распечатки с хроматограммой и сообщением, идентифицирующим все обнаруженные пики и относительный

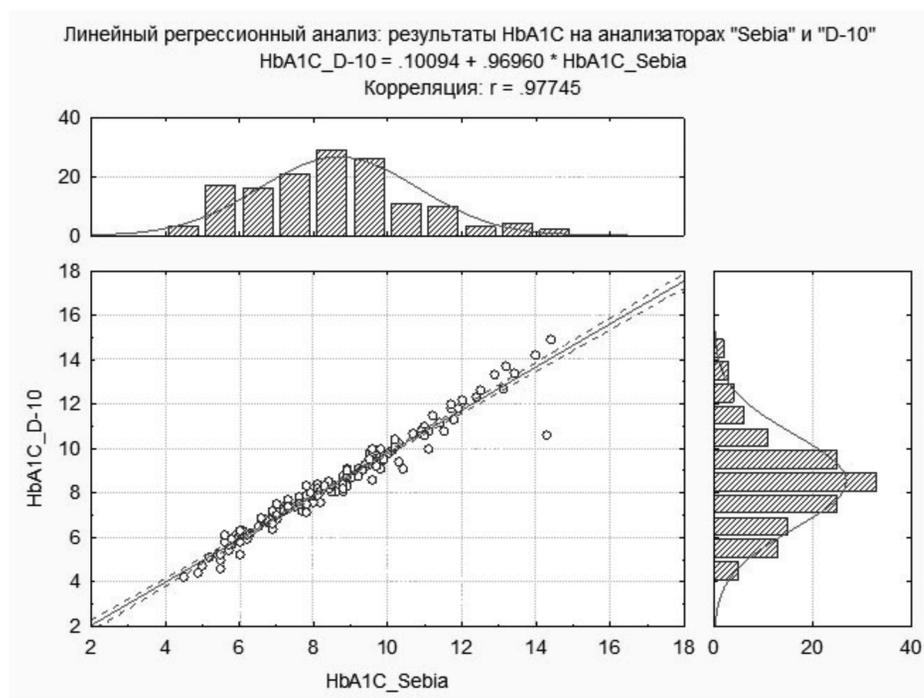


Рис. 1. Результат регрессионного анализа, доказывающий прямой линейный характер взаимосвязи определений гликогемоглобина на анализаторах «Sebia Capillary Flex Piercing 2» и «Bio-Rad D10».

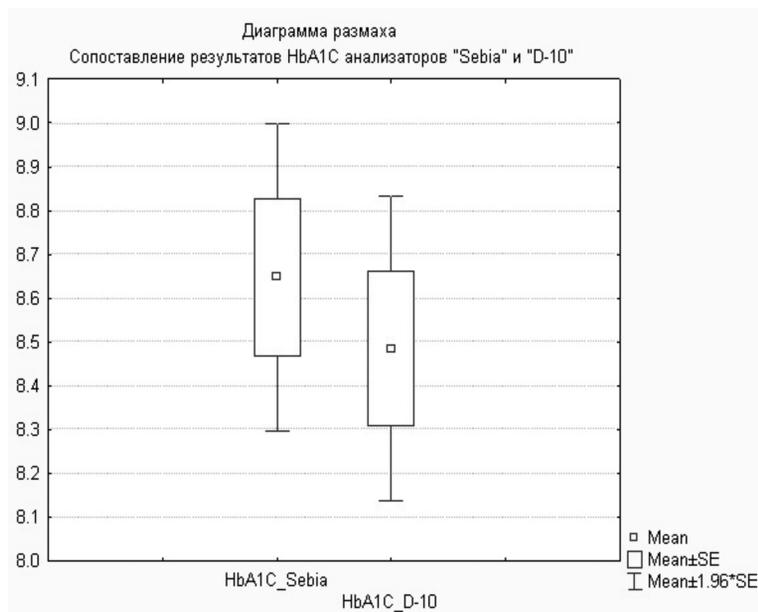


Рис. 2. Диаграмма размаха представляет результат сравнительного анализа между двумя аналитическими системами методом парного Т-теста и позволяет визуально сопоставить средние значения (математические ожидания) и их стандартные ошибки для двух методик определения гликогемоглобина на «Sebia Capillary Flex Piercing 2» (HbA1C_Sebia) и «Bio-Rad D10» (HbA1C_D-10). Значение, изображенное квадратом соответствует среднему значению выборки (Mean). Горизонтальная сторона прямоугольника равна стандартной ошибке для среднего значения (SE). Горизонтальный внешний отрезок соответствует значению стандартной ошибки для среднего, умноженному на 1.96.

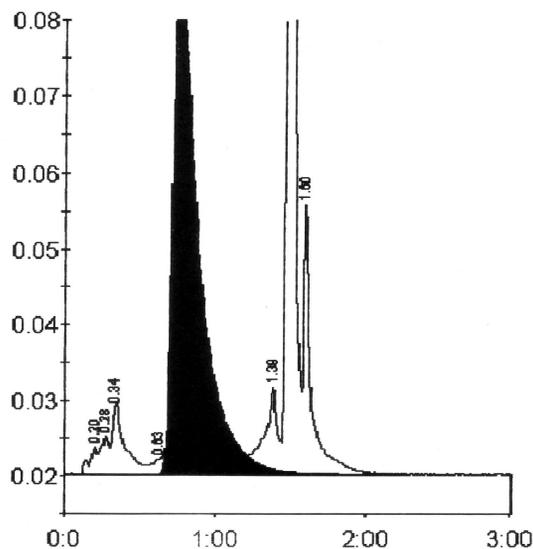
Таблица 2

Описательная статистика выборок результатов определений HbA1C анализаторов «Sebia Capillary Flex Piercing 2» (переменная HbA1C_Sebia) и «Bio-Rad D10» (переменная HbA1C_D-10)

Переменная	Количество наблюдений (n)	Среднее значение (Mean)	Минимальное значение (Min)	Максимальное значение (Max)	Ст.отклонение (Std.Dev.)
HbA1C_Sebia	142	8.647183	4.5	14.4	2.127553
HbA1C_D-10	149	8.522819	4.2	14.9	2.134185

РЕЗУЛЬТАТ АНАЛИЗА

Bio-Rad Дата: 21/09/2018
 D-10 Время: 11:04
 Сер.№: DC2F727815 Версия: 4.30-2
 Образец: 91142914
 Дата Анализа 20/09/2018 12:19
 Анализ №: 21 Метод: HbA1c
 Штатив: — Место: 3



Фракции образца: 91142914

Пик	Вр.Пика	Высота	Площадь	Площ.%
A1a	0.20	3559	11950	0.7
Unknown	0.28	4980	19524	1.2
A1b	0.34	9539	52598	3.2
LA1c/СНb-1	0.63	2041	11350	0.7
A1c	0.76	66780	779606	71.1 *
P3	1.39	11779	74194	4.5
A0	1.48	206462	578310	35.0
Variant-Window	1.60	36438	126100	7.6
Общ. Площ.:		1653631		

Конц. %
A1c 71.1 *

Рис.3. Определение HbA1c хроматографическим методом.

процент каждого пика. Результаты определения уровня фракции HbA1c представлены отдельной строкой. Также лаборатория оснащена прибором капиллярного электрофореза Sebia Capillarys Flex Piercing 2. Коэффициент вариации (CV) <4% (на практике 1-1.5%). Рутинно на данном анализаторе проводится разделение белков на фракции альбумин, альфа 1, альфа 2, бета и гамма-глобулины. Для улучшения диагностических возможностей лаборатории было апробировано электрофоретическое фракционирование гемоглобина с оценкой корреляции результатов определения HbA1c по результатам ВЭЖХ.

Материал и методы. Обследовано 149 пациентов в возрасте от 10 до 80 лет обоих полов, находившихся на обследовании и лечении в стационаре, среди которых 116 пациентов с сахарным диабетом и 34 пациента с различными заболеваниями. Исследования выполнялись из плазмы, стабилизированной K2 ЭДТА из одной пробы в тот день на Bio-Rad D10 и Sebia Capillarys Flex Piercing 2. Из 149 проб результативными на Sebia Capillarys Flex Piercing 2 оказалось 142. Для семи проб неучтенных в анализе электрофоретическая система выдавала предупреждающие сигналы: «Значения HbA1c не отображаются», «Атипичный профиль», «Оптическая плотность образца слишком низкая». После проведения действий, рекомендуемых производителями оборудования, в некоторых из семи образцов были получены результаты, в других цифрового значения результата достигнуто не было. Было принято решение об исключении вышеуказанных семи проб из статистической обработки.

Результаты и обсуждение. Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и параметрической статистики, с предварительной проверкой гипотезы о нормальности распределения выборок и равенства дисперсий (табл. 2). Для автоматизации статистической обработки использован аналитический пакет Statistica for Windows 8.0. Оценку соответствия распределения данных выполняли с помощью критерия согласия Колмогорова-Смирнова.

Для проверки взаимосвязи между двумя методиками определения гликогемоглобина применяли корреляционный и регрессионный анализ. Корреляционный анализ определил прямой характер взаимосвязи переменных (коэффициента корреляции: $r = 0,98$).

С помощью линейного регрессионного анализа определили параметры прямой, которая наилучшим способом предсказывает значение одной переменной на основании значения другой согласно формуле: $HbA1c_{D-10} = .10094 + .96960 * HbA1c_{Sebia}$. (рис. 1.)

Для выполнения сравнительного анализа между двумя аналитическими системами применялся статистический метод парного T-теста. При сравнении двух методик мы изначально исходили из того, что они не отличаются (нулевая гипотеза H_0). В результате проведенного анализа была отвергнута нулевая гипотеза и принята гипотеза H_1 с уровнем значимости $\alpha=0,05$. Таким образом, можно заключить, что имеются достоверные различия ($p<0,05$) между двумя методиками определения гликогемоглобина на «Bio-Rad D10» и «Sebia Capillarys Flex Piercing 2» (рис. 2).

Данное утверждение можно проиллюстрировать следующим клиническим примером. В лабораторию поступила кровь пациента 65 лет, уроженца Северного Кавказа, находившегося на лечении в гастроэнтерологическом отделении, госпитализированного с диагнозом рефлюкс – эзофагит (рис. 3).

В биохимическом анализе крови: общий белок 78,4 г/л; альбумин 47,6 г/л; глюкоза 5,4 ммоль/л; мочевая кислота 317 мкмоль/л; креатинин 105,1 мкмоль/л; азот мочевины 7,8 ммоль/л; билирубин общий 20,9 мкмоль/л; билирубин прямой 6,2 мкмоль/л; кальций ионизированный 1,3 ммоль/л; железо 21,9 мкмоль/л;

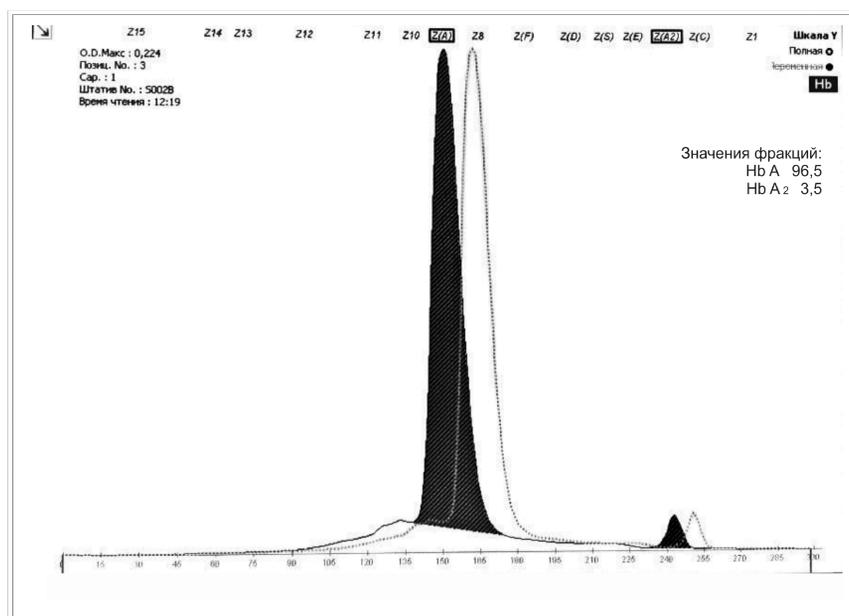


Рис.4. Определение HbA1C электрофоретическим методом.

трансферрин 3,1 г/л; % насыщения железом 27,96%; щелочная фосфатаза 191 ед/л (референсный интервал 70 – 360); АСТ 28 ед/л; АЛТ 34 ед/л; ГГТ 33 ед/л; амилаза 119 ед/л (референсный интервал 28 – 100); СРБ 0 мг/л. В общем анализе крови гемоглобин 156 г/л; эритроциты $5,51 \times 10^{12}/л$; лейкоциты $7,57 \times 10^9/л$; тромбоциты $170 \times 10^9/л$. В лейкоцитарной формуле – эозинофилия до 9% (в абсолютном значении $0,68 \times 10^9/л$), остальные параметры без особенностей. При количественном определении гликированного гемоглобина методом ВЭЖХ на анализаторе D-10, Bio-Rad, был получен результат, представленный на рис. 3. Очевидно, что результат определения HbA1C 71,1% нельзя считать диагностически достоверным, т.к. на представленной хроматограмме в зоне HbA1C появился пик мутационного гемоглобина. Нами была предпринята попытка исследовать плазму данного пациента на гликированный гемоглобин другим методом. Возможной альтернативой в данном случае является электрофоретическое определение. Мы предположили, что форма мутационного гемоглобина будет мигрировать в другую область, где не будет перекрывать пик HbA1C. Исследование было проведено на Sebia Capillarys Flex Piercing 2. Полученный результат представлен на рис. 4.

В ходе определения фракции гликированного гемоглобина не было выявлено, однако появилась патологическая фракция HbA2. Очевидно, что в данном случае результаты, полученные двумя способами не подлежат валидации. В отделение было направлено пояснение о целесообразности проведения генетического исследования с целью установления качественной мутации гемоглобина. Для оценки состояния углеводного обмена данного пациента можно использовать определение фруктозамина, который представляет собой более кратковременный индекс гликемии по сравнению с

гликированным гемоглобином. Данный пример демонстрирует, что случайные лабораторные находки, интерпретируемые как «невалидируемые результаты» необходимо перепроверять методически разными способами, а также что любые результаты исследования должны быть сопоставимы с другими лабораторными показателями. Использование этого принципа позволит исключить лабораторно-диагностическую ошибку. Результаты исследования указывают, что изученные методики обладают сравнимой диагностической ценностью и хорошей корреляцией, однако, имеются достоверные различия между числовыми значениями гликогемоглобина, полученными с использованием разных методик.

Выводы

1. Методики определения гликированного гемоглобина – хроматографическая на анализаторе Bio-Rad D10 и электрофоретическая на Sebia Capillarys Flex Piercing 2 обладают сравнимой диагностической ценностью.
2. Сравнительное изучение результатов определения гликированного гемоглобина продемонстрировало разницу в абсолютных значениях, однако, выявлена статистически достоверная ($p < 0,05$) корреляционная связь между значениями гликированного гемоглобина, выраженными в процентах, полученными двумя вышеуказанными методами.
3. При исследовании гликированного гемоглобина очень важно как информировать клиницистов о методе исследования, так и обязательно указывать его на бланке результата анализа наряду с референсным значением метода.
4. Необходимо обратить внимание клиницистов на тот аспект, что динамическое наблюдение пациента и коррекция терапии должны осуществляться в рамках одного метода.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2,4-14, 16-20
см. REFERENCES)

3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. Стандарты специализированной диабетической помощи. Издание 8. М.: UP-print; 2017.
15. Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Исаева О.Н. Выбор аналитической системы для определения гликированного гемоглобина. *Лабораторная служба.* 2018; 7(4):58-9.

REFERENCES

1. Health Organization. Global report on diabetes. Geneva; 2018; 11-85. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275388/9789244565254-rus.pdf?ua=1>
2. Harris M I. Diabetes in America. Epidemiology and scope of the problem. *Diabetes Care* 1998; 21 (3): 11.
3. Dedov I.I., Shestakova M.V., Mayorov A.Y. Standards of specialized diabetes care; 8th ed. Moscow: UP Print; 2017; 20(1S): 11-3. (in Russian)
4. Hortensius J, Kleefstra N, Houweling S.T., van der Bijl J.J. Gans R.O.B., Bilo H.J.G. What do professionals recommend regarding the frequency of self-monitoring of blood glucose? *Netherlands Journal of Medicine.* 2012; 70(6): 287-91.
5. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendation (Position Statement). *Diabetes Care.* 2001; 24 (1): 33-55.
6. Hirsch I.B., Brownlee M. Beyond hemoglobin A1c-need for additional markers of risk for diabetic microvascular complications. *The Journal of the American Medical Association.* 2010; 303(22): 2291-2.
7. Stratton I.M., Adler A. I., Neil H.A. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes

- (UKPDS 35). Prospective observational study. *BMJ.* 2000: 321 - 405.
8. Daneman D., Wolfson D.H., Becker D.J. Factors affecting glycosylated hemoglobin values in children with insulin – depended diabetes. *Pediatr.* 1981; 99-107.
9. Drash A.L., Kingsley L.A., Dofit B. Observation on the effects of changing therapeutic strategies on metabolic status and microvascular complications in IDDM. *Pediatr. Adolesc Endocrinol.* 1988; 17-20.
10. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Variability in the relationship between mean plasma glucose and HbA1c: implications for the assessment of glycemic control. *Clinical Chemistry.* 2007; 53(5): 897-901.
11. Clinical chemistry. Kaplan L.A., Pesce A.J., eds. New York., 1986.
12. Koenig R.J., Peterson C.M., Jones R.L. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1976; 295 – 417.
13. Gabbay K.H., Hasty K., Breslow J.L. Glycosylated hemoglobins and long – term blood glucose control in diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab;* 1977; 44-85.
14. [http:// www.ngsp.org/prog/index.html](http://www.ngsp.org/prog/index.html) (accepted July 25, 2007)
15. Verшинina M. G., Steriopolo N.A., Isaeva O.M., Choice of analytical system for determination of glycated hemoglobin . *Laboratornaya sluzhba.* 2018; 3: 58-9. (in Russian)
16. Bunn H.F. Evaluation of glycosylated hemoglobin in diabetic patients. *Diabetes.* 1981; 30-61.
17. Factors that Interfere with HbA1c Test Results. NGSP. Accessed July 09, 2018. <http://www.ngsp.org/factors.asp>.
18. Eberentz-Lhomme C., Ducrocq R., Intrator S.: Haemoflobinopathies: A pitfall in the assessment of glycosylated hemoglobin by ion-exchange chromatography. *Diabetologia.* 1984; 27-39.
19. Renata Palerari, Andrea Mosca: Standardization of the HbA₂ assay/ *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2018; 29 (4): 298-302.
20. Molinaro R. J. Targeting HbA1c: standardization and clinical laboratory measurement. *Med. Lab. Obs.,* 2008; 1: 10-9.

Поступила 10.03.19

Принята к печати 25.06.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Шень Н.П.^{1,2,4}, Пышминцева Н.П.², Пашаев А.Н.¹, Минин А.С.^{2,3}, Цирятева С.Б.^{1,2},
Витик А.А.^{1,4}, Калининченко А.П.²

ПУТИ ОПТИМИЗАЦИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ И МЕДИЦИНЕ КАТАСТРОФ

¹ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет, кафедра акушерства, гинекологии и реаниматологии с курсом клинико-лабораторной диагностики, 625023, Тюмень, Россия;

²ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1», 625032 Тюмень, Россия;

³Территориальный центр медицины катастроф Тюменской области, 625032, Тюмень, Россия;

⁴Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634009, Томск, Россия

У пациентов, находящихся в критическом состоянии, использование технологий РОС позволяет предотвратить ряд осложнений, связанных с удлинением преаналитического этапа и изменением результатов ряда показателей, что может способствовать оптимизации лечебного процесса. Проведенные исследования показали, что удлинение преаналитического этапа вносит ряд погрешностей в результаты лабораторных исследований. В статье приводятся основные проблемы, связанные с этим процессом и возможные пути их решения.

Ключевые слова: прикроватные методы лабораторной диагностики; *point of care*; преаналитический этап; реанимация; интенсивная терапия; медицина катастроф.

Для цитирования: Шень Н.П., Пышминцева Н.П., Пашаев А.Н., Минин А.С., Цирятева С.Б., Витик А.А., Калининченко А.П. Пути оптимизации преаналитического этапа лабораторной диагностики в интенсивной терапии и медицине катастроф. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64 (8): 459-462. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-459-462>

Shen N.P.^{1,2,4}, Pishmintseva N.P.², Pashaev A.N.¹, Minin A.S.^{2,3}, Tsiryateva S.B.^{1,2}, Vitik A.A.^{1,4}, Kalinichenko A.P.²

OPTIMIZATION OF THE PREANALYTICAL PHASE OF LABORATORY DIAGNOSTICS IN INTENSIVE CARE AND DISASTER MEDICINE

¹FGBOU VO Tyumen State Medical University, Department of obstetrics, gynecology and resuscitation with a course of clinical and laboratory diagnostic, 625023 Tyumen, Russia;

²GBUS TO «Regional clinical hospital №1», 625032 Tyumen, Russia;

³Territorial center of disaster medicine of Tyumen region, 625032 Tyumen, Russia;

⁴Tyumen cardiology research center, Tomsk national research medical center of the Russian Academy of science, Tomsk, Russia

The use of point-of-care diagnostics can prevent a number of complications and leading to improved health outcomes for patients in critical condition. Research have shown that elongation of the preanalytic stage leading of errors of studies and changes the results of a number of laboratory parameters. The article presents the key problems associated with the elongation of the preanalytic stage and possible solutions to address the shortcomings of existing diagnostics.

Key words: *point-of-care diagnostics; preanalytical phase; resuscitation; intensive care; disaster medicine.*

For citation: Shen N.P., Pishmintseva N.P., Pashaev A.N., Minin A.S., Tsiryateva S.B., Vitik A.A., Kalinichenko A.P. Optimization of the preanalytical phase of laboratory diagnostics in intensive care and disaster medicine. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 459-462. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-459-462>

For correspondence: Shen N.P., the doctor of medical sciences, chairman of department of obstetrics, gynecology and resuscitation with a course of clinical and laboratory diagnostic; e-mail: nataliashen@rambler.ru

Information about authors:

Shen N.P., <https://orcid.org/0000-0002-3256-0374>

Pishmintseva N.P., <https://orcid.org/0000-0002-0870-7292>

Minin A.S., <https://orcid.org/0000-0002-9600-5580>

Tsiryateva S.B., <https://orcid.org/0000-0002-3881-2851>

Vitik A.A., <https://orcid.org/0000-0002-0585-3489>

Kalinichenko A.P., <https://orcid.org/0000-0003-4511-8304>

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 23.05.2019
Accepted 31.05.2019

Для корреспонденции: Шень Наталья Петровна, д-р мед. наук, зав. каф. акушерства, гинекологии и реаниматологии с курсом клинико-лабораторной диагностики; e-mail: nataliashen@rambler.ru

Введение. Около 60–70% клинических решений, касающихся приема, назначения и выписки лекарственных препаратов, а также тактических решений, основаны на лабораторных результатах. Поскольку они играют значительную роль, пристальное внимание сегодня обращено на качество лабораторных анализов [1; 2]. Клинические лаборатории играют ключевую роль в диагностике и лечении пациентов, поскольку они предоставляют данные анализа биологических сред организма, необходимые для диагностики и мониторинга состояния. Лабораторные ошибки приводят к ряду клинических проблем, включая задержку диагностики; влекут за собой дополнительные исследования, а также погрешности в диагностике и лечении [3,5,6]. Преаналитические ошибки составляют примерно 60-70% всех лабораторных погрешностей. Основными их источниками являются неподходящий запрос на тестирование, неадекватная подготовка пациента, проблемы со сбором образцов, их транспортировкой и подготовкой к тестированию [2,3,6].

Снижение количества ошибок в преаналитической фазе имеет важное значение для обеспечения экономической эффективности, удовлетворенности пациентов и качественного лабораторного сопровождения [7,9]. В последние несколько десятилетий наблюдается значительное снижение частоты аналитических ошибок в клинических лабораториях. Фактические данные свидетельствуют о том, что пре- и постаналитические этапы всего процесса тестирования более подвержены ошибкам, чем аналитическая фаза. Большинство ошибок выявляются на этапах до и после анализа, за пределами лаборатории [8]. При подходе, ориентированном на пациента, сегодня необходимо исследовать любой возможный дефект, который может оказать негативное влияние на пациента, особенно, находящегося в критическом состоянии.

Важную роль играет не только точность исследования, но и время получения результата. Задержка в лабораторной диагностике приводит к несвоевременному началу лечения и может повлиять на увеличение продолжительности госпитализации в отделении интенсивной терапии, что, безусловно, сопровождается неблагоприятными клинико-экономическими эффектами. Вместе с тем, аналитические ошибки могут быть сведены к минимуму благодаря прогрессу в технологиях и внедрению автоматизации при условии соблюдения надлежащей практики контроля качества [4].

Одним из выходов в сложившейся ситуации также является внедрение в практику устройств экспресс-лабораторной диагностики по месту лечения пациентов (диагностика по месту лечения или диагностика у постели больного, т.е. технология «point of care» – POC). Диагностическая ценность прикроватных методов лабораторной диагностики неоспорима: в режиме «online», минуя значительный интервал времени на преаналитический этап, врач, в частности, анестезиолог-реаниматолог может получить ценную информацию, позволяющую внести коррективы в интенсивную терапию больного.

Цель исследования: изучение достоверности лабораторных данных, влияющих на тактику лечения, с учетом различной длительности и характеристик преаналитического этапа.

Материал и методы. На базе ГБУЗ ТО «ОКБ №1» г. Тюмени проведено изучение достоверности лабораторных данных, влияющих на тактику лечения, с учетом различной длительности и характеристик преаналитического этапа, а также исследование диагностической

ценности прикроватной лабораторной диагностики «point of care» (POC) для принятия тактического решения в медицине катастроф, реанимации и интенсивной терапии. Исследование проведено в 2 этапа.

На первом этапе выполнялось изучение изменений результатов лабораторных тестов в зависимости от длительности преаналитического этапа и лабораторных емкостей для доставки материала (крови пациента). С этой целью был выполнен одномоментный забор артериальной крови у одного пациента и размещен в 2 вида лабораторных емкостей: закрытую систему взятия крови, состоящую из шприца-пробирки и иглы S-Monovette (Германия) и артериальный пробозаборник ComfortSampler со стеклянным капилляром в пластиковой корпусе (Интермедика). Согласно инструкции, ComfortSampler позволяет, консервируя пробу в термоконтейнере, транспортировать ее в клиничко-диагностическую лабораторию, находящуюся удаленно. ComfortSampler является устройством забора образца, минимизирующим потенциальные ошибки, связанные с измерением газов и электролитов в артериальной крови, он позволяет производить быстрый и безопасный забор артериальной крови пациента, создавая минимальное артериальное давление и обеспечивая лучшую стабильность образца. Игла 25 мм с коротким срезом снижает болевые ощущения и появление гематом в месте пункции, что является наиболее важным критерием для пациента. Всего было отобрано 10 проб, 2 из которых из разных емкостей были исследованы непосредственно после взятия крови, а остальные пары размещены в холодильнике при температуре +6°C. Дальнейшие исследования выполнялись с интервалом в 2 ч – т.е. спустя 2, 4, 6 и 8 ч от момента взятия образца от больного. Парные исследования выполнялись в одной и той же лаборатории на одном и том же аппарате – анализаторе критических состояний «Cobas b221» (Roche).

Второй этап исследования также проводился парным методом. Одновременно проводился отбор двух проб у одного пациента: первая проба немедленно исследовалась аппаратом i-Stat (портативный анализатор для экспресс-диагностики критических состояний, Abbott), вторая отправлялась в клиничко-диагностическую лабораторию стационара. В исследование вошли 8 пациентов, у которых выполнено 44 пары исследований. Анализу подвергались показатели газового состава крови, уровень лактата и электролиты сыворотки крови. Пары исследований были обработаны методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Парный метод исследования артериальной крови у одного пациента с различными временными экспозициями показал отсутствие статистической значимости отличий между пробами, набранными в пробирку и в капилляр артериального пробозаборника по большинству параметров. Исключение составил уровень хлора в сыворотке крови – в пробирке он был выше, чем в капилляре ($p=0,003$; $t=4,4$), в то время как анионный интервал – ниже ($p=0,007$; $t=3,68$). Наиболее принципиальным, на наш взгляд, явилось статистически значимое отклонение показателя paO_2 – в пробирке уровень парциального напряжения кислорода оказался значительно выше, чем в капилляре – $225,8 \pm 12$ мм рт.ст. против $182,8 \pm 5,7$ мм рт.ст. ($p=0,001$; $t=3,24$), что, на наш взгляд, очень важно для оценки объективности данных в практическом использовании в условиях с удлинением преаналитического этапа. При сравнении с первичным определением (197 мм рт.ст. в пробирке и $194,9$ мм рт.ст. в капилляре)

Таблица 1

Показатели газового состава крови и кислотно-основного состояния в парах

Показатели	Группа i-Stat, n=44	Группа клинико-диагностической лаборатории, n=44	Статистическая значимость отличий, t-критерий Стьюдента, значение p
pH	7,4±0,01	7,39±0,01	0,71; 0,48
pCO ₂ , мм рт.ст.	52,5±2,7	47,8±1,7	1,47; 0,14
pO ₂ , мм рт.ст.	42,2±1,7	47,8±2,3	1,96; 0,05*
BE моль/л	7,53±1,0	4,36±0,7	2,6; 0,01*
HCO ₃ ⁻ , моль/л	32,1±1,0	28,6±0,7	2,87; 0,005*
SpO ₂ , %	73,8±1,9	78,4±1,4	1,95; 0,05*
AnGap, моль/л	14,5±1,8	9,9±0,5	2,46; 0,01*

Примечание.* - отличия статистически значимы.

Таблица 2

Показатели электролитного состава крови, гликемии и лактата в парах

Показатели	Группа i-Stat, n=44	Группа клинико-диагностической лаборатории, n=44	Статистическая значимость отличий, t-критерий Стьюдента, значение p
Na, моль/л	140,0±1,5	139,6±1,19	0,21; 0,8
K, моль/л	4,2±0,1	4,46±0,1	1,84; 0,06
iCa, моль/л	1,31±0,02	1,19±0,01	5,37; <0,001*
Cl, моль/л	99,9±2,9	101,4±1,3	0,49; 0,6
Глюкоза, моль/л	12,8±1,1	12,6±0,8	0,15; 0,8
Лактат, моль/л	2,1±0,5	2,03±0,18	0,13; 0,8

Примечание.* - отличия статистически значимы.

можно сделать заключение, что капилляр артериального пробозаборника является более приемлемым для использования в ситуациях с удлинёнными преаналитическим этапом. Такая ситуация может складываться в стационарах I и II уровня с удалёнными лабораториями, а также во время межгоспитальной транспортировки пациентов в критическом состоянии.

При отсутствии технической возможности выполнения исследований газового состава крови в пути, нами выполнены отсроченные измерения с применением капилляра артериального пробозаборника во время транспортировки 4 пациентов на искусственной вентиляции легких. Ретроспективный анализ помог уточнить ряд технических особенностей транспортных аппаратов ИВЛ и выполнить корректировку параметров вентиляции в дальнейшем.

На втором этапе исследование проводилось в отделении реанимации. Выполнение лабораторных тестов на аппарате i-Stat в среднем заняло 3 мин от момента забора пробы до момента получения результата. Преаналитический этап при исследовании пробы в клинико-диагностической лаборатории стационара составил 20±12,5 мин [3-8]. Для клинико-диагностической лаборатории пробы отбирались в шприцы-пробирки с иглами S-Monovette, аналогичные первому этапу исследования. Изучение газового состава крови в парах показало, что уровень pO₂ статистически значимо возрастает при удлинении преаналитического этапа (p=0,05) аналогично первому исследованию, выполненному из пробирок, также как уровень SpO₂ (p=0,05), снижаются показатели BE (p=0,01), HCO₃⁻ (p=0,005), сокращается анионный интервал (p=0,01), что способно внести значительные погрешности в оценку газового состава крови и в среднем на 20 мин удлинить время принятия решения, например, о смене параметров искусственной вентиляции легких (табл. 1).

Оценка электролитного состава, гликемии и лактата сыворотки крови продемонстрировала меньшие по-

грешности. Так, статистически значимые отличия были отмечены лишь в уровне ионизированного кальция (p<0,001) (табл. 2).

Выводы:

1. Исследование погрешностей, вносимых удлинённым преаналитическим этапом (от 2 до 8 ч при условии хранения пробы при температуре +6⁰C) демонстрирует значимое отклонение показателя paO₂ в пробирках, традиционно применяемых для отбора лабораторных проб в отделении реанимации. Уровень парциального напряжения кислорода в них с удлинением времени хранения пробы значительно завышается в сравнении с капилляром артериального пробозаборника – 225,8±12 мм рт.ст. против 182,8±5,7 мм рт.ст. (p=0,001; t=3,24), что, принципиально для практического использования в условиях с удлинённым преаналитическим этапом.

2. При отсутствии технической возможности проведения лабораторных тестов в режиме «online» капилляр артериального пробозаборника является более приемлемым для использования в ситуациях с удлинёнными преаналитическим этапом.

3. В сравнении с системой «point of care» (POC) удлинённый преаналитический этап при исследовании газового и электролитного состава крови в клинической лаборатории у пациентов отделения реанимации в среднем составляет 20 минут. За это время диагностическая ценность таких показателей, как pO₂, SpO₂, BE, HCO₃⁻, анионный интервал и уровень ионизированного кальция снижается, статистически значимо отличаясь от результатов, полученных методом прикроватного исследования.

4. У пациентов, находящихся в критическом состоянии, использование технологий POC позволяет предотвратить ряд осложнений, связанных с удлинённым преаналитическим этапом и изменением результатов ряда показателей, что может способствовать оптимизации лечебного процесса.

5. Подходящим местом применения устройств типа i-Stat являются медицинские стационары I и II уровня с общим коечным фондом отделений реанимации и интенсивной терапии от 1 до 12 коек, часто не полностью оснащенных стационарными приборами для лабораторной диагностики. В данных лечебных учреждениях эксплуатация прибора i-Stat позволит полностью заменить функцию экспресс-лаборатории и частично лаборатории клинической диагностики стационара.

6. При межгоспитальной транспортировке пациентов применение РОС – технологий поможет избежать ряда трудностей, связанных с выбором режима искусственной вентиляции легких. В отсутствие технической возможности проведение ретроспективных исследований оптимально осуществлять с помощью артериальных пробозаборников, например, системы ComfortSampler.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Abdollahi A., Saffar H., Saffar H. Types and frequency of errors during different phases of testing at a clinical medical laboratory of a teaching hospital in Tehran, Iran. *N. Am. J. Med. Sci.* 2014; 6: 224–8.
2. Arul P., Pushparaj M., Pandian K., Chennimalai L., Rajendran K., Selvaraj E., Masilamani S. Prevalence and types of preanalytical error in hematology laboratory of a tertiary care hospital in South India. *J. Lab. Physicians.* 2018 Apr-Jun; 10(2): 237–40.
3. Cakirca G. The Evaluation of Error Types and Turnaround Time of Preanalytical Phase in Biochemistry and Hematology Laboratories. *Iran J. Pathol.* 2018 Spring; 13(2): 173–178. Published online 2018 Jul 17.
4. Harsimran Kaur V.N., Selhi P.K., Sood N., Singh A. Preanalytical errors in hematology laboratory – an avoidable incompetence. *Iran J. Pathol.* 2016;11:151–4.
5. Howanitz P.J. Errors in laboratory medicine: practical lessons to improve patient safety. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005;129(10):1252–61.
6. Lippi G., Chance J.J., Church S., Dazzi P., Fontana R., Giavarina D., et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011;49(7):1113–26.
7. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin. Chim. Acta.* 2012;33(3): 85–8.
8. Plebani M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine.* December 1, 2009 Review Article, <https://doi.org/10.1258/acb.2009.009222>
9. Sciacovelli L., Plebani M. The IFCC Working Group on laboratory errors and patient safety. *Clin. Chim. Acta.* 2009;404(1): 79–85.

Поступила 23.05.19

Принята к печати 31.05.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Бернс С.А.^{1,2}, Шмидт Е.А.¹, Нагирняк О.А.¹, Осокина А.В.¹, Клименкова А.В.³, Барбараш О.Л.¹

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОГО ФЕРМЕНТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОТДАЛЕННЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, г. Кемерово, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», 127473, Москва, Россия;

³ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. акад. Л. С. Барбараша», 650002, Кемерово, Россия

Изучали связь между концентрацией в крови супероксиддисмутазы в конце госпитального периода острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST (ОКСбп-ST) и развитием неблагоприятных исходов в отдаленном периоде наблюдения. В рамках локального регистрового исследования проведено сплошное последовательное включение 415 пациентов с ОКСбп-ST. Отдаленный период наблюдения составил 60 месяцев. Помимо клинических исследований, определена концентрация в крови супероксиддисмутазы (СОД) у 200 пациентов на 10-13-е сутки госпитализации. В течение пяти лет после окончания госпитализации у 178 (47 %) пациентов зарегистрировано развитие неблагоприятных исходов. Пациенты с неблагоприятным исходом были старше, имели в анамнезе постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), чаще диагностировались стенозы экстракраниальных артерий более 30 % и сниженная фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ). Выявлены значимые различия в отношении концентрации СОД_{10-13 сутки}, которая была ниже у пациентов ($p=0,0003$), имевших в последствии развитие неблагоприятных кардиоваскулярных событий. При проведении многофакторного анализа методом бинарной логистической регрессии, определены факторы, имеющие наиболее сильную связь с развитием неблагоприятного исхода в течение 5-летнего периода наблюдения у пациентов, перенесших ОКСбп-ST: концентрация в крови СОД $\leq 175,4$ нг/мл (OR-3,85; $p=0,0008$), наличие ПИКС (OR-3,26; $p=0,006$) и ФВЛЖ $\leq 52\%$ (OR-2,8; $p=0,035$).

Частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов за пятилетний период наблюдения у пациентов после эпизода ОКСбп-ST (по данным регистрового исследования) составляет 47%. Неблагоприятными факторами, связанными с развитием неблагоприятного исхода в отдаленном периоде наблюдения являются: концентрация в крови СОД ≤ 175 нг/мл, в конце госпитального периода, ФВЛЖ $\leq 52\%$, определенная на госпитальном этапе и наличие ПИКС.

Ключевые слова: острый коронарный синдром; супероксиддисмутаза; неблагоприятные исходы.

Для цитирования: Бернс С.А., Шмидт Е.А., Нагирняк О.А., Осокина А.В., Клименкова А.В., Барбараш О.Л. Роль антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы для прогнозирования отдаленных неблагоприятных исходов у больных острым коронарным синдромом. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 463-468. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-463-468>

Berns S.A.^{1,2}, Schmidt E.A.¹, Nagirnyak O.A.¹, Osokina A.V.¹, Klimentkova A.V.³, Barbarash O.L.¹

THE ROLE OF THE SUPEROXIDE DISMUTASE FOR PREDICTING LONG-TERM ADVERSE EVENTS IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 650002, Kemerovo, Russia;

²Federal Government-funded Educational Institution of Higher Education «A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry», Russian Ministry of Health. 127473, Moscow, Russia;

³State Budgetary Healthcare Institution of the Kemerovo Region "Kemerovo Regional Clinical Cardiac Dispensary named Academic L.S. Barbarash", 650002, Kemerovo, Russia

To study the relationship between the blood concentration of superoxide dismutase in at the end of the hospital period of acute coronary syndrome without ST-segment elevation (nonST-ACS) and the development of adverse events in the long-term follow-up period. 415 patients with nonST-ACS are included in the local register study. The follow-up period was 60 months. The blood concentration of superoxide dismutase (SOD) determined in 200 patients on the 10-13th day of hospitalization in addition to clinical procedures.

Within five years after discharge in 178 (47 %) patients reported the development of adverse events. Patients with poor outcome were older, had a history of myocardial infarction (PICS), stenoses of extracranial arteries more than 30% and decreased left ventricular ejection fraction (LVEF). There were significant differences in the concentration of SOD_{10-13 day}, which was lower in the patients with development of adverse cardiovascular events ($p = 0.0003$). Multivariate analysis identified the factors that are most strongly associated with the development of the adverse events during a 5-year follow-up period in patients with nonST-ACS: SOD blood concentration $\leq 175,4$ ng / ml (OR-3,85; $p=0,0008$), myocardial infarction in anamnesis (OR-3,26; $p=0,006$), LVEF $\leq 52\%$ (OR-2,8; $p=0,035$). The incidence of adverse cardiovascular events during five years follow-up in patients with nonST-ACS was 47 % of cases. Adverse factors associated with the development of an unfavorable outcome in the long-term period follow are: SOD blood concentration $\leq 175,4$ ng / ml, myocardial infarction in anamnesis, LVEF $\leq 52\%$.

Key words: acute coronary syndrome; superoxide dismutase; adverse events.

For citation: Berns S.A., Schmidt E.A., Nagirnyak O.A., Osokina A.V., Klimenkova A.V., Barbarash O.L. The role of the superoxide dismutase for predicting long-term adverse events in patients with acute coronary syndrome. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 463-468 (in Russ.)
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-463-468>

For correspondence: Schmidt E. A., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Circulation Pathology, Division of Polyvascular Disease; e-mail: e.a.schmidt@mail.ru, schmidt@kemcardio.ru

Information about authors:

Berns Svetlana A., <http://orcid.org/0000-0003-1002-1895>
Schmidt Evgeniya A., <http://orcid.org/0000-0003-3215-2140>
Nagirnyak Olga A., <http://orcid.org/0000-0002-4361-9853>
Osokina Anastasiya V., <http://orcid.org/0000-0002-7784-5824>
Klimenkova Alla V., <http://orcid.org/0000-0002-8231-979X>
Barbarash Olga L., <http://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.05.2019
Accepted 25.06.2019

Введение. Течение заболевания после эпизода острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST (ОКСбп-СТ) весьма непредсказуемо, по результатам одних исследований прогноз больных благоприятен, другие исследователи демонстрируют высокие показатели смертности в отдаленном периоде наблюдения [1]. Так, по данным бразильского исследования (ERICO-ECG study, 2016) частота смертельных исходов за три года наблюдения составила около 20 % [2]. В настоящее время поиск факторов риска, связанных с неблагоприятным течением заболевания становится все более актуальной проблемой в кардиологии. Имеется достаточное количество исследований, подтверждающих роль таких факторов риска (ФР) неблагоприятного прогноза, как: возраст, снижение фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), сахарный диабет (СД) 2-го типа, ишемические изменения на электрокардиограмме (ЭКГ) и т.д. [3-7].

Известно, что окислительная модификация липопротеинов низкой плотности (оЛПНП) повышает атерогенные свойства данных молекул, при этом важна активность функционирования антиоксидантной системы с целью деактивации продуктов свободнорадикального окисления [8,9]. С этой целью работает фермент CuZn-супероксиддисмутаза (СОД), при дефиците которой повышается уровень продуктов окисления в крови, что приводит к развитию системных воспалительных заболеваний, а также дисфункции эндотелия [10-12]. Исследования в области кардиологии демонстрируют увеличение синтеза активных форм кислорода и концентрации СОД в условиях восстановленного коронарного кровотока [13].

Можно предположить, что антиоксидантный фермент СОД вносит существенный вклад в процессы окислительного метаболизма липидов и снижение его концентрации в крови может быть ассоциировано с развитием неблагоприятных исходов после эпизода ОКСбп-СТ.

Цель исследования: изучить связь между концентрацией в крови супероксиддисмутазы в конце госпитального периода ОКСбп-СТ и развитием неблагоприятных исходов в отдаленном периоде наблюдения.

Материал и методы. С 2009 г. в НИИ «Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» на базе МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер» создан регистр, в который включались пациенты с

ОКСбп-СТ. Критериями включения участников исследования являлись: 1) подписанная пациентом форма информированного согласия на участие в исследовании; 2) возникшие в течение 48 ч до госпитализации нестабильная стенокардия (НС) или Q-необразующий инфаркт миокарда (ИМ); 3) возраст старше 18 лет. Критерием исключения явился ОКСбп-СТ, осложнившийся чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) или КШ. За период с 2009 по 2010 г. проведено сплошное последовательное включение в регистр 415 пациентов с ОКСбп-СТ. На 10-13 сутки от момента госпитализации проводился забор сыворотки крови для определения концентрации СОД у 200 пациентов количественным методом твердофазного иммуноферментного анализа (реактив - Cu/ZnSOD BIO-MEDICA, Австрия).

Период наблюдения пациентов составил 60 мес, в течение которого известен исход у 385 пациентов. При этом около 57 % пациентов были мужчинами, в возрасте 61 (55; 69) лет. В половине случаев наблюдался инфаркт миокарда на момент выписки. Около 37 % больных имели в анамнезе постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), 12 % – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), 78 % пациентов – клинику стенокардии длительностью два или более месяца, СД – 19 % больных, АГ – около 90 % наблюдаемых. Реваскуляризация ранее проводилась у 60 пациентов (15,5 %).

Среди всех пациентов, включенных в регистр коронароангиография (КАГ) в госпитальном периоде была выполнена у 304 (77 %) пациентов. При этом, значимый атеросклероз коронарных артерий (КА) выявлен у 271 человека (89 %). Однососудистое стенозирование КА наблюдалось у 68 (22,5 %) пациентов, а поражение трех КА - у 111 (36 %) наблюдаемых. У 33 (10,9%) пациентов окклюзионно-стенотических изменений не было выявлено. Дальнейшая тактика лечения обсуждалась коллегиально. ЧКВ в индексную госпитализацию проведено у 141 (55,3 %) человека, а 48 пациентам (19 %) определена консервативная тактика. В течение 60 месяцев наблюдения ежегодно проводились телефонные контакты с пациентами для определения исходов и уточнения принимаемой терапии. Цветное дуплексное сканирование магистральных артерий проводилось на аппарате Vivid 7 Dimension (General Electric, США).

Статистический анализ результатов исследования выполнялся с помощью программного обеспечения

STATISTICA версии 8.0 компании StatSoft, Inc (США). Две независимые группы по количественному признаку сравнивались при помощи U-критерия Манна-Уитни. Анализ различия относительных показателей осуществлялся при помощи критерия χ^2 Пирсона или критерия Фишера. Зависимость между переменными определялась по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена. Для выявления независимых предикторов неблагоприятного прогноза использовался бинарный регрессионный анализ. В последующем рассчитывалось значение площади под ROC-кривой, которое и определяло диагностическую ценность метода. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне двусторонней статистической значимости менее 0,05.

Результаты. В течение пяти лет (60 мес) после окончания госпитализации у 178 (47 %) зарегистрировано развитие конечной точки (КТ). В данном исследовании КТ являлись госпитализации пациентов с НС, ИМ, ОНМК в стационаре или смерть пациента на любом этапе наблюдения. Выполненные за 60 мес плановые процедуры по реваскуляризации миокарда не считались в нашем исследовании неблагоприятными исходами. Общее количество смертельных исходов за период наблюдения составило 61 (15,8%) человек, 7 (2 %) умерли

на госпитальном этапе от ИМ, 54 (14,1 %) в течение последующих месяцев наблюдения, из них 72 % – вследствие кардиоваскулярной патологии. В структуре неблагоприятных исходов наблюдалось 56 случаев ИМ, которые у 27 пациентов привели к смертельному исходу. У 29 (7,8 %) пациентов произошло развитие ОНМК, а 101 (26,8 %) пациент были госпитализированы с клиникой НС. Для дальнейшего анализа все пациенты разделены на две группы : I – пациенты с развитием неблагоприятных исходов в течение 5-летнего периода наблюдения ($n=178$), группа II – пациенты с благоприятным исходом, у которых не наблюдалось развития КТ ($n=200$).

В табл. 1 представлена исходная клиническая характеристика изучаемых групп пациентов в зависимости от отдаленных исходов заболевания. По результатам проведенного анализа пациенты с неблагоприятным исходом были старше, и имели более тяжелый сердечно-сосудистый анамнез.

Как свидетельствуют данные, представленные в табл. 2, у пациентов с развитием неблагоприятных исходов чаще диагностировались стенозы экстракраниальных артерий (ЭКА) более 30 %, признаки депрессии сегмента ST по ЭКГ при поступлении и сниженная ФВЛЖ.

По результатам проведенной на госпитальном этапе

Таблица 1

Исходная клинико-анамнестическая характеристика пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST в зависимости от пятилетнего исхода

Параметры	Группы		p
	I, n=178	II, n=200	
Пол мужской, n (%)	78 (56,1)	118 (59,1)	0,582
Возраст, Me (Q25;Q75), лет	62 (57; 71)	60 (53; 68)	0,003
Диагноз инфаркта миокарда, n (%)	80 (44,9)	92 (46,1)	0,843
Постинфарктный кардиосклероз, n (%)	82 (46,1)	55 (27,6)	0,0001
Острое нарушение мозгового кровообращения ранее, n (%)	23 (12,9)	23 (11,4)	0,672
Чрескожное коронарное вмешательство ранее, n (%)	20 (11,3)	17 (8,6)	0,374
Коронарное шунтирование ранее, n (%)	17 (9,6)	6 (3,1)	0,008
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	38 (21,4)	33 (16,4)	0,236
Хроническая сердечная недостаточность ранее, n (%)	34 (19,2)	28 (14,0)	0,184
Артериальная гипертензия, n (%)	162 (91,0)	179 (89,4)	0,623
Стенокардия ранее, n (%)	145 (81,5)	152 (76,1)	0,274
Курение, n (%)	69 (38,8)	83 (42,1)	0,595
Не синусовый ритм, n (%)	25 (14,1)	19 (9,51)	0,173
Индекс массы тела, Me (Q25;Q75), кг/м ²	28,7 (25,3; 32,7)	29,0 (25,5; 32,1)	0,883
Балл по шкале GRACE, Me (Q25;Q75), балл	104 (89; 122)	94 (78;116)	0,0001

Таблица 2

Результаты лабораторно-инструментальных обследований и особенности коронарного русла у пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST в зависимости от 5-летнего исхода

Параметры	Группы		p
	I-я, n=178	II-я, n=200	
Депрессия сегмента ST, n (%)	112 (62,9)	105 (52,5)	0,04
Фракция выброса левого желудочка, Me (Q25;Q75), %	54 (47;63)	61 (53;64)	0,0002
Скорость клубочковой фильтрации _{MDRD} , Me (Q25;Q75), мл/мин/1,73м ²	67,7 (54,8; 80,7)	68,7 (57,6; 84,3)	0,362
Killip II-IV, n (%)	12 (6,7)	6 (3,0)	0,088
Стенозы экстракраниальных артерий 30%, n (%)	64 (41,6) n=154	57 (28,5) n=176	0,021
Коронароангиография госпитально, n (%)	138 (77,53)	159 (79,5)	0,643
Поражение коронарных артерий, n (%)	126 (91,3)	138 (69,0)	0,221
Чрескожное коронарное вмешательство госпитально, n (%)	62 (44,93)	74 (37,0)	0,664
Рекомендовано коронарное шунтирование, n (%)	25 (18,12)	27 (16,98)	0,835
Syntax Score, Me (Q25;Q75), балл	13 (6; 22)	12 (3; 21)	0,45

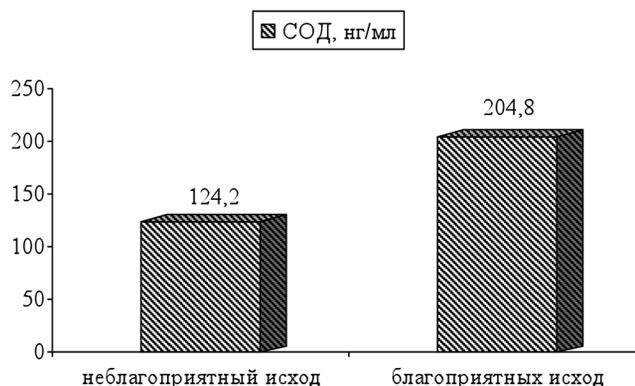
КАГ достоверных различий в поражении коронарного русла не выявлено.

Выявлены значимые различия в отношении концентрации СОД_{10-13 сутки}, которая была ниже у пациентов ($p=0,0003$), имевших в последствии развитие неблагоприятных кардиоваскулярных событий (см. рисунок).

В связи с тем, что пациенты в группах с различными отдаленными исходами отличались не только по исходному уровню концентрации СОД в крови, но и по ряду клинических ФР, способных влиять на прогноз пациентов с ОКСбпСТ, был проведен логистический регрессионный анализ. Для оптимизации определения риска и были определены пороговые значения всех количественных параметров (баллы по шкале GRACE, ФВ ЛЖ, возраст, уровень СОД) с помощью ROC-кривой (табл. 3).

С помощью данных значений закодированы факторы с помощью бинарной системы: 1 – присутствует данный фактор, 0 – отсутствует. В табл. 4 представлен однофакторный анализ для показателей ассоциированных с наступлением КТ.

При проведении многофакторного анализа методом бинарной логистической регрессии, определены факторы, имеющие наиболее сильную связь с развитием неблагоприятного исхода в течение 5-летнего периода наблюдения у пациентов, перенесших ОКСбпСТ. С помощью ROC-кривой определена чувствительность – 81,16%, специфичность – 59% модели, площадь под



Различия концентрации СОД_{10-13 сутки} в группах больных ОКСбпСТ с различным исходом в течение 5-ти лет наблюдения.

ROC-кривой составила 0,775, что свидетельствует о хорошем качестве модели.

Обсуждение. В ходе настоящей работы было установлено, что у 47,1% пациентов с ОКСбпСТ в течение 5-летнего наблюдения после выписки из стационара зарегистрировано развитие неблагоприятных кардиоваскулярных исходов, при этом смертельные исходы наблюдались у 61 (15,8%) пациента. Самое длительное на-

Таблица 3

Прогностически значимые показатели в отношении развития КТ в в отдаленном периоде у пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST

Показатель	Значение	AUC	p	Чувствительность, %	Специфичность, %
Супероксиддисмутаза, нг/мл	$\leq 175,4$	0,638	0,0001	69,5	71,0
Возраст, годы	> 54	0,598	0,002	76,7	56,0
Фракция выброса левого желудочка, %	≤ 52	0,612	0,0001	61,0	75,2
Шкала GRACE, балл	>100	0,698	0,0002	59,9	60,1
Сердечно-лodgeжечный сосудистый индекс средний	$>8,5$	0,649	0,006	70,0	71,1

Таблица 4

Предикторы неблагоприятных исходов в течение пятилетнего периода наблюдения у пациентов, перенесших острый коронарный синдром без подъема сегмента ST (для всех факторов ($p<0,05$))

Фактор	Отношение шансов	Доверительный интервал
Однофакторный анализ		
Супероксиддисмутаза на 10-13 сут $\leq 175,4$ нг/мл	3,73	1,83-7,62
Коронарное шунтирование в анамнезе	3,4	1,32-8,86
Сердечно-лodgeжечный сосудистый индекс средний $> 8,55$	3,3	1,68-6,44
Возраст > 54 лет	2,58	1,65-4,03
Фракция выброса левого желудочка $\leq 52\%$	2,58	1,65-4,03
Постинфарктный кардиосклероз	2,27	1,48-3,48
Шкала GRACE (баллы) > 99	2,03	1,35-3,06
Ишемические изменения на электрокардиограмме	1,55	1,03-2,34
Стенозы брахиоцефальных артерий	1,54	1,1-2,14
Многофакторный анализ		
Факторы	ОШ	ДИ
Супероксиддисмутаза $\leq 175,4$ нг/мл	3,85	1,75-8,49
Постинфарктный кардиосклероз	3,26	1,38-7,68
Фракция выброса левого желудочка $\leq 52\%$	2,8	1,07-7,3
	Коэффициент	Ст. ошибка
Супероксиддисмутаза $\leq 175,4$ нг/мл	1,35	0,403
Постинфарктный кардиосклероз	1,18	0,438
Фракция выброса левого желудочка $\leq 52\%$	1,03	0,489
	Валд.	p
Супероксиддисмутаза $\leq 175,4$ нг/мл	11,22	0,0008
Постинфарктный кардиосклероз	7,289	0,0069
Фракция выброса левого желудочка $\leq 52\%$	4,427	0,0354

блюдение за пациентами после перенесенного ОКСбпСТ были проведено бразильскими исследователями Bassan F. с соавторами (2015), а также английскими исследователями Erdem G. с соавт. (2013) – регистровое исследование PRAIS-UK, выявившее, что частота смертельных исходов за десять лет наблюдения составляет около 40%, при этом максимальное количество фатальных исходов наблюдалось на пятом году исследования [14]. По данным нашего регистра, максимальная смертность была отмечена на первом году наблюдения, хотя наблюдалась тенденция к увеличению смертности также на пятом году исследования. По данным итальянских исследователей (2015) смертность пациентов с ОКСбпСТ за 5-летний период наблюдения с 2005 по 2010 г. составила 42% [15].

В ходе настоящей работы установлено, что пациенты с наличием неблагоприятного исхода изначально имели более тяжелые характеристики в отношении сердечно-сосудистого анамнеза, а также отличались более старшим возрастом. Результаты многофакторного анализа выделил три фактора наиболее сильно связанных с неблагоприятным отдаленным исходом: сниженная концентрация СОД на госпитальном этапе, снижение глобальной сократимости миокарда ЛЖ и наличие ПИКС. Несомненный интерес представляет выявленная связь между снижением ФВЛЖ до 52% и развитием неблагоприятных исходов в течение последующих пяти лет. В 2015 г/ были опубликованы результаты, демонстрирующие связь между значением ФВЛЖ $\leq 56\%$ с развитием неблагоприятных исходов у пациентов с ОКС (РОСКривая) [16].

В исследовании S.E.Kassaiian S.E. и соавт. [17] при расчете риска неблагоприятных событий у пациентов после проведения ЧКВ (такowymi являлись помимо смерти, ИМ и НС, повторная реваскуляризация целевого стеноза КА) было также установлено, что снижение ФВЛЖ является независимым ФР развития неблагоприятного события. Кроме того, имеются результаты исследования 16-недельного наблюдения за пациентами после перенесенного ОКСбпСТ, которым не проводилась реваскуляризация миокарда. В данной группе снижение ФВЛЖ менее 55% ассоциировалось с риском смерти в период наблюдения и развитием нефатального коронарного события [18].

В представленном нами исследовании значимую неблагоприятную прогностическую роль также сыграло наличие ПИКС. В проведенных ранее исследованиях было показано, что учет таких ФР как ПИКС и застойная СН вместе с результатами шкалы GRACE, позволяло увеличить прогностическую значимость шкалы для долгосрочного прогноза [19]. В представленной нами работе при однофакторном анализе показатель шестимесячного риска по шкале GRACE более 100 баллов был связан с вероятностью наступления неблагоприятного исхода в течение последующих пяти лет наблюдения.

Еще в последнее десятилетие прошлого века была сформулирована концепция о важной роли окислительного стресса в патогенезе острых форм ИБС [20], кроме того, накоплено достаточно данных, показывающих, что стимулирование развития атеросклероза запускается активными формами кислорода [21]. В данном аспекте интересна концентрация антиоксидантных ферментов в крови пациентов с ОКС. Так, ранее нами были полученные сведения о связи концентрации антиоксидантного фермента параоксаназы-1 с развитием неблагоприятно-

го исхода у больных данной категории, было показано, что снижение концентрации фермента PON1 в крови менее чем 4,70 нг/мл увеличивает риск наступления неблагоприятного исхода в течение года наблюдения у больных ОКСбпСТ в четыре раза [22]. По результатам собственного исследования установлено, что у пациентов с ОКСбпСТ, с развившимися неблагоприятными кардиоваскулярными событиями в течение 5-летнего периода, уровень СОД, определенный на 10-13 сутки госпитализации, был достоверно ниже по сравнению с уровнем СОД у пациентов с благоприятным течением заболевания. По данным ряда исследований, в первые сутки ИМ уровень СОД повышается, однако к 14 суткам от начала ИМ отмечается его нормализация до базового уровня, характерного для данного человека. По результатам исследования, опубликованного в 2015 г. S.Gheddouchi и соавт. [22], уровень СОД в плазме и эритроцитах крови 50 мужчин с ОКС был выше, чем у контрольной группы, также отмечена обратная корреляция с концентрацией пероксинитритом и супероксид-аниона. Ранее в 2009 г. S. Gupta [23] показал, что уровень СОД в крови повышается на ранних стадиях ИБС, однако по мере прогрессирования заболевания выявляется снижение выработки данного фермента, что свидетельствует об ослаблении защитных антиоксидантных свойств организма.

Таким образом, необходимо отметить, что пациенты с ОКСбп-СТ, являются группой повышенного риска в отношении развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, как в ближайшие 12 мес, так и в последующем периоде наблюдения. Использование оригинального подхода в прогнозировании неблагоприятного течения заболевания, включающего наряду с традиционными ФР молекулярные маркеры, позволяет тщательно оценить вероятность неблагоприятного течения заболевания в отдаленном периоде после эпизода ОКСбп-СТ.

Выводы. Частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов за пятилетний период наблюдения у пациентов после эпизода ОКСбп-СТ (по данным регистрового исследования) составляет 47%. Неблагоприятными факторами, влияющими на отдаленный исход заболевания являются: концентрация в крови СОД ≤ 175 нг/мл, в конце госпитального периода, ФВЛЖ $\leq 52\%$, определенная на госпитальном этапе и наличие ПИКС.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-7, 11,12, 14-19, 23,24 см. REFERENCES)

- Кулинский В.И. Биохимические аспекты воспаления. *Биохимия*. 2007; 72 (6): 733-46.
- Пушкина Т.А., Токаев Э.С., Попова Т.С., Бородин Е.Н. Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2016; 4: 42-7.
- Быков И.М., Мелконян К.И., Алексеенко Е.А., Попов К.А. Перспективы неинвазивной диагностики нарушений свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при сахарном диабете 2. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 3 (4): 531-4.
- Рузов В. И., Комарова Л. Г., Крестьянинов М. В., Щепанова Е.В., Низамова Л.Т. Оценка агрегации тромбоцитов и перекисного

- окисления липидов у пациентов, перенесших коронарное шунтирование. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2014; 2: 8–13.
20. Губарева Е.А., Каде А.Х., Павлюченко И.И., Быков И.М., Зингилевский К.Б., Басов А.А., и др. Прогностическая значимость определения активности ферментов антирадикальной защиты у больных острым инфарктом миокарда. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2008; 3 (4): 104–6.
21. Кутихин А.Г., Синицкий М.Ю., Понасенко А.В. Роль мутагеназа в развитии атеросклероза. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2017; (1): 92–101.
22. Хомякова Т.А., Бернс С.А., Шмидт Е.А. Взаимосвязь уровня параоксаназы-1 с развитием неблагоприятных исходов у пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST. *Сибирский медицинский журнал* (г. Томск). 2016; 31(2): 54–7.
-
1. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *European Heart Journal*. 2014; 35 (37): 2541–2619.
2. Brandão R.M., Samesima N., Pastore C.A., Staniak H.L., Lotufo P.A., Bensenor I.M. et al. ST-segment abnormalities are associated with long-term prognosis in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: The ERICO-ECG study. *Journal Electrocardiology*. 2016; 49 (3): 411–6.
3. Min-Jie Yuan, Ye-Sheng Pan, Wei-Guo Hu, Zhi-Gang Lu, Qing-Yong Zhang, Dong Huang et al. A pilot study of prognostic value of non-invasive cardiac parameters for major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndrome treated with percutaneous coronary intervention. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015; 8 (12): 22440–9.
4. Granger C.B., Goldberg R.J., Dabbous O., Pieper K.S., Eagle K.A., Cannon C.P. et al. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. Global Registry of Acute Coronary Events Investigators. *Archives of Internal Medicine*. 2003; 163: 2345–53.
5. Fox K.A., Dabbous O.H., Goldberg R.J., Pieper K.S., Eagle K.A., Van de Werf F. et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six month after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE). *British Medical Journal*. 2006; 333(7578): 1091–4.
6. Backus B.E., Six A.J., Kelde J.H., Gibler W.B., Moll F.L. and Doevendans P.A. Risk Scores for Patients with Chest Pain: Evaluation in the Emergency Department. *Current Cardiology Reviews*. 2011; 7 (1): 2–8.
7. Six A.J., Backus B.E., Kelder J.C. Chest pain in the emergency room: value of the HEART score. *Netherlands Heart Journal*. 2008; 16 (6): 191–6.
8. Kulinsky V.I. Biochemical aspects of inflammation. *Biochemistry*. 2007; 72 (6): 595–607. (in Russian)
9. Pushkina T.A., Tokaev J.E.S., Popova T.S., Borodina E.N. Superoxide dismutase as part of antioxidant therapy: state of the matter and prospects. *Zhurnal imeni N.V. Sklifosovskogo. Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'*. 2016; 4: 42–7. (in Russian)
10. Bykov I.M., Melkonjan K.I., Alekseenko E.A., Popov K.A. Prospects for non-invasive diagnosis of disorders of free radical oxidation and antioxidant protection in diabetes mellitus 2. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015; 3 (4): 531–4. (in Russian)
11. Pytel E., Olszewska-Banaszczyk M., Koter-Michalak M., Broncel M. Increased oxidative stress and decreased membrane fluidity in erythrocytes of CAD patients. *Biochemistry and Cell Biology*. 2013; 91 (5): 315–8.
12. Qin Z., Reszka K.J., Fukai T., Weintraub N.L. Extracellular superoxide dismutase (ecSOD) in vascular biology: an update on exogenous gene transfer and endogenous regulators of ecSOD. *Transl. Res*. 2008; 151 (2): 68–78.
13. Ruzov V. I., Komarova L. G., Krest'janinov M. V., Wepanova E.V., Nizamova L.T. Evaluation of platelet aggregation and lipid peroxidation in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2014; 2: 8–13. (in Russian)
14. Erdem G., Bakhai A., Taneja AK. Rates and causes of death from non ST elevation acute coronary syndromes: ten year follow-up of the PRAIS-UK registry. *International Journal of Cardiology*. 2013; 168: 490–4.
15. Vagnarelli F., Taglieri N., Ortolani P., Norscini G., Cinti L., Bacchi Reggiani M.L., et al. Long-Term Outcomes and Causes of Death After Acute Coronary Syndrome in Patients in the Bologna, Italy, Area. *Am. J. Cardiology*. 2015; 115 (2): 171–7.
16. Yuan M.J., Pan Y.S., Hu W.G., Lu Z.G., Zhang Q.Y., Huang D. et al. A pilot study of prognostic value of non-invasive cardiac parameters for major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndrome treated with percutaneous coronary intervention. *Int. J. Clin. Experim. Med*. 2015; 8 (12): 2244–9.
17. Kassaian S-E., Saroukhani S., Alaeddini F., Salarifar M., Capodanno D., Poorhoseini H. et al. A Risk-Scoring Model to Predict One-year Major Adverse Cardiac Events after Percutaneous Coronary Intervention. *The Journal of Tehran University Heart Center*. 2015; 10 (6): 167–75.
18. Zamani P., Schwartz G.G., Olsson A.G., Rifai N., Bao W., Libby P. et al. Inflammatory Biomarkers, Death, and Recurrent Nonfatal Coronary Events After an Acute Coronary Syndrome in the MIRACL Study. *J. Am. Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*. 2013; 2 (1): 003103.
19. Tang E.W., Wong Cheuk-Kit, Herbison P. Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). Hospital discharge risk score accurately predicts long-term mortality post acute coronary syndrome. *Am. Heart J*. 2007; 153 (1): 29–35.
20. Gubareva E.A., Kade A.X., Pavljuchenko I.I., Bykov I.M., Zingilevskij K.B., Basov A.A., et al. The prognostic significance of determining the activity of enzymes of antiradical protection in patients with acute myocardial infarction. *Kubanskiy meditsinskiy vestnik*. 2008; 3 (4): 104–6. (in Russian)
21. Kutihin A.G., Simickij M.JU., Ponasenko A.V. The role of mutagenesis in the development of atherosclerosis. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy*. 2017; (1): 92–101. (in Russian)
22. Khomyakova T.A., Berns S.A., Shmidt E.A. The relationship of paraoxanase-1 with the development of adverse outcomes in patients with acute coronary syndrome without ST-segment elevation. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal* (Tomsk). 2016; 31 (2): 54–7. (in Russian)
23. Gheddouchi S., Mokhtari-Soulimane N., Merzouk H., Bekhti F., Soulimane F., Guermouche B. et al. Low SOD activity is associated with overproduction of peroxynitrite and nitric oxide in patients with acute coronary syndrome. *Nitric. Oxide*. 2015; 49(15): 40–46.
24. Gupta S., Sodhi S., Mahajan V. Correlation of antioxidants with lipid peroxidation and lipid profile in patients suffering from coronary artery disease. *Expert. Opin. Ther. Targets*. 2009; 13: 889–94.

Поступила 10.05.19

Принята в печати 25.06.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гусякова О.А.^{1,2}, Мурский С.И.^{1,2}, Тукманов Г.В.¹, Комарова М.В.³.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТАВА СПЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЯХ ЭЯКУЛЯТА

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия;

²Клинико-диагностическая лаборатория Клиник Самарского государственного медицинского университета, 443079, Самара, Россия;

³Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, Самара, Россия

Проведена оценка состояния метаболических характеристик спермальной плазмы при различных морфофункциональных патологиях эякулята. Оценивали физико-химические, метаболические и морфологические показатели эякулята. Диагностический протокол включал проведение стандартного анализа спермограмм с классификацией показателей эякулята и определение биохимических показателей спермальной плазмы на автоматическом биохимическом анализаторе. Проведено изучение качественных и количественных характеристик показателей метаболизма. Общее число обследованных составило 90 человек. Полученные образцы после изучения морфологических особенностей клеточного состава были разделены на четыре группы: образцы с нормоспермией, образцы с олигоастенотератозооспермией, образцы с азооспермией и образцы с криптозооспермией. В каждой группе изучены параметры белкового, углеводного, липидного и минеральных обменов. В результате было установлено, что с прогрессированием патологии начинает преобладать катаболический механизм энергопотребления, за счет снижения концентрации в спермальной плазме белковых компонентов, трансаминаз, а также роста небелковых азотистых включений. Отмечается, что повышение уровня глюкозы, несмотря на угнетение трансмембранных путей поступления за счет снижения концентрации щелочной фосфатазы и липидотранспортных систем, связано с вынужденным включением изолирующих механизмов проникновения глюкозы в спермальную плазму из крови через гемато-спермальный барьер. В то же время повышение содержания липидов в спермальной плазме, а также повышение креатинина на начальных этапах развития патологии может характеризоваться компенсаторной реакцией, направленной на поддержание жизнеспособности минимального количества сперматозоидов. Выявленные особенности метаболизма в спермальной плазме могут позволить в дальнейшем выявить более информативные лабораторные маркеры мужского бесплодия.

Ключевые слова: сперматогенез; метаболизм в спермоплазме; нормозооспермия; ферменты спермоплазмы; эякулят; патоспермия.

Для цитирования: Гусякова О.А., Мурский С.И., Тукманов Г.В., Комарова М.В. Особенности метаболического состава спермальной плазмы при различных морфофункциональных патологиях эякулята. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 469-476. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-469-476>

Gusyakova O.A.^{1,2}, Murskiy S.I.^{1,2}, Tukmanov G.V.¹, Komarova M.V.³

FEATURES OF THE METABOLIC COMPOSITION OF SPERMAL PLASMA IN DIFFERENT MORPHOFUNCTIONAL PATHOLOGIES OF THE EJACULATE

¹Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia;

²Clinical laboratory of Clinic Samara State Medical University, 443079, Samara, Russia;

³Samara National Research University, 443086, Samara, Russia

As part of the work, an assessment was made of the state of the metabolic characteristics of sperm plasma in various morphofunctional ejaculate pathologies. Physico-chemical, metabolic and morphological parameters of the ejaculate were evaluated. The diagnostic protocol included a standard sperm analysis with classification of ejaculate parameters and determination of biochemical parameters of sperm plasma on an automatic biochemical analyzer. The study of the qualitative and quantitative characteristics of metabolic parameters. The total number of surveyed was XX people. After studying the morphological features of the cell composition, the obtained samples were divided into four groups: samples with normospermia, samples with oligoasthenoteratozoospermia, samples with azoospermia, and samples with cryptozoospermia. In each group, the parameters of protein, carbohydrate, lipid and mineral metabolism were studied. As a result, it was found that with the progression of pathology, the catabolic mechanism of energy consumption begins to prevail, due to a decrease in the concentration in the sperm plasma of protein components, transaminases, as well as the growth of non-protein nitrogenous inclusions. It is noted that the growth of glucose, despite the inhibition of transmembrane routes of intake by reducing the concentration of alkaline phosphatase and lipid-transport systems, is associated with the forced inclusion of insulating mechanisms for the penetration of glucose into the sperm plasma from the blood through the hemato-sperm barrier. At the same time, an increase in the content of lipids in the sperm plasma, as well as the growth of creatinine in the initial stages of the development of pathology, can be characterized by a compensatory response aimed at maintaining the viability of minimal amounts of spermatozoa. Well, the disorder of mineral metabolism in general characterizes the violation of metabolic processes in all forms of ejaculate pathology. Identified features of the metabolism in the sperm plasma may further allow to identify more informative laboratory markers of male infertility.

Key words: spermatogenesis; sperm plasma metabolism; normozoospermia; sperm plasma enzymes; ejaculate; prosoospermia.

For citation: Gusyakova O.A., Murskiy S.I., Tukmanov G.V., Komarova M.V. Features of the metabolic composition of spermal plasma in different morphofunctional pathologies of the ejaculate. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 469-476. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-469-476>

Для корреспонденции: Гусякова Оксана Анатольевна, д-р мед.наук, доц., зав. каф. фундаментальной и клин. биохимии с лаб. диагностики; e-mail: bio-sam@yandex.ru

For correspondence: Gusyakova O.A., Dr. of Medical Sciences, Head of the Department of Fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: bio-sam@yandex.ru

Information about authors:

Gusyakova O.A., <http://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Murskiy S.I., <http://orcid.org/0000-0002-2550-6601>

Tukmanov G.V., <http://orcid.org/0000-0003-3065-0007>

Komarova M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6545-0035>

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

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

Received 17.05.2019
Accepted 25.06.2019

Введение. Медицина нашего времени все больше и больше внимания уделяет такому понятию как персонализация. И хотя предпосылки к созданию прецизионной медицины существуют уже давно, научное обоснование её основ начало формироваться только в последнее десятилетие. Сегодня основное внимание уделяется поиску новых методов диагностики, лечения и профилактики онкологических заболеваний, заболеваний сердечно-сосудистых и конечно заболеваний инфекционной природы, как наиболее значимых патологий по количеству вовлеченных людей в мире. Однако статистика последних лет показывает, что человечеству грозит ещё одна, не менее значимая проблема – бесплодие. Бесплодный брак как в нашей стране, так и во всем мире сегодня стал одной из ключевых медицинских и социальных проблем. Отсутствие возможности завести ребенка является сильнейшим психоэмоциональным стрессом для семейной пары, что в целом является угрозой для института семьи. По данным Всемирной организации здравоохранения в разных странах частота браков с диагнозом бесплодие колеблется от 10 до 20 % [1]. В Российской Федерации аналогичный показатель достигает 17 - 25 % [2-4]. При этом установлено, что именно мужской фактор является ведущей причиной бесплодного брака, встречаемого по разным данным в 30-50% случаев бесплодия против 20-40 % женского фактора [5]. Обязательным этапом первичного обследования мужчин при бесплодии является микроскопия эякулята. С помощью стандартных критериев ВОЗ, выявляют отклонение от нормативных значений каких-либо показателей эякулята, называемых патозооспермией. Но зачастую анализ спермы просто указывает на наличие определенных отклонений в показателях, что делает необходимым дальнейшее углубленное обследование пациента [6]. Следует отметить, что в ряде случаев, несмотря на значительные отклонения от нормативов, фертильность может сохраняться, и наоборот, при «нормозооспермии» и исключенном женском факторе, беременность не наступает [7,8]. Проблема диагностики мужского бесплодия остается сложной, особенно в случаях с незначительными изменениями в спермограмме [9]. Об этом говорит и тот факт, что невыясненными (идиопатическими), остаются 40-70 % случаев мужского бесплодия [10]. Наблюдения показывают, что несмотря на особое внимание, которое уделяется этой проблеме, диагностика имеющимися методами затруднена, а шансы на устранение бесплодия неясного генеза чрезвычайно низки [11]. За последнее время появился ряд фундаментальных и прикладных работ по изучению регуляции функциональной активности мужской репродуктивной системы. Вырабатывается па-

радигма многоуровневой системы репродукции, которая обуславливает многофакторность патогенеза мужской фертильности [12]. Таким образом, низкая изученность этиологии и патогенеза мужского бесплодия, высокий процент идиопатического бесплодия среди мужского населения, диктует современной медицине необходимость поиска новых диагностических критериев мужского бесплодия, по результатам которых возможно было бы не только установить диагноз, но и выявить саму причину заболевания, а значит и назначить адекватное лечение для конкретного случая.

Цель исследования - изучить биохимические показатели спермальной плазмы в нормальном и патологическом эякуляте и выявить взаимосвязь изучаемых параметров.

Материал и методы. Исследование выполнено с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов. Лабораторная диагностика проводилась на базе клиник Самарской ГМУ и Тольяттинской городской клинической больницы № 5. Общее число обследованных составило 90 человек. Полученные образцы после изучения морфологических особенностей клеточного состава были поделены на четыре группы: образцы с нормоспермией, с олигоастенотератозооспермией, с азооспермией и с криптозооспермией. В дальнейшем в каждой группе были изучены параметры липидного, углеводного белкового и минеральных обменов. Проведение анализа спермограмм и классификацию показателей эякулята осуществляли в соответствии с 5-м изданием Всемирной организации здравоохранения «Руководства по проведению семиологических исследований» 2010 г. – с соблюдением всех стандартных преаналитических процедур подготовки пациента и биожидкости. Биохимические показатели спермальной плазмы после стандартной пробоподготовки определяли на автоматических биохимических анализаторах «Cobas integra 400+» (Швейцария), с использованием реактивов и контрольных материалов фирмы «Roche» (Германия). Статистическая обработка данных проводилась с помощью традиционных методов описательной статистики с использованием регрессионного, дисперсионного и системного многофакторного анализа, а также с позиции доказательной медицины. Применялся табличный редактор MS Excel со встроенным модулем для статистического анализа данных AtteStat (14). Статистические гипотезы проверены при помощи t-критерия, U-критерия. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 95 \%$, $p < 0,05$.

Результаты. Полученные результаты исследования белкового обмена в спермальной плазме и сыворотке крови представлены в табл. 1. Анализ показал, что достоверное снижение общего белка (в г/л) наблюдается при олигоастенотератозооспермии (27,30 (22,60-36,18)) и азооспермии (17,30(12,35-36,18)), а вот при криптозооспермии показатель практически не отличался от нормы (33,90 (24,48-39,50)), как и уровень альбумина (в г/л) (5,95 (4,55-9,08)). При азооспермии выявлено достоверное снижение альбумина в спермальной плазме 4,40 (3,55-5,55) г/л, а при олигоастенотератозооспермии наоборот повышение до 6,50 (4,83-7,60) г/л по сравнению с нормозооспермией. Что касается фермен-

тов межтучного обмена аминокислот, отмечено их достоверное снижение во всех группах патологии (от олигоастенотератозооспермии до азооспермии). Причем наиболее выраженные отклонения наблюдались при криптозооспермии у АлАТ 33,15(20,93-38,70) Е/л, АсАТ 113,75(100,43-147,85) Е/л. У пациентов с олигоастенотератозооспермией, в нашем исследовании значения АсАТ были минимальными 240,30 (180,55-305,78) Е/л. Анализ ГГТ продемонстрировал некоторые особенности: снижался при олигоастенотератозооспермии 293,72 (246,67-310,49) Е/л и повышался при азооспермии 378,97(353,46-378,97) Е/л. Исследование показателей азотистого обмена выявило, что уровень

Таблица 1

Сравнительная оценка показателей белкового и азотистого обмена в спермальной плазме и сыворотке крови у мужчин с олигоастенотератозооспермией, азооспермией и криптозооспермией.

Метаболиты		Нормозооспермия	Олигоастенотератозооспермия	Азооспермия	Криптозооспермия
		Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)
Общий белок, г/л	Спермальная плазма	34,10(24,60-39,40)	27,30(22,60-36,18)	17,30(12,35-29,40)	33,90(24,48-39,50)
	Сыворотка крови	74,00(72,00-77,00)	74,00(71,00-77,00)	76,00(69,00-79,00)	73,00(71,00-76,00)
	Гемато-спермальный коэффициент	0,45(0,36-0,60)	0,52(0,48-0,56)	-	-
Альбумин, г/л	Спермальная плазма	6,00(4,60-7,80)	6,50(4,83-7,60)	4,40(3,55-5,55)	5,95(4,55-9,08)
	Сыворотка крови	48,20(43,48-50,85)	47,70(40,15-51,90)	-	-
	Гемато-спермальный коэффициент	0,13(0,11-0,16)	0,17(0,13-0,17)	-	-
АЛАТ, Е/л	Спермальная плазма	52,00(37,75-64,65)	44,70(31,50-55,30)	39,70(35,50-49,60)	33,15(20,93-38,70)
	Сыворотка крови	24,50(17,98-34,00)	20,00(15,00-32,00)	20,00(14,00-27,00)	22,00(17,50-45,00)
	Гемато-спермальный коэффициент	2,81(1,33-4,36)	4,22(2,45-6,90)	18,27(12,83-18,27)	-
АСАТ, Е/л	Спермальная плазма	285,80 (224,05-343,15)	240,30 (180,55-305,78)	140,40 (114,03-179,80)	113,75 (100,43-147,85)
	Сыворотка крови	21,00(18,00-26,00)	20,00(16,00-25,90)	20,00(16,00-27,00)	18,00(16,00-29,50)
	Гемато-спермальный коэффициент	13,55(10,46-17,27)	15,73(13,42-17,05)	35,84(34,59-35,84)	-
КФК, Е/л	Спермальная плазма	786,00 (415,00-1348,30)	430,75 (179,18-866,90)	104,30 (67,05-248,25)	162,75 (123,83-354,38)
	Сыворотка крови	135,75(87,50-201,85)	155,80(111,00-185,90)	41,40(27,00-41,40)	-
	Гемато-спермальный коэффициент	5,80(2,42-11,04)	2,95(0,83-7,13)	7,04(1,87-7,04)	-
ГГТ, Е/л	Спермальная плазма	9842,50 (8168,75-14021,55)	8097,20 (6413,75-9715,48)	6343,60 (5688,75-7979,50)	6332,70 (5008,45-10700,2)
	Сыворотка крови	28,00(20,90-44,00)	27,00(19,00-40,40)	27,50(16,75-64,75)	39,00(15,00-45,50)
	Гемато-спермальный коэффициент	352,35 (270,70-525,58)	293,72 (246,67-310,49)	378,97 (353,46-378,97)	-
Мочевина, моль/л	Спермальная плазма	8,30(7,05-9,95)	9,15(7,70-10,85)	7,80(6,35-9,55)	8,90(7,88-11,43)
	Сыворотка крови	5,10(4,40-6,00)	5,10(4,30-5,70)	5,00(3,50-6,50)	4,50(3,85-6,80)
	Гемато-спермальный коэффициент	1,77(1,55-2,31)	2,17(1,72-2,29)	2,82(2,17-2,82)	-
Креатинин, мкмоль/л	Спермальная плазма	513,60 (431,75-673,40)	551,10 (431,83-736,35)	403,60 (351,80-526,85)	527,35 (453,95-670,58)
	Сыворотка крови	83,00(77,00-93,00)	85,00(76,00-93,00)	88,00(72,00-97,00)	83,00(73,00-90,00)
	Гемато-спермальный коэффициент	6,61(5,44-8,64)	8,49(7,04-11,68)	11,03(10,55-11,03)	-
Мочевая кислота, мкмоль/л	Спермальная плазма	314,00 (256,05-384,95)	294,90 (260,98-375,05)	312,90 (202,78-331,13)	267,65 (177,90-400,45)
	Сыворотка крови	343,75 (296,03-393,68)	328,40 (206,40-459,60)	223,05 (188,20-223,05)	-
	Гемато-спермальный коэффициент	0,86(0,77-1,09)	1,00(0,71-1,34)	1,48(1,19-1,48)	-

Примечание. Здесь и в табл. 2-5: P ≥ 95 %, p < 0,05.

мочевины у пациентов с нормоспермией составил 8,30 (7,05-9,95) ммоль/л. При олигоастенотератозооспермии и криптозооспермией уровень был мочевины был повышен и составил 9,15 (7,70-10,85) и 8,90 (7,88-11,43) ммоль/л соответственно. В то же время, у пациентов с азооспермией отмечено снижение уровня мочевины до 7,80 (6,35-9,55) ммоль/л. Уровень креатинина в спермальной плазме возрастал относительно контрольной группы у лиц с олигоастенотератозооспермией 551,10 (431,83-736,35) мкмоль/л и криптозооспермии 527,35 (453,95-670,58) мкмоль/л и снижался при азооспермии 403,60(351,80-526,85) мкмоль/л. Что касается мочевой кислоты, ее уровень также снижался при олигоастенотератозооспермии до 294,90 (260,98-375,05) мкмоль/л, криптозооспермии 267,65 (117,90-400,45) мкмоль/л и при азооспермии, хотя и в наименьшей степени, до 312,90 (202,78-331,13) мкмоль/л.

Результаты исследования ферментной активности, представленные в табл. 2 показывают, что активность некоторых ферментов увеличивается при патологических изменениях спермограммы. Так, активность ами-

лазы при олигоастенотератозооспермии составила 11,35 (8,43-15,45) Е/л, при криптозооспермии 12,55 (9,33-15,63) Е/л, а при полном отсутствии в эякуляте сперматозоидов начинала снижаться и составила 9,20 (8,80-9,95), хотя значений показателей нормоспермии не достигало 8,40 (5,35-12,90). В случае с щелочной фосфатазой установлено достоверное снижение её активности при олигоастенотератозооспермии до 160,85 (115,48-494,20) Е/л, криптозооспермии до 175,90 (105,10-175,90) и наименьший уровень при азооспермии до 127,70 (46,95-892,95) Е/л. В то время как уровень при нормоспермии 249,00 (137,35-535,25) Е/л.

Липидный обмен, результаты исследования которого представлены в табл.3, показал рост некоторых показателей относительно нормы. Так концентрация триглицеридов – растет при олигоастенотератозооспермии (0,21 (0,07-0,34) ммоль/л), азооспермии (0,32 (0,15-0,44) ммоль/л) и криптозооспермии (0,39 (0,37-0,65) ммоль/л) при норме до 0,05 (0,02-0,14) ммоль/л. При этом в отмечено увеличение уровня холестерина в спермальной плазме только у пациентов с азооспермией 0,65 (0,38-

Таблица 2

Сравнительная оценка активности ферментов в спермальной плазме и сыворотке крови у мужчин с олигоастенотератозооспермией, азооспермией и криптозооспермией.

Метаболиты		Нормозооспермия	Олигоастенотератозооспермией	Азооспермия	Криптозооспермия
		Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)
Амилаза, Е/л	Спермальная плазма	8,40(5,35-12,90)	11,35(8,43-15,45)	9,20(8,80-9,95)	12,55(9,33-15,63)
	Сыворотка крови	54,20(42,00-77,53)	38,20(30,60-74,00)	25,75(24,40-25,75)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	0,15(0,09–0,25)	0,32(0,14–0,33)	0,36(0,34–0,36)	–
Липаза, Е/л	Спермальная плазма	29,10(23,60-34,65)	23,70(19,35-31,10)	–	–
	Сыворотка крови	38,40(29,55-45,38)	41,35(31,90-89,35)	–	–
	Гемато-спермальный коэффициент	0,73(0,55–1,12)	0,70(0,32–0,70)	–	–
ЩФ, Е/л	Спермальная плазма	249,00 (137,35-535,25)	160,85 (115,48-494,20)	127,70 (46,95-892,95)	175,90 (105,10-175,90)
	Сыворотка крови	70,80(60,08-84,00)	63,00(53,00-72,00)	75,00(57,00-100,00)	73,00(55,00-78,50)
	Гемато-спермальный коэффициент	3,56(2,00–7,57)	2,71(0,99–67,02)	31,11(1,30–31,11)	–

Таблица 3

Сравнительная оценка показателей липидного обмена в спермальной плазме и сыворотке крови у мужчин с олигоастенотератозооспермией, азооспермией и криптозооспермией

Метаболиты		Нормозооспермия	Олигоастенотератозооспермич	Азооспермия	Криптозооспермия
		Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)	Me (Q1-Q3)
Триглицериды, ммоль/л	Спермальная плазма	0,05(0,02-0,14)	0,21(0,07-0,34)	0,32(0,15-0,44)	0,39(0,37-0,65)
	Сыворотка крови	0,95(0,72-1,37)	0,93(0,57-1,32)	0,63(0,47-0,63)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	2,79(1,23–10,37)	10,64(5,38–72,31)	63,49(29,11–63,49)	–
Холестерин, ммоль/л	Спермальная плазма	0,59(0,27-0,91)	0,53(0,32-0,82)	0,65(0,38-0,78)	0,55(0,34-0,67)
	Сыворотка крови	5,00(4,42-5,77)	4,85(4,53-5,61)	4,97(3,85-6,14)	5,30(4,44-5,64)
	Гемато-спермальный коэффициент	0,12(0,06–0,23)	0,13(0,08–0,16)	0,35(0,34–0,35)	–
ЛПВП, ммоль/л	Спермальная плазма	0,09(0,02-0,19)	0,07(0,03-0,14)	0,10(0,06-0,14)	0,07(0,04-0,08)
	Сыворотка крови	1,27(1,02-1,52)	1,37(0,67-1,63)	0,44(0,40-0,44)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	0,06(0,02–0,16)	0,12(0,01–0,20)	0,27(0,19–0,27)	–
ЛПНП, ммоль/л	Спермальная плазма	0,44(0,20-0,69)	0,36(0,22-0,58)	0,35(0,20-0,53)	0,31(0,30-0,31)
	Сыворотка крови	2,59(2,20-3,29)	2,31(1,17-2,51)	1,27(1,17-1,27)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	0,17(0,08–0,34)	0,15(0,04–0,18)	0,33(0,31–0,33)	–

0,78) ммоль/л, при показателях контрольной группы 0,59 (0,27-0,91) ммоль/л. Что касается липидотранспортной систем, отмечается разнонаправленное изменение липопротеинов высокой плотности: уменьшение при олигоастенотератозооспермии до 0,07 (0,03-0,14) ммоль/л и при криптозооспермии 0,07 (0,04-0,08) ммоль/л, и увеличение при азооспермии до 0,10 (0,06-0,14) ммоль/л. А также и однотипное для всех патоспермий снижение липопротеинов низкой плотности (до 0,36(0,22-0,58) ммоль/л при олигоастенотератозооспермии, 0,35 (0,20-0,53) ммоль/л при азооспермии, до 0,31 (0,30-0,31) ммоль/л при криптозооспермии).

Анализируя изменения уровня глюкозы, в рамках исследования углеводного обмена, результаты которого представлены в табл. 4, установлено, что при олигоастенотератозооспермии уровень глюкозы снижается до 2,48 (1,81-4,71), а при азооспермии и криптозооспермии – увеличивался соответственно 4,20 (3,21-4,39) и 4,29 (2,08-5,49). Аналогичная картина изменений отмечена для лактата при азооспермии и криптозооспермии: пониженный уровень лактата в спермальной плазме соответственно 3,79 (2,89-4,70) и 4,46 (2,76-6,10). При олигоастенотератозооспермии – уровень в спермальной плазме так же снижается до 3,96 (2,89-5,18). Что касается активности ферментов, регулирующих обмен углеводов, то тут отмечается снижение активности ферментов во всех группах с патоспермией. Наиболее выраженное снижение у пациентов с криптозооспермией - до 1004,25 (550,73-1503,00) Е/л активности лактатдегидрогеназы и 825,35 (420,30-1091,05) Е/л активности гидроксибутиратдегидрогеназы. При олигоастенотератозооспермии и азооспермии изменения носили менее выраженный характер, хотя и ниже нормы.

Так же было проведено исследование минерального обмена, представленное в табл. 5. Уровень калия при

олигоастенотератозооспермии имел минимальные отклонения от нормы 27,08 (20,29-33,72) ммоль/л, а при криптозооспермии – максимально выраженные 23,69 (18,08-26,99) ммоль/л. Уровни кальция и фосфора симметрично снижались при олигоастенотератозооспермии 4,80 (4,10-5,22) ммоль/л и 25,73 (18,14-33,06) ммоль/л, а также азооспермии 4,74 (4,44-5,00) ммоль/л и 16,91 (9,96-31,13) ммоль/л соответственно и изменялись они и при криптозооспермии: концентрация кальция максимально снижалась до 4,16 (3,13-4,93) ммоль/л, а концентрация фосфора – увеличивалась до 30,07 (22,88-37,84) ммоль/л. Уровень магния снижается при всех видах патоспермий, причем минимальные цифры отмечены у лиц с криптозооспермией 1,46 (1,06-2,33) ммоль/л, при олигоастенотератозооспермии уровень падает до 2,03 (1,28-3,24) ммоль/л, при азооспермии до 2,17 (1,18-2,41) ммоль/л. Уровень железа снижался в спермальной плазме у пациентов со всеми видами морфологических нарушений сперматозоидов – максимально – от 5,30 (3,83-6,80) ммоль/л при олигоастенотератозооспермии до минимальных значений 3,20 (2,60-5,50) ммоль/л при азооспермии. Однако при олигоастенотератозооспермии отмечено достоверное увеличение концентрации железа в крови до 23,90 (7,80-38,40) ммоль/л. Уровень натрия и хлоридов показал увеличение при олигоастенотератозооспермии и азооспермии: концентрация натрия составила 127,00 (114,38-133,58) ммоль/л и 122,00 (108,73-134,40) ммоль/л, концентрация хлоридов 32,70 (25,13-40,50) ммоль/л и 34,20 (29,00-38,20) ммоль/л. В то время как при криптозооспермии концентрация натрия была примерно равна норме и составила 117,90 (103,78-131,43) ммоль/л, а концентрация хлоридов снизилась до 23,25 (18,50-43,30) ммоль/л при норме 116,70 (112,20-122,15) ммоль/л и 30,30 (25,95-39,55) ммоль/л соответственно.

Таблица 4

Сравнительная оценка показателей углеводного обмена в спермальной плазме и сыворотке крови у мужчин с олигоастенотератозооспермией, азооспермией и криптозооспермией

Метаболиты		Нормозооспермия	Олигоастенотератозооспермия	Азооспермия	Криптозооспермия
		Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)
глюкоза, ммоль/л	Спермальная плазма	2,68(1,51-4,27)	2,48(1,81-4,71)	4,20(3,21-4,39)	4,29(2,08-5,49)
	Сыворотка крови	5,40(5,10-5,70)	5,30(4,90-5,50)	5,60(4,60-5,80)	5,55(4,88-6,13)
	Гемато-спермальный коэффициент	0,61(0,35-0,93)	0,61(0,35-1,25)	1,91(1,86-1,91)	–
Лактат, ммоль/л	Спермальная плазма	5,64(4,54-7,91)	3,96(2,89-5,18)	3,79(2,89-4,70)	4,46(2,76-6,10)
	Сыворотка крови	2,56(1,39-3,60)	1,88(1,32-3,60)	1,76(0,58-1,76)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	2,78(1,32-4,10)	1,95(1,55-6,78)	2,82(1,31-2,82)	–
ЛДГ лактат-пируват, Е/л	Спермальная плазма	2324,80 (1839,25-2835,80)	1679,00 (1156,23-2368,33)	1025,40 (696,60-1592,50)	1004,25 (550,73-1503,00)
	Сыворотка крови	160,60 (144,10-172,85)	176,60 (67,10-204,60)	57,90 (49,20-57,90)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	14,34(10,72-18,26)	11,60(8,34-17,29)	31,46(26,03-31,46)	–
ЛДГ пируват-лактат, Е/л	Спермальная плазма	4801,00 (3858,00-5757,50)	3126,00 (2231,00-4508,00)	2315,00 (1296,00-2799,50)	1952,50 (1060,50-2639,00)
	Сыворотка крови	293,50(254,25-324,50)	249,00(114,00-330,00)	110,00(92,00-110,00)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	17,66(12,36-21,35)	14,59(12,24-18,79)	29,48(23,54-29,48)	–
ГБДГ, Е/л	Спермальная плазма	2310,60 (1582,35-2789,65)	1414,60 (1019,40-2055,50)	942,60 (602,95-1145,70)	825,35 (420,30-1091,05)
	Сыворотка крови	117,10 (101,00-134,00)	131,10 (53,10-134,20)	47,20 (36,40-47,20)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	20,92(14,01-25,94)	11,28(9,35-26,94)	31,09(22,85-31,09)	–

Обсуждение. Исследование показало, что процесс развития патологического состояния эякулята от начальных проявлений до полного отсутствия клеток сперматогенеза приводит к необходимости включения компенсаторных механизмов организма. Об этом говорит в первую очередь незначительное повышение количества альбумина в спермальной плазме на самом начальном этапе развития патологии, как реакции в ответ на снижение собственного производства белка, о котором говорит прогрессивное снижение содержания общего белка по результатам исследования. Причем на этом фоне, АсАТ, традиционно считающийся одним из патологических маркеров разрушения и повреждения сперматозоидов, демонстрирует усиление катаболической выраженности энергетического обмена. Ведь именно АсАТ – важнейший показатель всей биоэнергетики организма, индикатор термогенеза и катаболических процессов. АлАТ в противовес АсАТ является ключевой характеристикой анаболических процессов. [13]. Компенсаторное повышение последнего при олигоастенотератозооспермии связано с попытками повысить белоксинтетические процессы и увеличить заимствования аминокислот в резервных пулах. Соответственно, при усугублении патологии – азооспермии - этот механизм уже не реализуется.

Так же, как и нет возможности реализации механизмов действия амилазы, ведь в самой спермальной плазме практически отсутствуют субстраты для её действия, а количество сперматозоидов, источников субстрата, резко снижается в полость до полного отсутствия [14]. О катаболической направленности энергообмена может говорить и увеличение собственного производства мочевины на фоне уже описанного дефицита белков, о чем свидетельствует преобладание концентрации мочевины спермальной плазмы над мочевиной сыворотки крови. Снижение щелочной фосфатазы в характеристике метаболизма сказывается на ее роли в поддержании глюкозо-фосфатного гомеостаза, а именно в осуществлении процессов трансмембранного фосфорилирования, что напрямую влияет на уровень фосфатов и глюкозы. Об этом говорят достоверные данные по снижению уровня глюкозы в спермальной плазме при олигоастенотератозооспермии и с резким её подъемом при азооспермии и криптозооспермии. Из чего можно предположить, что снижение щелочной фосфатазы, а также липидотранспортных систем при патоспермии приводит к непродуктивному энергорасходу в микроокружении патологических форм и вынужденное включение изолирующих механизмов проникновения глюкозы в спермальную

Таблица 5

Сравнительная оценка показателей минерального обмена в спермальной плазме и сыворотке крови у мужчин с олигоастенотератозооспермией, азооспермией и криптозооспермией

Метаболиты		Нормозооспермия	Олигоастенотератозооспермия	Азооспермия	Криптозооспермия
		Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)	Ме (Q1-Q3)
Калий, моль/л	Спермальная плазма	30,00(25,56-38,08)	27,08(20,29-33,72)	24,73(18,55-28,17)	23,69(18,08-26,99)
	Сыворотка крови	4,42(4,20-4,70)	4,40(4,21-4,70)	4,60(4,40-4,80)	4,40(4,20-4,50)
	Гемато-спермальный коэффициент	6,68(5,27–8,71)	5,83(3,11–10,11)	7,09(5,24–7,09)	–
Натрий, моль/л	Спермальная плазма	116,70 (112,20-122,15)	127,00 (114,38-133,58)	122,00 (108,73-134,40)	117,90 (103,78-131,43)
	Сыворотка крови	141,00(140,00-144,00)	141,00(139,00-144,00)	141,00(138,00-143,00)	140,00(138,50-142,00)
	Гемато-спермальный коэффициент	0,82(0,77–0,84)	0,76(0,69–0,83)	0,92(0,87–0,92)	–
Хлориды, моль/л	Спермальная плазма	30,30(25,95-39,55)	32,70(25,13-40,50)	34,20(29,00-38,20)	23,25(18,50-43,30)
	Сыворотка крови	105,00(103,00-106,00)	105,00(103,00-106,00)	105,00(104,00-106,00)	104,00(103,50-105,50)
	Гемато-спермальный коэффициент	0,29(0,25–0,36)	0,35(0,19–0,40)	0,31(0,24–0,31)	–
Кальций, моль/л	Спермальная плазма	5,24(4,74-5,70)	4,80(4,10-5,22)	4,74(4,44-5,00)	4,16(3,13-4,93)
	Сыворотка крови	2,36(2,29-2,46)	2,27(1,63-2,33)	1,08(1,02-1,08)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	2,20(1,99–2,38)	2,33(1,60–2,77)	4,47(4,04–4,47)	–
Фосфор, моль/л	Спермальная плазма	27,22(22,54-32,51)	25,73(18,14-33,06)	16,91(9,96-31,13)	30,07(22,88-37,84)
	Сыворотка крови	1,00(0,90-1,14)	1,06(0,54-1,15)	0,44(0,37-0,44)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	26,68(22,43–34,92)	26,84(22,72–71,22)	46,60(33,82–46,60)	–
магний, моль/л	Спермальная плазма	3,89(2,72-4,86)	2,03(1,28-3,24)	2,17(1,18-2,41)	1,46(1,06-2,33)
	Сыворотка крови	0,90(0,84-0,93)	0,86(0,52-0,98)	0,35(0,35-0,35)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	4,40(3,08–5,27)	3,46(1,92–4,19)	5,17(3,20–5,17)	–
Железо, мкмоль/л	Спермальная плазма	5,35(3,93-7,85)	5,30(3,83-6,80)	3,20(2,60-5,50)	3,90(3,25-5,23)
	Сыворотка крови	18,90(16,10-22,75)	23,90(7,80-38,40)	10,80(8,80-10,80)	–
	Гемато-спермальный коэффициент	0,32(0,20–0,49)	0,25(0,12–0,88)	0,47(0,25–0,47)	–

плазму из крови через гемато-спермальный барьер, что свидетельствует о снижении производства лактата. Такого рода изменения, возможно, характеризуют увеличение проницаемости гемато-тестикулярного барьера для этого метаболита, чем можно объяснить изменения рН среды в кислую сторону, что является одним из факторов угнетения сперматозоидов [15]. Идентичная картина наблюдается и для гидроксипутиратдегидрогеназы, как одной из вариативных форм фермента, способной превращать и гидроксипутират из липидного обмена, то есть влиять на соотношение углеводного и липидного обмена. Возможно, повышенные концентрации липидов, отмеченные ранее, можно связать и с этим фактом. Триглицериды «традиционно» рассматриваются как один из факторов поддержания жизнеспособности сперматозоидов в спермальной плазме [16]. Полученные данные могут характеризовать компенсаторные реакции организма, направленные на поддержание жизнеспособности минимальных количеств сперматозоидов. Однако гиперлипидемия (и гипертриглицеридемия и гиперхолестеринемия) описываются как часть неспецифического иммунного ответа. Так, по литературным данным, установлено, что умеренное повышение уровня холестерина соответствует большей функциональной активности системы иммунитета [17]. Установлено, что липопротеины конкурируют с вирусами за клеточные рецепторы, связывают токсины, нейтрализуя их действие. Высокая роль в этом вопросе и креатинина. Возможно, увеличение его концентрации при олигоастенотератозооспермии и криптозооспермии отражает компенсаторную реакцию организма, резервы которой исчерпываются при полном нарушении сперматогенеза. Что же касается практически всех показателей минерального обмена, то отмечено снижение их концентраций при всех видах патоспермий. Исключением стали только натрий и хлориды, содержание которых увеличивалось. Снижение концентрации кальция, который является важным фактором, регулирующим проницаемость клеточных мембран, приводит к появлению свободной фосфор в плазме, что проявляется общим угнетением метаболизма и продукции, макроэргов- в частности. Магний- будучи облигатным кофактором, участвует во многих ферментативных реакций. При истощении запасов магния снижается и синтез белка, что уже ранее было нами отмечено у пациентов с патоспермией. Литературные данные указывают также на то, что при снижении концентрации магния, происходит увеличение числа патологических и неподвижных форм сперматозоидов [19]. При дефиците железа снижается активность альдегидоксидазы, аминоксидазы, нарушается биосинтез ДНК. Интересная особенность гемато-спермального коэффициента, касающаяся показателей минерального обмена заключается в том, что этот показатель снижается при олигоастенотератозооспермии для всех параметров, за исключением кальция, и возрастает при азооспермии для всех исследуемых анализов. Видимо, это характеризует различные патогенетические механизмы регуляции проницаемости гемато-тестикулярного барьера в этих группах.

Заключение. Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Развитие морфофункциональной патологии в эякуляте приводит к прогрессивному снижению показателей метаболических процессов.
2. Снижение концентрации в спермальной плазме белковых компонентов, трансаминаз, а так же рост не-

белковых азотистых включений говорит о преобладании катаболического механизма энергообмена

3. Рост глюкозы, несмотря на угнетение трансмембранных путей поступления за счет снижения концентрации щелочной фосфатазы и липидотранспортных систем, связан с вынужденным включением изолирующих механизмов проникновения глюкозы в спермальную плазму из крови через гемато-спермальный барьер.

4. Повышение содержания липидов в спермальной плазме, а также рост креатинина на начальных этапах развития патологии, может характеризоваться компенсаторной реакцией направленной на поддержание жизнеспособности минимальных количеств сперматозоидов.

5. Расстройство минерального обмена наблюдается при всех формах патологии эякулята, что в целом сказывается на реализации остальных обменных процессов за счет снижения активности ферментных систем, нарушения проницаемости клеточных мембран и повышения агрегации сперматозоидов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фролова Н.И., Белокриницкая Т.Е., Анохова Л.И., Богомазова Т.В. Эпидемиология и структура бесплодия у девушек 18-25 лет Забайкальского края. *Мать и Дитя в Кузбассе*. 2015; 2(61): 94-7.
2. Руководство ВОЗ по стандартизированному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар. М.: «МедПресс»; 1997: 90-1.
3. Овсянникова Т.В. Эпидемиология бесплодного брака. Практическая гинекология (Клинические лекции). Кулаков В.И., В.Н. Прилепская В.Н., ред. М.: МЕДпресс-информ; 2001.
4. Ринчиндоржиева М.П., Колесников С.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В. Эпидемиология женского бесплодия городского населения республики Бурятия. *Acta biomedica scientifica*. 2011; 2(80): 295-8.
5. Кравцова Н.С., Роживанов Р.В., Курбатов Д.Г. Современные методы гормональной стимулирующей терапии нарушений сперматогенеза у мужчин. *Вестник Репродуктивного Здоровья*. 2010;12: 9-13.
6. Евдокимов В.В., Туровецкий В.Б. Электромагнитное излучение и фертильность. Мужское здоровье и долголетие. Материалы Российского научного форума. М.; 2007; 40-1.
7. Николаев А.А., Луцкий Д.Л., Ложкина Л.В. Белковый спектр эякулятов различной фертильности. *Урология и нефрология*. 1998; 2: 48-52.
8. Капто А.А., Виноградов И.В., Дендеберов Е.С., Амирьян Г.М. Руководство по клинической андрологии. М.: «Медпрактика-М»; 2008.
9. Козляткин А.Ю., Комарова М.В. Оценка семенной жидкости в диагностике мужского бесплодия. Материалы научно-практической конференции «Самарскому государственному медицинскому университету 80 лет». Самара; 1999:121.
10. Кореньков Д.Г., Калинина С.Н., Фесенко В.Н., Павлов А.Л. Роль гипербарической оксигенации в сочетании с антиоксидантами в лечении идиопатического мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия*. 2017; 18(4): 43-54.
11. Неймарк А.И., Алиев Р.Т. Значение исследования энзимов спермальной плазмы в патогенезе относительного мужского бесплодия. *Урология и нефрология*. 2000; 3: 34-7.
12. Евдокимов В.В., Коршунов М.Н., Коршунова Е.С., Айбатов Д.Т., Рабинович Э.З., Герасименя В.П. и др. Антиоксидантная терапия при сниженной фертильности у мужчин. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2010; 10:38-42.
13. Рослый И.М., Водолажская М.Г. Правила чтения биохимического анализа. Руководство для врача. М.: ООО Медицинское информационное агентство; 2010.

БИОХИМИЯ

14. Базарнова М.А., Пекус Е.Н., Борисенко Ю.А. Цитохимические методы исследования спермы. *Лабораторное дело*. 1987;8: 604-6.
15. Логинов П.В. Репродуктивная функция мужчин, подверженных воздействию неблагоприятных факторов. *Фундаментальные исследования*. 2015; 2(27): 6043-9.
16. Антонов М.П., Жигулина В.В. Влияние биохимических изменений липидов сперматозоидов и спермоплазмы на фертильность эякулята. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2012;10(3): 47-51.
17. Доценко Э.А., Юпатов Г.И., Чиркин А.А. Холестерин и липопротеины низкой плотности как эндогенные иммуномодуляторы. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2001; 3: 6-15.
18. Фокина Е., Рослый И. Биохимический паспорт человека: 6 субстратов и 6 ферментов. *Врач*. 2014; 7: 6-12.
19. Гетманенко А.Ю., Бугаева Л.И., Спасов А.А., Лебедева С.А., Кузубова Е.А., Мальцев М.С. Исследование полового поведения и сперматогенеза у крыс-самцов с экспериментальным дефицитом магния. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2016;4(60): 20-3.
7. Nikolaev A.A., Luckij D.L., Lozhkina L.V. Protein spectrum of ejaculates of various fertility. *Urologiya i nefrologiya*. 1998; 2: 48-52.
8. Kapto A.A., Vinogradov I.V., Dendeberov E.S., Amirhanjan G.M. *Rukovodstvo po klinicheskoy andrologii*. Moscow: «Medpraktika-M»; 2008. (in Russian)
9. Kozlyatkin A.Yu., Komarova M.V. Assessment of seminal fluid in the diagnosis of male infertility. [Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Samarskomu gosudarstvennomu meditsinskomu universitetu 80 let»]. Samara; 1999:121. (in Russian)
10. Korenkov D.G., Kalinina S.N., Fesenko V.N., Pavlov A.L. The role of hyperbaric oxygen therapy and antioxidant administration in treatment of idiopathic male infertility. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2017; 18(4): 43-54. (in Russian)
11. Nejmark A.I., Aliev R.T. The significance of the study of sperm plasma enzymes in the pathogenesis of relative male infertility. *Urologiya i nefrologiya*. 2000; 3: 34-7. (in Russian)
12. Evdokimov V.V., Korshunov M.N., Korshunova E.S., Aibiatov D.T., Rabinovich E.Z., Gerasimenya V.P. et al. Antioxidant therapy in male fertility reduction. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya urologiya*. 2010; 10: 38-42. (in Russian)
13. Roslyj I.M., Vodolazhskaja M.G. Rules for interpretation biochemical analysis. Doctor's guide. Moscow: OOO Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2010. (in Russian)
14. Bazarnova M.A., Pekus E.N., Borisenko Ju.A. Cytochemical methods for the study of sperm. *Laboratornoe delo*. 1987; 8: 604-6. (in Russian)
15. Loginov P.V. Reproductive function in men exposed to adverse environmental factors. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015; 2(27): 6043-9. (in Russian)
16. Antonov M.P., Zhigulina V.V. Effect of biochemical changes of spermatozoon and spermoplasma lipids on ejaculate fertility. *Verhnevolskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 10(3): 47-51. (in Russian)
17. Dotsenko E.A., Yupatov G.I., Chirkin A.A. Cholesterol and low-density lipoproteins as endogenous immunomodulators. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2001; 3: 6-15. (in Russian)
18. Fokina E., Rosly I. Biochemical data rights - 6 substrates and 6 enzymes. *Vrach*. 2014; 7: 6-12. (in Russian)
19. Getmanenko A.Yu., Bugaeva L.I., Spasov A.A., Lebedeva S.A., Kuzubova E.A., Maltsev M.S. Study of sexual behavior and spermatogenesis in male rats with experimental magnesium deficiency. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016;4(60): 20-3. (in Russian)

REFERENCES

Поступила 17.05.19

Принята к печати 25.06.19

ГЕМАТОЛОГИЯ

© ШАХВЕРДИЕВА И.Д., 2019

Шахвердиева И.Дж.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПСИДИНА И ДРУГИХ БЕЛКОВ – РЕГУЛЯТОРОВ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА В РАЗЛИЧНЫЕ ТРИМЕСТРЫ БЕРЕМЕННОСТИ

Азербайджанский медицинский университет, 1022, Баку, Азербайджан

Целью исследования явилось определение уровня некоторых показателей метаболизма железа при анемии беременных. В крови 39 анемичных женщин с повторной беременностью определены уровни сывороточного железа, ферропортина и гепсидина. Группу сравнения составили 19 беременных женщин без анемии. Контрольную группу составили 15 небеременных женщин с нормальным уровнем гемоглобина. Измерение концентрации гемоглобина проводилось на гематологическом автоанализаторе «Mythic18». Концентрацию гепсидина и ферропортина определяли с помощью наборов реагентов «Cloud Clone Corp.» (США), а ферритина – реагентов фирмы «Pishtaz teb» (Иран) на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 303+ (США). В ходе исследования у беременных с анемией выявлено значительное снижение уровня ферритина, гепсидина и значительное повышение ферропортина. Отметим, что нарушения в обмене железа у беременных усугубляются с возрастанием сроков беременности. Комплексное определение различных показателей обмена железа дает важную информацию не только для понимания патогенеза железодефицитной анемии у беременных, но и для ранней диагностики заболевания и назначения правильного лечения.

Ключевые слова: анемия; беременность; гепсидин; ферропортин.

Для цитирования: Шахвердиева И.Дж. Изучение гепсидина и других белков – регуляторов обмена железа в различные триместры беременности. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 477-480.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-477-480>

Shahverdiyeva I.J.

STUDY OF HEPSIDIN AND OTHER REGULATORY PROTEINS IN DIFFERENT PERIODS OF PREGNANCY

Department of Biochemistry of Azerbaijan Medical University, Baku

This research paper presents the results of a study of some indicators of iron metabolism in anaemia in pregnant women. The venous blood of 39 pregnant women with anaemia was examined. Serum ferritin, ferroportin and hepcidin were investigated for this purpose. The comparison group consisted of 19 pregnant women without anaemia. The haemoglobin concentration was measured by using «Mythic-18» haematological autoanalyzer. The concentrations of hepcidin and ferroportin were determined by using «Cloud-Clone Corp.» (USA), and ferritin concentrations were determined by using «Pishtaz teb» (Iran) reagents through enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The study revealed a significant decrease in the level of ferritin, hepcidin and a significant increase in ferroportin level. A comprehensive definition of various indicators of iron metabolism provides important information not only for understanding the pathogenesis of iron deficiency anaemia in pregnant women but also for early diagnosis of the disease and the appointment of the correct treatment.

Key words: iron; anaemia; pregnancy; hepcidin; ferroportin.

For citation: Shahverdiyeva I.J. Changes of cytokine profile in the blood of pregnant women with anemia. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 477-480 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-477-480>

For correspondence: Shahverdiyeva Ilahe Jamshid, researcher of Scientific Research Laboratory at the Department of Biochemistry; e-mail: ilahashahverdiyeva@gmail.com

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.07.2019
Accepted 12.07.2019

Введение. Высокая распространенность анемии беременных является чрезвычайно актуальной проблемой медицины. Железодефицитная анемия (ЖДА) является самой распространенной формой среди анемий беременных и составляет около 90%. ЖДА приводит к неблагоприятным последствиям как для беременной (тяжелое

течение беременности, родов, послеродового периода; увеличение частоты преждевременных родов, плацентарной недостаточности; угроза прерывания беременности; инфекционные осложнения), так и для плода (гипотрофия плода). При повторной беременности анемия еще более усугубляется, повышая риск возникновения осложнений. В связи с этим, изучение патогенеза ЖДА у беременных имеет большое значение для разработки новых принципов лечения [5].

Механизм развития ЖДА при беременности до конца еще не выяснен, но предполагается, что в основе патоло-

Для корреспонденции: Шахвердиева Илаха Джамшид кызы, ст. лаборант НИЛ при кафедре биохимии; e-mail: ilahashahverdiyeva@gmail.com

гии стоит нарушение равновесия между повышенным расходом железа и его поступлением в организм, в результате чего развиваются железодефицитные состояния различной степени тяжести. При беременности сывороточное железо остается ниже нормальных величин вследствие уменьшения поступления железа в плазму из макрофагов, которые расщепляют гемоглобин (Hb) эритроцитов, а также в результате усиления блока кишечного всасывания [4].

Как известно, гомеостаз железа осуществляется целым рядом белков и является уникальным процессом, демонстрирующим природную защиту организма от самого мощного окислителя – свободной молекулы железа. Основными регуляторными белками обмена железа являются ферропортин, ферритин, лактоферритин и гепсидин [6,12].

Ферропортин служит основным трансмембранным транспортером железа из тканей. Он экспортирует железо в плазму из двенадцатиперстной кишки (контроль поглощения), из макрофагов и гепатоцитов (контроль освобождения железа – продукта катаболизма эритроцитов и запаса железа в ферритине), а в плазме железо связывается с трансферрином [6].

Гепсидин считается основным регулятором обмена железа и ключевым фактором в развитии анемии. Связываясь с ферропортином, он снижает его функциональную активность, в результате чего блокируется поступление железа из разных клеток и тканей. В энтероците воздействие гепсидина приводит к уменьшению транспорта железа через базолатеральную мембрану и снижению всасывания железа. Кроме этого, гепсидин блокирует высвобождение железа из макрофагов и снижает способность красного костного мозга его усваивать [2,1].

Ферритин – это сложный белковой комплекс, который состоит из трехвалентного железа и протеина – апоферритина; он необходим для накопления и хранения запасов железа, поэтому является главным участником метаболизма железа [3,7]. Ферритин играет также важную роль в переносе железа в кишечнике и плаценте, т.е. является медиатором при соединении железа с трансферрином и в переносе его от матери к плоду.

Клиническая диагностика дефицита железа в организме путем отбора проб костного мозга в большинстве случаев нецелесообразна. Сывороточный ферритин (СФ) является наиболее часто используемым индикатором для определения дефицита железа. Тем не менее, существуют значительные различия в пороговых значениях СФ, рекомендованные различными группами экспертов. Имеющиеся ограниченные данные позволяют предположить, что обычно рекомендуемая пороговая концентрация СФ составляет 12 нг/л [3].

Нормативные данные уровня железо регуляторных белков для беременных женщин очень скудные. Большинство данных взяты из исследований, проведенных 30 лет назад. Они не отражают этнические и географические разнообразия контингента исследования и выполнены старыми лабораторными методами, что предопределяет необходимость дальнейших комплексных исследований показателей метаболизма железа при беременности.

Целью данной работы явилось изучение некоторых показателей метаболизма железа при ЖДА во время повторной (2-й, 3-й и т.д.) беременности.

Материал и методы. Было проведено аналитическое, наблюдательное, рандомизированное, научное, проспективное, продольное и клиническое (лаборатор-

ное) исследование. В данной работе были обследованы 19 беременных женщин с нормальным уровнем Hb в возрасте 18-35 (24,6±1,0) лет и 39 беременных (повторная беременность) с ЖДА в возрасте 19-34 (26,3±0,6) лет. Контрольную группу составили 15 небеременных женщин с нормальным уровнем гемоглобина.

У всех женщин определяли концентрацию некоторых белков-регуляторов обмена железа – гемоглобина, ферропортина, ферритина и гепсидина.

Диагноз анемии устанавливали по нормам центра контроля заболеваний в США, они используют в качестве нижних границ концентрации Hb в I и III триместрах беременности - 110 г/л, во II триместре – 105 г/л. Часто очень трудно определить, чем обусловлено небольшое снижение концентрации Hb: анемией или гемодилуцией [4,5].

Измерение концентрации гемоглобина проводилось на гематологическом автоанализаторе «Mythic18». Концентрацию гепсидина и ферропортина определяли с помощью наборов реагентов “Cloud Clone Corp.” (США), а ферритина - реагентов фирмы “Pishtaz teb” (Иран) на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 303+ (США).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни-Уилкоксона. Данные представлены как $M \pm m$ (M - средняя величина показателя, m - ошибка средней). Статистическая обработка данных выполнялась в программе SPSS Statistics 20 (США) при помощи компьютерных программ Microsoft Excel XP, Windows 2013. Статистически достоверным считали уровень значимости различий средних показателей при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В результате исследования выявлено статистически достоверное снижение гемоглобина у беременных с анемиями. Так, концентрация Hb составила в первом триместре 96,9±1,6 г/л, во втором триместре – 91,8±1,6 г/л, в третьем триместре – 86,9±1,7 г/л, в то время как у беременных без анемии, в первом триместре – 121,8±1,8 г/л, во втором триместре – 106,3±0,7 г/л, в третьем – 113,6±0,8 г/л, а в контроле – 122,7±1,8 г/л (см.таблицу).

Очевидно, что делать выводы о содержании железа в организме лишь по уровню гемоглобина нельзя. О железодефицитной этиологии анемии свидетельствует снижение уровня гемоглобина наряду со снижением СФ [9,10].

Концентрация СФ у беременных с ЖДА была статистически достоверно ниже, чем у беременных без анемии. Так в первом триместре концентрация СФ составила – 18,0±0,9 нг/мл (в 3,3 раза; $p < 0,001$), во втором триместре – 14,8±0,6 нг/мл (в 2,8 раза; $p = 0,002$), в третьем триместре – 6,7±0,3 нг/мл (в 7,1 раза; $p < 0,001$). Значительное понижение СФ указывает на наличие абсолютного дефицита железа у беременных женщин с ЖДА. Снижение уровня ферритина в сыворотке крови при дефиците железа в организме может быть связано как с недостаточным поступлением железа с пищей, так и с нарушениями его всасывания при патологических изменениях слизистой оболочки тонкой кишки.

В результате исследования также выявлено значительное снижение уровня гепсидина в сыворотке крови беременных с ЖДА. Средний уровень гепсидина у этих пациенток в первом триместре составил 2,12±0,18 нг/мл (в 3,4 раза; $p = 0,025$), во втором триместре – 2,26±0,27 нг/мл (в 3,1 раза; $p = 0,015$), а третьем триместре – 3,34±0,29 нг/мл (в 2,2 раза; $p = 0,001$).

Показатели обмена железа при физиологической беременности и анемии беременных (M±m, min-max)

Показатель	Группы						
	Контроль, n=15	Беременность без анемии, n=19			Беременность с анемией (повторная беременность), n=39		
		I триместр	II триместр	III триместр	I триместр	II триместр	III триместр
Hb г/л	122,7±1,8 (111-135)	121,8±1,8 (116-127)	106,3±0,7 (105-109) p<0,001	113,6±0,8 (111-117) p=0,003	96,9±1,6 (72-116) p<0,001 p ₁ <0,001	91,8±1,6 (69-107) p<0,001 p ₁ =0,001 p ₂ =0,037	86,9±1,7 (63-103) p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Ферритин нг/мл	55,3±5,2 (23,3-94,2)	59,1±13,3 (28,6-117)	41,6±10,1 (12,3-83)	47,1±8,8 (26,3-97)	18,0±0,9 (9-36) p<0,001 p ₁ <0,001	14,8±0,6 (9-28) p<0,001 p ₁ =0,002 p ₂ =0,009	6,7±0,3 (3-10) p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Ферропортин нг/мл	0,25±0,02 (0,16-0,31)	0,23±0,03 (0,09-0,33)	0,29±0,02 (0,02-0,34)	0,26±0,03 (0,09-0,34)	0,65±0,12 (0,23-1,44) p=0,001 p ₁ =0,002	0,77±0,12 (0,3-1,59) p<0,001 p ₁ =0,002	0,97±0,12 (0,3-1,78) p<0,001 p ₁ =0,001
Гепсидин нг/мл	5,10±0,77 (3,4-10,2)	7,17±2,38 (2,2-16,6)	7,08±2,20 (2,2-16,6)	7,21±0,99 (4,3-11,9) p=0,049	2,12±0,18 (0,99-2,84) p<0,001 p ₁ =0,025	2,26±0,27 (1,03-3,36) p<0,001 p ₁ =0,015	3,34±0,29 (1,74-4,6) p=0,017 p ₁ =0,001 p ₂ =0,004

Примечание. p - уровень значимости по сравнению с контролем; p₁ - по сравнению с беременными без анемии; p₂ - по сравнению с первым триместром беременных с анемиями.

Была отмечена тенденция к повышению концентрации гепсидина в третьем триместре. Увеличение уровня гепсидина в крови может быть естественной реакцией организма на увеличение кишечного всасывания железа. В этом периоде повышенное содержание этого белка приводит к недостатку железа для синтеза Hb [9,10].

Изменение содержания гепсидина при анемии может быть опосредовано тканевой гипоксией, повышением уровня эритропоэтина или снижением содержания сывороточного и тканевого железа вследствие его потребления предшественниками эритроцитов. Синтез гепсидина подавляется эритропоэтином, что обеспечивает поступление достаточного количества железа в костный мозг и активный эритропоэз [9].

Повышение уровня гепсидина в третьем триместре беременности может быть вызвано изменениями цитокинового профиля, происходящими при подготовке организма к родам [8].

Установлено, что уже на 5-й неделе внутриутробного развития в тканях плода происходит синтез гепсидина, т.е. контроль за поступлением железа существует с самых ранних этапов эмбриогенеза. В маточно-плацентарной единице гепсидин, вызывающий деградацию синцитиотрофобласта ферропортина, регулирует высвобождение железа в кровообращение плода. Пониженный уровень выработки гепсидина при анемиях беременности способствует улучшению абсорбции железа и сокращению его задержки в макрофагах [11].

По результатам наших исследований, в сыворотке крови беременных с ЖДА наблюдается значительное повышение содержания ферропортина по сравнению с данными беременных без анемии. В первом триместре уровень ферропортина составил 0,65±0,12 нг/мл (в 2,8 раза; p=0,002), во втором триместре – 0,77±0,12 нг/мл (в 2,6 раза; p=0,002), а в третьем триместре – 0,97±0,12 нг/мл (в 3,8 раза; p=0,001) в то время как у беременных без анемии (первый триместр – 0,23±0,03 нг/мл, второй триместр – 0,29±0,02 нг/мл, третьей триместр – 0,26±0,03

нг/мл; контроль – 0,25±0,02 нг/мл). Повышение ферропортина является компенсаторным, и оно приводит к увеличению всасывания железа и усилению высвобождения железа из макрофагов.

Таким образом, выявленные у женщин с анемией при повторной беременности нарушения обмена железа (выраженное снижение уровня ферритина и гепсидина в сочетании с повышением концентрации ферропортина) указывают на железодефицитный характер анемии. Снижение уровня железа в крови приводит к снижению его содержания в транспортных формах и его внутриклеточных запасов с последующим снижением уровня Hb. Отметим, что нарушения в обмене железа у беременных усугубляются с возрастанием сроков беременности. Комплексное определение различных показателей обмена железа дает важную информацию не только для понимания патогенеза ЖДА у беременных, но и для ранней диагностики заболевания и назначения правильного лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 9 – 12 см. REFERENCES)

1. Аиари М. Роль показателей гепсидина и эндогенного эритропоэтина для определения лечебной тактики при анемиях беременных. Дисс...канд.мед.наук. Иваново: 2017.
2. Аиари М., Демихов В.Г., Миров И.М., Зиновьева Е.Н., Журина О.Н., Демихова Е.В. Роль гепсидина при основных железодефицитных синдромах у беременных. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.* 2016;24(4): 96-103.
3. Бобров С. А., Репина М. А., Клищенко О. А. Сывороточный ферритин как фактор прогноза развития железодефицитной анемии у беременных женщин. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2011; 3: 49-55.
4. Виноградова М.А., Фёдорова Т.А. Железодефицитная анемия во время беременности – профилактика и лечение. *Медицинский Совет.* 2015; 9: 78-82.

ГЕМАТОЛОГИЯ

5. Демихов В.Г., Аиари М., Зиновьева Е.Н., Демихова Е.В., Милов И.М., Румянцев А.Г. Применение препаратов рекомбинантного человеческого эритропоетина для лечения анемий беременных. *Гематология*. 2016; 5(122): 29-35.
6. Лукина Е.А., Деженкова А.В. Метаболизм железа в норме и при патологии. *Клиническая онкогематология*. 2015; 8(4): 355-361.
7. Стуклов Н.И., Семенова Е.Н. Железодефицитная анемий. Современная тактика диагностики и лечения, критерии эффективности терапии. *Практическая медицина*. 2013;12: 61-67
8. Шахвердиева И.Дж., Гулиев М.Р., Нариманова Г.В., Керимова И.А. Изменение цитокинового профиля в крови беременных с анемией. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(4): 234-6.
5. Demikhov V.G., Ayari M., Zinovyeva E.N., Demikhova E.V., Mirov I.M., Rumyantsev A.G. Human Recombinant erythropoietins for treatment of anemia in pregnancy. *Hematologiya*. 2016; 5(122): 29-35.
6. Lukina E.A., Dezhenkova A.V. Iron metabolism in normal and pathological conditions. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2015; 8(4): 355-61. (in Russian)
7. Stuklov N.I., Semenova E.N. Iron deficiency anemia. Modern diagnostic and treatment strategy. Criteria for therapeutic efficacy. *Prakticheskaya meditsina*. 2013;12: 61-7. (in Russian)
8. Shahverdiyeva I.J., Guliyev M.R., Narimanova G.V., Kerimova I.A. Changes of cytokine profile in the blood of pregnant women with anemia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64(4): 234-6. (in Russian)

REFERENCES

1. Ayari M. The role of indicators hepcidin and endogenous erythropoietin to determine the treatment tactics for anemia of pregnant women: Diss. Ivanovo; 2017. (in Russian)
2. Ayari M., Demikhov V.G., Mirov I.M., Zinovyeva E.N., Zhourina O.N., Demikhova E.V. The role of hepcidin in the main iron-deficiency syndromes in pregnancy. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2016; 24(4): 96-103. (in Russian)
3. Bobrov S. A., Repina M. A., Klitcenko O. A. Serum ferritin as a factor in the prognosis of the development of iron deficiency anemia in pregnant women. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2011; 3: 49-55. (in Russian)
4. Vinogradova M.A., Fodorova T.A. Iron deficiency anemia during pregnancy - prevention and treatment. *Meditsinskiy Sovet*. 2015; 9: 78-82. (in Russian)
9. Bregman D.B., Morris D., Koch T.A., He A., Goodnough L.T. Hepcidin levels predict non-responsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anaemia. *Am. J. Hematol*. 2013;88(2): 97-101.
10. Breyman C., Honegger C., Holzgreve W., Surbek D. Diagnosis and treatment of iron-deficiency anaemia during pregnancy and postpartum. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2010; 282(5): 577-80.
11. Koenig M.D., Tussing-Humphreys L., Day J., Cadwell B., Nemeth E. Hepcidin and Iron Homeostasis during Pregnancy. *Nutrients*. 2014; 6: 3062-83.
12. Lopez A., Cacoub P., Macdougall I. C., Peyrin-Biroulet, L. Iron deficiency anaemia. *The Lancet*. 2016; 387(10021): 907-916.

Поступила 10.07.19
Принята к печати 12.07.19

ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Сарибекян Э.К.¹, Беляков М.М.¹, Славнова Е.Н.¹, Тукмаков А.Ю.^{1,2}

КОМПЛЕКСНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ (ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ, ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ) ДИАГНОСТИКА ПАПИЛОМАТОЗА СОСКА В СОЧЕТАНИИ С СУБАРЕОЛЯРНОЙ СКЛЕРОЗИРУЮЩЕЙ ПРОТОВОКОВОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

¹Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава РФ, 125284, Москва, Россия;
²ГБОУ ВПО Сеченовский университет, кафедра онкологии и радиотерапии, 119991, Москва, Россия

Представлено клиническое наблюдение доброкачественного пролиферативного образования молочной железы редкой гистологической формы – субареолярной склерозирующей протоковой гиперплазии в сочетании с папилломатозом соска. Патология относится к группе комплексных склерозирующих поражений. При постановке морфологического (цитологического, гистологического) диагноза необходимо учитывать клиническую картину – состояние сосково-ареолярного комплекса, в частности наличия/отсутствия выделений из соска и его вовлеченность в патологический процесс.

Ключевые слова: субареолярная склерозирующая протоковая гиперплазия; папилломатоз соска; аденоз; комплексное склерозирующее поражение; внутрипротоковая папиллома.

Для цитирования: Сарибекян Э.К., Беляков М.М., Славнова Е.Н., Тукмаков А.Ю. Комплексная морфологическая (цитологическая, гистологическая) диагностика папилломатоза соска в сочетании с субареолярной склерозирующей протоковой гиперплазией (случай из практики). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 481-483
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-481-483>

Saribekyan E.K.¹, Belyakov M.M.¹, Slavnova E.N.¹, Tukmakov A.Yu.^{1,2}

COMPLEX MORPHOLOGICAL (CYTOLOGICAL, HISTOLOGICAL) DIAGNOSTICS OF PIPILLOMATOSIS NIPPING IN COMBINATION WITH SUBAREOLAR SCLROSE PROTECTIVE HYPERPLASIA (CASE FROM PRACTICE)

¹P.Hertsen's Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Public Health of Russian Federation;

²Medical University Sechenovskiy University, Department of Oncology and Radiotherapy

A case of benign proliferative formation of the mammary gland of a rare histological form - subareolar sclerosing ductal hyperplasia in combination with papillomatosis of the nipple is presented. Pathology belongs to the group of complex sclerosing lesions. When setting the morphological (cytological, histological) diagnosis, it is necessary to take into account the clinical picture – the state of the nipple-areola complex, in particular, the presence / absence of nipple discharge and its involvement in the pathological process.

Key words: subareolar sclerosing ductal hyperplasia; papillomatosis of the nipple; adenosis; complex sclerosing lesion; intraductal papilloma.

For citation: Saribekyan E.K., Belyakov M.M., Slavnova E.N., Tukmakov A.Yu. Complex morphological (cytological, histological) diagnostics of pipillomatosis nipping in combination with subareolar sclrose protective hyperplasia (case from practice). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 481-483 (in Russ.).
DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-481-483>

For correspondence: Slavnova E.N., Doctor of Medical Sciences, lead researcher of the department of cytology;
e-mail: slavnov@rambler.ru

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

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

Received 15.04.2019
Accepted 12.07.2019

Введение. В центральной зоне молочной железы, включающей сосок, ареолу и ретроареолярную область, имеется много эпителиальных клеточных структур, которые могут быть источником развития разнообразных гиперпластических и диспластических процессов,

формирования доброкачественных и злокачественных новообразований. В единичных публикациях описаны редкие гистологические формы образований – субареолярная склерозирующая протоковая гиперплазия и флоридный (цветущий) папилломатоз соска. По гистологическим препаратам, особенно по данным дооперационной core-биопсии, дифференцировать вышеуказанные поражения затруднительно. Для правильной диагностики необходимо учитывать и макроскопическую

Для корреспонденции: Славнова Елена Николаевна, д-р мед. наук, цитолог, вед. науч. сотр. отд-ния онкоцитологии ФГБУ;
e-mail: slavnov@rambler.ru

картину изменений, и клинические факторы: наличие или отсутствие вовлечения соска и кровянистых выделений из него.

Комплексное склерозирующее гиперпластическое поражение (Complex sclerosing papillary hyperplastic lesion) – изменения молочной железы, характеризующиеся наличием склеротически изменённой стромы, различных вариантов протоковой эпителиальной гиперплазии, перемежающимися участками склерозирующегося аденоза и небольшими, часто склерозирующимися микропапилломами [1]. Типичным представителем этой группы образований можно считать субареолярную склерозирующую протоковую гиперплазию (Subareolar sclerosing ductal hyperplasia) (ССПГ) – термин впервые использованный Rosen в 1987 году для описания особого варианта поражения молочных желёз, расположенного в подсосковой области [2]. Для описания данных изменений, иногда используются обобщённые клинические термины – «склерозирующая папиллома», «комплексная склерозирующая папиллома», «склерозирующая протоковая пролиферация», «неинкапсулированное склерозирующее поражение», «инфильтрирующий эпителиоз» и «протоковый папилломатоз» [3]. Дифференциальную диагностику комплексного склерозирующего папиллярного гиперпластического поражения необходимо проводить с «эпителиозом» (типичной протоковой гиперплазией), «индуративной мастопатией», радиальным рубцом, внутрипротоковой папилломой и инвазивным раком.

Субареолярная склерозирующая протоковая гиперплазия может создавать опухолевидную массу в субареолярной или центральной зонах молочной железы без вовлечения соска или ареолы. Крайне редко образования достигают размеров, позволяющих проводить их физикальное исследование [4]. При маммографии иногда неровные, звёздчатые контуры поражения могут имитировать инвазивный рак. Использовать термин ССПГ возможно лишь в тех случаях, когда имеющиеся изменения имеют чёткие клинико-патологоанатомические отличия от папилломатоза соска. С 1987 г. имеется всего три публикации наблюдений пациенток с таким вариантом поражения молочной железы: P.Rosen [2], E.Tresserra и соавт. [7], E.Cheng и соавт. [5]. Как правило, при гистологическом исследовании трепан-биоптата ССПГ интерпретируют как доброкачественное папиллярное поражение или склерозирующую папиллому. Макроскопически удалённый препарат выглядит как опухолевидная масса, зачастую округлой или овальной формы, серого цвета, иногда с желтоватыми прослойками, с нечёткими контурами, обычно размерами от 0,4 до 3,0 см (средний – 1,3 см). При микроскопическом исследовании определяется склерозирующее папиллярное образование с фиброзластозной стромой, наиболее выраженной в центре поражения, крупными, сливающимися между собой протоками, формирующими экспансивные, ровные края образования. Структура образования имеет сходство с радиальным рубцом (радиальным склерозирующим поражением). В некоторых случаях по краю имеется мелкие гиперплазированные протоки, симулирующие инфильтративное поражение. Редко встречающаяся хрящевая метаплазия стромы, чаще всего отмечается в склеротическом ядре. В пролиферирующем люминальном эпителии и миоэпителии встречаются рассеянные фигуры митоза. В крайне редких случаях в ССПГ развивается рак.

E. Cheng и соавт. [5] наблюдали группу из 35 пациенток. Из них у 13 в очаге ССПГ обнаружена атипичная

протоковая гиперплазия, в 1 наблюдении – протоковая карцинома *in situ*, в 1 наблюдении – типичная дольковая карцинома *in situ* и в 1 наблюдении – аденосквамозный рак (низкой степени злокачественности), расположенный на периферии ССПГ, без фоновой карциномы *in situ* в окружающей ткани молочной железы. Пациентке была выполнена радикальная мастэктомия, период безрецидивной выживаемости, на момент публикации, составлял более 12 лет. В наблюдении с протоковой карциномой *in situ*, также расположенной на периферии ССПГ, пациентке была выполнена эксцизионная биопсия с последующей лучевой терапией, период безрецидивной выживаемости на момент публикации составлял более 6 лет. Пациентка с дольковой карциномой *in situ* получила гормональную терапию. Во всех наблюдениях атипичной дольковой гиперплазии и долькового рака очаги поражения располагались непосредственно в участках ССПГ. Не было зарегистрировано ни одного случая рецидива ССПГ в послеоперационном периоде. При последующем наблюдении у 6 пациенток в период от 12 до 50 мес после установления диагноза ССПГ маммографически выявлены скопления микрокальцинатов. При патоморфологическом исследовании материала эксцизионной биопсии выявлены 3 случая протоковой карциномы *in situ* (2 в той же молочной железе, 1 в контралатеральной), 2 случая атипичной протоковой гиперплазии АДН (оба случая в той же молочной железе) и 1 случай атипичной дольковой гиперплазии в той же молочной железе. Ни один из 3 диагностированных случаев протоковой карциномы *in situ* не был расположен в субареолярной зоне [5].

Учитывая, что ССПГ встречается крайне редко, данное поражение молочной железы представляет интерес с точки зрения патоморфологической диагностики. Вследствие сложности и солидности структуры, вышеуказанные изменения могут быть расценены морфологами как опухолевый процесс. Отсутствие осведомлённости о данном типе образований может быть причиной неверной трактовки гистологической картины, и выработки неправильной тактики ведения пациента. Дифференциальную диагностику ССПГ проводят с инвазивным раком, типичной папилломой, флоридным папилломатозом соска, радиальным рубцом. При центральной папилломе, расположенной в непосредственной близости с сосково-ареолярным комплексом клинически выявляются кровянистые выделения, в то время как при ССПГ такие выделения отсутствуют. Крупный проток, в котором расположена папиллома, отчётливо различим в окружающих тканях при инструментальных методах исследования. Гистологически солитарная внутрипротоковая папиллома характеризуется пальцевидными фиброзно-сосудистыми сосочками, выстланными эпителиальными и миоэпителиальными клетками в просвете крупных протоков субареолярной зоны, без склеротических изменений окружающей стромы железы. Основным отличием ССПГ от флоридного папилломатоза соска, является то, что последний локализуется внутри и вокруг собирательных протоков молочной железы [6]. Радиальный рубец характеризуется неправильной звёздчатой конфигурацией, имитирующей инвазивную карциному, с центральной плотной зоной гиалиноза и эластоза, в то время, как ССПГ имеет более ровные контуры и более равномерно распределённую строму. Кроме того, в отличие от радиального рубца, обычно не выявляются кистозные изменения, апокриновая и плоскоклеточная метаплазия эпителии. В отличие от инвазивного рака молочной железы в ССПГ отмечается дольчатая структура образования, гистологи-

чески и иммуногистохимически выявляются миоэпителиальные клетки, фиброзная и гиалинизированная строма, отсутствует десмоплазия (реактивная фибробластическая пролиферация).

Клиническое наблюдение. Больная Х., 40 лет, самостоятельно обнаружила образование в левой молочной железе. Обратилась в Московский научно-исследовательский институт им П.А. Герцена.

Status localis при поступлении: молочные железы среднего размера, симметричные. Кожные покровы и сосково-ареолярные комплексы без изменений. Выделений из сосков нет. В центральном отделе с переходом на верхние квадранты пальпируется опухоль размером 5x4 см, неправильной формы, бугристая, с четкими контурами, подвижная относительно грудной стенки. Кожа над опухолью подвижна с небольшим ограничением.

На обзорных маммограммах обеих молочных желез, выполненных в стандартных проекциях (СС и МЛО), картина нерезко выраженной фиброзно-кистозной мастопатии, на фоне которой в левой молочной железе на границе верхних квадрантов определяется тень опухолевого образования размером 3,5x3,3 см, с достаточно ровными полициклическими контурами. В проекции данного образования определяются отложения кальциатов смешанного характера, в том числе по типу склерозирующего аденоза. Дополнительные образования не выявлены. Заключение: в правой молочной железе изменения соответствуют категории BI-RADS 2, в левой - BI-RADS 4. Фиброзно-кистозная мастопатия, картина обьёмного образования левой молочной железы.

При ультразвуковом исследовании обеих молочных желез имеется картина фиброзно-кистозной мастопатии, на фоне которой слева в проекции пальпируемого образования на границе верхних квадрантов визуализируется очаг гипозоногенной структуры, с неровными полициклическими контурами, размерами 33x18x28 мм, в проекции которого визуализируются единичные кальцинаты среднего калибра. При цветном доплеровском картировании регистрировалось незначительное усиление кровотока, при эластографии коэффициент жесткости SR – 2,7 ед. При УЗИ аксиллярных лимфатических узлов – визуализировались лимфатические узлы размером до 12 мм без структурных изменений. Заключение: правая молочная железа BI-RADS 2, левая молочная железа - BI-RADS 4. Слева картина узлового пролиферата, фиброзно-кистозной мастопатии, возможно наличия фиброаденомы (рис.1, см.обложку).

Произведены core-биопсия образования левой молочной железы и получены выделения из соска.

Гистологическое заключение по трепан-биоптату: фрагменты ткани молочной железы с картиной склерозирующего аденоза, протоковой папилломой.

Цитограмма выделений из соска слева представлена небольшими по размеру комплексами эпителиальных клеток, имеющих сосочковое и папиллярное строение, макрофагами, измененными эритроцитами. Заключение: внутритротоковая папиллома (рис.2, см.обложку).

Выполнено хирургическое лечение - секторальная резекция левой молочной железы. Произведен перiareолярный разрез кожи. При ревизии опухоль неоднородного серого цвета, неправильной формы, с четкими границами, плотная, эластичная по консистенции, с незначительным ослизнением. Образование удалено в пределах здоровых тканей.

Гистологическое заключение, сделанное по операционному материалу. Макропически: плотно-эластичный

опухолевидный узел с относительно четкими краями, обрывками прилежащей жировой клетчатки, размерами 5x3x2 см, на разрезе однородный, серого цвета, с зернистой поверхностью срезов (рис.3, см.обложку).

Микроскопически: образование представлено полями протоковой гиперплазии с участками солидного и папилломатозного строения (рис. 4, а, см.обложку). Строма образования, богатая эластическими и коллагеновыми волокнами, преобладает в центре поражения, а по периферии определяются преимущественно крупные, сливающиеся между собой протоки, формирующие ровные, экспансивные контуры поражения, что придает ему узловой вид, со склерозом и эластозом окружающей стромы (рис. 4, б, в, см.обложку), что придает дискретный вид поражению. Эпителий протоков подчеркнут хорошо заметным слоем гиперплазированных миоэпителиальных клеток. В отдельных участках образование имеет аденозную структуру (рис. 4, г, см.обложку). Как в люминальных, так и миоэпителиальных клетках встречаются нередкие фигуры митоза (рис. 4, д, см.обложку). Гистологическое заключение: учитывая предоставленные клинические данные (поражение подсосковой зоны) и морфологическую структуру, образование представляет собой склерозирующую протоковую гиперплазию с папилломатозом.

Заключение. Данный клинический пример представляет собой наблюдение субареолярной склерозирующей протоковой гиперплазии с папилломатозом (редкая форма поражения), имеющей особенности клинического течения и морфологического строения. Редкость образования, имеющего специфическую морфологическую структуру и неосведомленность морфологов может привести к ошибкам диагностики на операционном материале. На сегодняшний день единственным методом лечения больных с таким диагнозом является хирургическое удаление образования, а выбор адекватного объема хирургического вмешательства зависит от правильной дооперационной диагностики, которая возможна только при проведении клинико-морфологических сопоставлений и комплексном цитологическом и гистологическом исследовании.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lakhani S.R., Ellis I.O., Schnitt S.J., Tan P.H. WHO Classification of Tumours of the Breast, Fourth Edition. *IARC WHO Classif. Tumours*. 2012; 4: 240.
2. Rosen P.P. Subareolar sclerosing duct hyperplasia of the breast. *Cancer*. 1987; 59 (11), 1927–30.
3. Eusebi V., Millis R. R. Epitheliosis, infiltrating epitheliosis, and radial scar. *Semin. Diagn. Pathol.* 2010; 27 (1): 5–12.
4. Sloane J. P., Mayers M.M. Carcinoma and atypical hyperplasia in radial scars and complex sclerosing lesions: importance of lesion size and patient age. *Histopathology*. 1993; 23 (3): 225–31.
5. Cheng E., Alfonso T. M. D', Arafah M., Marrero Rolon R., Ginter P. S., Hoda S. A. Subareolar Sclerosing Ductal Hyperplasia. *Int. J. Surg. Pathol.* 2017; 25 (1): 4–11.
6. Haagensen, A. P. Stout, and J. S. Phillips, "The Papillary Neoplasms of the Breast," *Ann. Surg.* 1951; 133 (1): 18–36.
7. Tresserra F., Monzóna M., Grases P.J. Hiperplasia ductal esclerosante subareolar de la mama: presentación de ocho casos (subareolar sclerosing ductal hyperplasia of the breast: report of eight cases). *Rev. Senol. Patol. Mam.* 2003;16: 31-4.

Поступила 15.04.19

Принята к печати 12.07.19

ИММУНОЛОГИЯ

© ЭСЕДОВ Э.М., АКБIEВА Д.С., 2019

Эседов Э.М., Акбиева Д.С.

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ В ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ ПРИ КИСЛОТОЗАВИСИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДО И ПОСЛЕ СТАНДАРТНОЙ ТЕРАПИИ

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра госпитальной терапии № 2, 367000, Махачкала, Россия

Цель исследования: оценить эффективность влияния схем эрадикационной терапии на цитокиновый статус желудочного сока у больных с хроническим неатрофическим гастритом (ХНГ) и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБ двенадцатиперстной кишки), ассоциированных с Helicobacter pylori. Клинические наблюдения и лабораторно-инструментальные исследования проведены у 95 больных в возрасте от 20 до 55 лет с ХНГ и ЯБ двенадцатиперстной кишки с определением содержания цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в натощаковой порции желудочного сока. Наиболее выраженное снижение содержания провоспалительных цитокинов в желудочном соке на фоне лечения выявлено у пациентов 1-й группы, получивших комбинированную терапию по схеме омепразол+кларитромицин+амоксциллин. Анализ содержания провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) в желудочном соке у больных с обострением ЯБ показал, что концентрация их у всех 8 пациентов после проведенных курсов терапии превышала норму ($p < 0,05$) и составляли IL-1 β – 30,30 \pm 1,15 пг/л, IL-6 – 10,4 \pm 0,83 пг/л и TNF- α – 32,5 \pm 1,13 пг/л. При этом уровень провоспалительных цитокинов в желудочном соке коррелировала со степенью обсемененности H. pylori в слизистой оболочке гастроудоденальной зоны. Хеликобактерная инфекция на процессы воспаления и язвообразования в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки, возможно, помимо других механизмов, влияет через активацию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α) в желудочном соке. Неполная эрадикация H. pylori после лечения в период клинико-эндоскопической ремиссии у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки в подавляющем большинстве случаев сопровождается сохранением повышенного уровня провоспалительных цитокинов в желудочном соке, что может служить одной из причин рецидива заболевания.

Ключевые слова: хронический гастрит; язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки; цитокины.

Для цитирования: Эседов Э.М., Акбиева Д.С. Провоспалительные цитокины в желудочном соке при кислотозависимых заболеваниях до и после стандартной терапии. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 484-489.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-484-489>

Esedov E.M., Akbieva D.S.

PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE GASTRIC JUICE IN ACID-RELATED DISEASES BEFORE AND AFTER STANDART THERAPY

Federal State Budgetary and Educational Institution of Higher Education of the Russian Federation "Dagestan State Medical University", Department of Hospital Therapy No. 2, 367000, Makhachkala, Russian Federation

The aim of research was to evaluate the effectiveness of the effect of eradication therapy on the cytokine status of gastric juice in patients with chronic non-atrophic gastritis (CNG) and duodenal ulcer (DU) associated with Helicobacter pylori. Clinical observations and laboratory-instrumental studies performed in 95 patients aged 20 to 55 years with CNG and duodenal ulcer with determination of cytokine content of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the fasting portion of gastric juice. The most pronounced decrease in the content of proinflammatory cytokines in gastric juice on the background of treatment was found in patients of the 1st group who received combined therapy according to the scheme omeprazole + clarithromycin + amoxicillin.

Analysis of the content of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) in gastric juice in patients with acute exacerbation showed that their concentration in all 8 patients after the course of therapy exceeded the norm ($P < 0.05$) and was IL-1 β - 30,30 \pm 1,15 pg/l, IL-6 - 10,4 \pm 0,83 pg / l and TNF- α - 32,5 \pm 1,13 pg / l. At the same time, the level of proinflammatory cytokines in gastric juice correlated with the degree of dissemination of H. pylori in the mucosa of the gastroduodenal zone. Helicobacter pylori infection in inflammation and ulceration in the mucous membrane of the stomach and duodenum, possibly in addition to other mechanisms, affects the activation of pro-inflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in gastric juice. Incomplete eradication of H. Pylori after treatment during clinical endoscopic remission in patients with duodenal ulcer in the vast majority of cases is accompanied by the preservation of an increased level of pro-inflammatory cytokines in gastric juice, which may be one of the reasons for the relapse of the disease.

Key words: chronic gastritis; peptic ulcer of duodenum; cytokines.

For correspondence: Akbieva D.S., Assistant of the Department of Hospital Therapy No 2; e-mail: dina.akbieva@mail.ru

For citation: Esedov E.M., Akbieva D.S. Proinflammatory cytokines in the gastric juice in acid-related diseases before and after standart therapy. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 484-489 (in Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-484-489>

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 12.06.2019
Accepted 25.06.2019

Введение. Повышенный интерес к изучению патологии органов пищеварения, и в частности кислотозависимых заболеваний гастродуоденальной области, прежде всего, обусловлен рецидивирующим характером течения со склонностью к прогрессированию морфофункциональных изменений и сочетанному поражению органов пищеварения, а в ряде случаев недостаточной эффективностью проводимой терапии и формированием осложненных форм, приводящих к ранней инвалидизации со снижением качества жизни пациентов [1]. Все это указывает на то, что в настоящее время проблемы заболеваний пищеварительного тракта, включая и гастродуоденальную патологию, далеки от разрешения [2, 3].

Тем не менее, за последние 20-30 лет накоплен обширный фактический материал, касающийся патогенетической роли ключевых, наиболее значимых цитокинов при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Цитокины, будучи начальным звеном активации иммунного ответа, а также неспецифической воспалительной реакции, определяют эффективность и тип иммунного реагирования на инфекционные и неинфекционные агенты, принимают непосредственное участие в регуляции иммунологической защиты.

В настоящее время имеется огромное количество опубликованных клинических исследований, в которых подтверждена патогенетическая роль хеликобактерной инфекции в развитии таких заболеваний как хронический неатрофический гастрит (ХНГ) и язвенная болезнь (ЯБ) двенадцатиперстной кишки. Рядом исследователей также установлены особенности цитокинового статуса при хеликобактер-ассоциированных заболеваниях гастродуоденальной локализации [4, 5]. Считается, что хеликобактер пилори (*H.pylori*) потенцирует синтез провоспалительных цитокинов, под действием которых происходит угнетение секреции соляной кислоты [6, 7]. Последнее способствует прогрессированию воспалительного процесса, атрофических изменений слизистой оболочки желудка, созданию условий для колонизации *H.pylori* в слизистой оболочке пилоро-дуоденальной зоны [8, 9]. Однако имеется не мало исследований [10], в которых не обнаружили достоверных различий в содержании ИЛ-6 сыворотки крови между *H.Pylori*-положительными и *H.Pylori*-отрицательными группами при обострении ЯБ.

Патогенность *H.pylori* стала основой для разработки лечебных подходов к заболеваниям, которые ассоциируются с этой инфекцией. В свете Маастрихтских Консенсусов 1996 и 2000 гг. [11], базисная терапия этих заболеваний заключается в эффективном уничтожении (полной эрадикации) хеликобактерной инфекции [12]. В настоящее время существует большое количество терапевтических схем лечения хеликобактерной инфекции, наиболее эффективными являются трехкомпонентные с блокатором протонной помпы и двумя антибактериальными препаратами [13-16]. Тем не менее, выполнение любой схемы лечения на практике не всегда сопровождается стопроцентной эффективностью и механизмы таких результатов изучены недостаточно [17-19].

С учетом вышеизложенного, определенный интерес представляет как до, так и на фоне эрадикационной терапии изменяется цитокиновый статус в пораженном органе у *H. pylori* -ассоциированных больных, что является целью исследования.

В настоящем исследовании нами предпринята попытка оценить в сравнительном аспекте влияние эффективности общепринятых схем эрадикационной терапии

на уровне провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) в желудочном соке у пациентов с хроническими заболеваниями гастродуоденальной зоны (ХНГ и ЯБ двенадцатиперстной кишки), ассоциированными с *H. pylori*, до и после проведения курсов лечения с применением стандартных схем терапии.

Материал и методы. Нами было исследовано 95 пациентов с хроническими заболеваниями гастродуоденальной зоны (ХНГ и ЯБ двенадцатиперстной кишки), ассоциированными с *H. pylori*.

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и одобрено местным этическим комитетом. В исследование включались больные, давшие письменное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения пациентов в программу исследования:

1. Хронический гастрит или ЯБ двенадцатиперстной кишки по данным эзофагогастродуоденоскопии (ЭФГДС);
2. Возраст более 18 лет;
3. Подписанное информированное согласие на проведение исследования.

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Сопутствующая гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь;
2. Прием любых антибиотиков в течение месяца до начала текущего лечения;
3. Проведенная ранее эрадикационная терапия;
4. Прием ингибиторов протонной помпы (ИПП) за 2-4 нед до включения в исследование;
5. Непереносимость антибиотиков, ИПП, используемых в схемах эрадикационной терапии;
6. Осложнения ЯБ, развившиеся во время текущего обострения (перфорация, кровотечения), а также стеноз выходного отдела желудка;
7. Наличие в анамнезе оперативных вмешательств на пищевод, желудке или двенадцатиперстной кишке;
8. Наличие противопоказаний к плановой ФГДС (сердечная, почечная, печеночная, дыхательная недостаточность, тяжелые неврологические заболевания, психические нарушения);
9. Злоупотребление алкоголем, употребление наркотиков и других психотропных веществ;
10. Беременность и лактация.

Критерии выхода пациентов из исследования:

1. Пациенты, которые не могли пройти все его стадии исследования или отказывались от дальнейшего участия в исследовании;
2. Пациенты, отказавшиеся от выполнения каких-либо диагностических процедур;
3. Пациенты, у которых в процессе проведения исследования выявлялись противопоказания к каким-либо видам обследования, при отсутствии таковых на этапе предварительного отбора;
4. Пациенты, которые не могут продолжать участвовать в исследовании по причине развития у них нежелательных явлений на фоне терапии;
5. Несоблюдение требований протокола исследования.

В зависимости от варианта применяемого лечения они были разделены на 3 группы: 1-ую группу составил 31 пациент (15 – с ХНГ, 16 - с ЯБ двенадцатиперстной кишки).

ки). Больные этой группы получали омепразол по 20 мг 2 раза в день в течение 14 дней; кларитромицин по 500 мг 2 раза в сутки и амоксициллин по 1000 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней; во 2-ую группу вошли 32 больных (15 - с ХНГ, 17 - с ЯБ двенадцатиперстной кишки), которым назначали омепразол по 20 мг 2 раза в сутки в течение 14 дней; кларитромицин по 500 мг 2 раза в сутки и метронидазол по 500 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней; 3-ю группу - 32 больных (16 - с ХНГ, 16 - с ЯБ двенадцатиперстной кишки). Больным этой группы давали омепразол по 20 мг 2 раза в течение 14 дней; амоксициллин по 1000 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней и метронидазол по 500 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней [20-22].

Возрастно-половой состав сравниваемых групп также был вполне сопоставим. В 1-й группе мужчин было 15, женщин-16, во 2-й группе - соответственно 16 и 16, в 3-й группе - соответственно 17 и 15. Средний возраст больных в группах составил соответственно $36,6 \pm 3,4$; $36,0 \pm 4,0$ и $35,8 \pm 3,7$ лет. Диаметр язвенных дефектов дуоденальной зоны у пациентов исследованных групп составил 4-10 мм.

Диагнозы хронического гастрита и язвенной болезни устанавливали на основании анамнестических и клинических данных, результатов лабораторно-инструментальных (эндоскопических и морфологических) методов исследования [23, 24].

Эзофагогастродуоденоскопию (ФГДС) проводили при помощи эндоскопа фирмы «Olympus GIF-G20» по общепринятой методике до и после курса антихеликобактерной терапии. С целью уточнения характера и степени выраженности морфологических изменений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны выполняли биопсию фундального, антрального отделов желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки с последующим их гистологическим исследованием на кафедре патологической анатомии ДГМУ зав. каф., д-ром мед.наук, проф. А.М. Шахназаровым (рис. 1, 2, см.обложку).

Наличие и степень инфицированности *H. pylori* определяли в гистологических препаратах биоптатов, полученных при эндоскопии из участков слизистой оболочки фундального, антрального отделов желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки (при язвенных дефектах) с наиболее выраженными эндоскопически морфологическими изменениями (гиперемия, отек и сглаженность складок слизистой оболочки) до и после лечения. Окрашивание мазков проводили по Гимзе. Диагностику эрадикации (контрольные исследования) проводили через 3 нед после окончания курса антихеликобактерной терапии.

При оценке гистологических препаратов выделяли 3 степени обсемененности слизистой оболочки: слабая степень - до 20 микробных тел в поле зрения (при увеличении X 630); средняя степень - от 20 до 50 микробных тел в поле зрения; высокая степень - более 50 микробных тел в поле зрения [25, 26].

Уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α) в тощачковой порции желудочного сока до и через 24 дня после курсового лечения определяли методом иммуноферментного твердофазного анализа с помощью наборов реагентов фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкцией производителя [27]. Желудочный сок забирали натощак, до завтрака, не менее чем через 12 ч после последнего приема пищи, без применения стимуляторов. Средние концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в желудочном соке у здоровых лиц - 30 человек (группа контроля) составили соответственно $24,8 \pm 1,6$ пг/мл, $6,2 \pm 0,3$ пг/мл и $27,9 \pm 1,8$ пг/мл.

Статистическую обработку результатов проводили на компьютере с помощью статистического пакета программы «Биостат» с вычислением значений средней арифметической (M), средней ошибки средней арифметической (m). Различия оценивали как значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В таблице представлена степень обсемененности *H. pylori* у пациентов сравниваемых групп.

Как видно из данных таблицы, по степени обсемененности *H. pylori* группы существенно не различались.

При изучении влияния различных схем медикаментозных препаратов на эрадикацию *H. pylori* в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны было установлено, что используемые комбинации препаратов отличаются различным элиминационным эффектом. При применении первой схемы лечения эрадикация микроорганизма отмечена у 28 (90,3%) из 31 больного, во 2-й группе - у 26 (81,3%) из 32 больных и в 3-й группе - у 24 (75%) из 32 больных.

Необходимо отметить, что частота эрадикации в группах коррелировала с клинической эффективностью схем медикаментозной терапии: у пациентов 1-й группы, у которых отмечалась высокая эрадикация (90,3% случаев), клинические проявления (болевой и диспепсические синдромы) заболеваний исчезли раньше ($3,4 \pm 0,2$ сутки), чем в других группах со сравнительно меньшей эрадикацией *H. pylori*: во 2-й группе - $4,3 \pm 0,2$ сутки, в 3-й группе - $4,9 \pm 0,3$ сутки.

Динамика уровней провоспалительных цитокинов в желудочном соке у пациентов при различных видах комплексной эрадикационной терапии до и после лечения представлена на рис. 3 (уровень IL-1 β), рис.4 (уровень IL-6) и рис.5 (уровень TNF- α).

Рисунок 3

Из данных рисунков видно, что уровни провоспалительных цитокинов в желудочном соке у пациентов до лечения были сопоставимыми друг с другом: концентрации IL-1 β , IL-6 и TNF- α в 1-й, 2-й и 3-й группах существенно не отличались между группами ($p > 0,05$). После окончания курса лечения показатели интерлейкинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) снизились во всех группах,

Степень обсемененности *H. pylori* у пациентов сравниваемых групп

Степень обсемененности <i>H. pylori</i>	Группа		
	1-я группа (омепразол+кларитромицин+ амоксициллин) (n=31)	2-я группа (омепразол +кларитромицин+ метронидазол) (n=32)	3-я группа (омепразол+амоксициллин+ метронидазол) (n=32)
НР (+++)	12	12	11
НР (++)	11	12	10
НР (+)	8	8	11

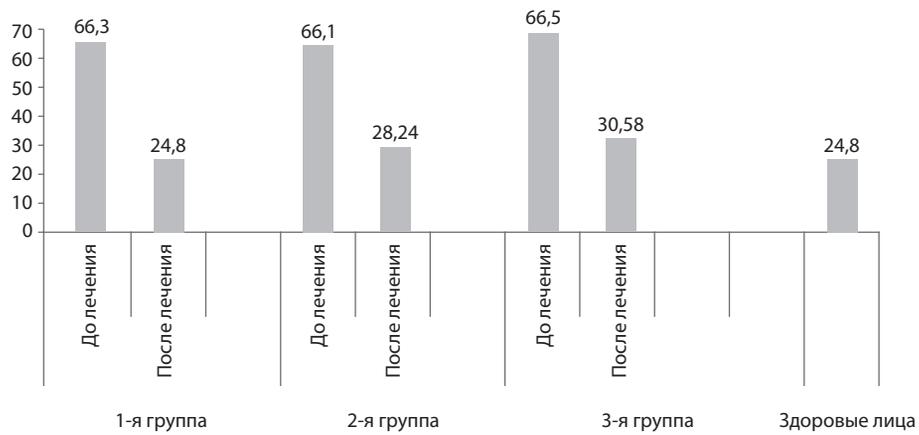


Рис. 3. Динамика содержания IL-1β в желудочном соке (пг/мл) у пациентов с гастродуоденальной патологией при различных видах тройной эрадикационной терапии.

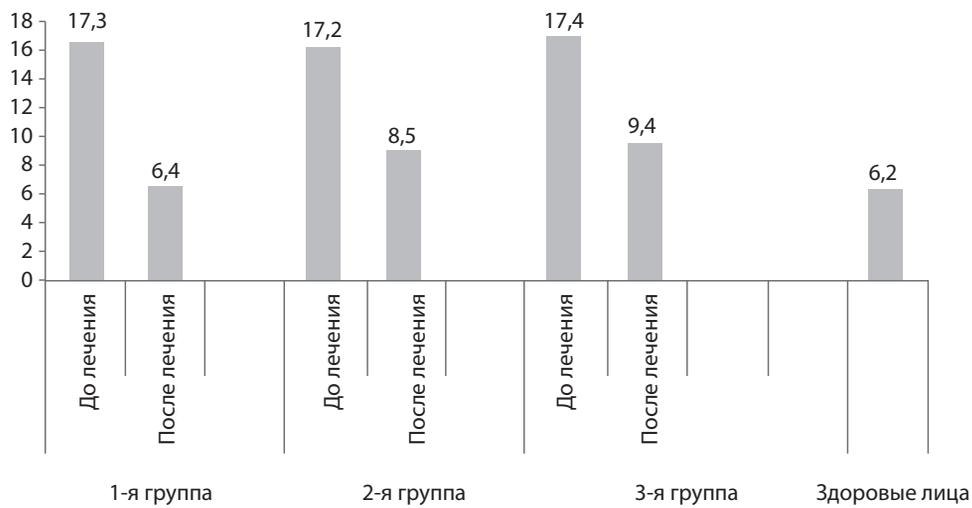


Рис. 4. Динамика содержания IL-6 в желудочном соке (пг/мл) у пациентов с гастродуоденальной патологией при различных видах тройной эрадикационной терапии.

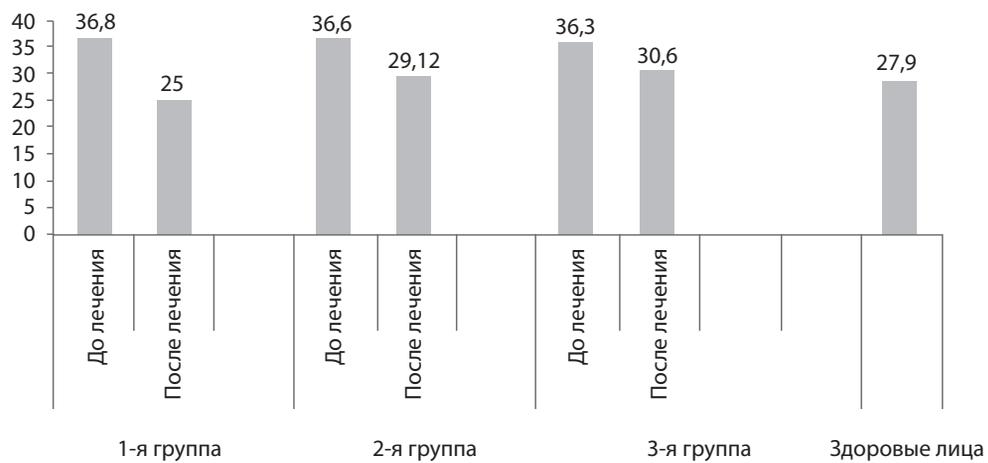


Рис. 5. Динамика содержания TNF-α в желудочном соке (пг/мл) у пациентов с гастродуоденальной патологией при различных видах тройной эрадикационной терапии.

однако уровни их нормализовались у пациентов только 1-й группы ($p < 0,05$). Во 2-й и в 3-й группах уровни цитокинов в секрете, хотя заметно снизились ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до лечения, но оставались несколько выше уровня здоровых лиц ($p > 0,05$).

Таким образом, наиболее выраженное снижение содержания провоспалительных цитокинов в желудочном соке на фоне лечения выявлено у пациентов 1-й группы, получивших комбинированную терапию по схеме омепразол + кларитромицин + амоксициллин. У больных 2-й группы (омепразол + кларитромицин + метронидазол) по окончании курса лечения сохранялись незначительные изменения исследуемых интерлейкинов в желудочном соке по сравнению с контролем. У больных 3-й группы (омепразол + амоксициллин + метронидазол) в конце курса лечения, хотя показатели провоспалительных цитокинов также снижались, но оставались на достаточно высоком уровне по сравнению с показателями здоровых лиц.

32 больных ЯБ двенадцатиперстной кишки, из которых у 17 после проведенной терапии в слизистой оболочке сохранялся *H. pylori*, мы наблюдали в динамике в течение 6 месяцев. Из *H. pylori*-положительных больных у 8 определялся *H. pylori* слабой степени, у 6 – умеренной степени и у 3 – высокой степени обсемененности. 3 пациентов получали лечение по первой схеме, 6 пациентов – по второй схеме и 8 пациентов – по третьей схеме.

Результаты исследования показали, что сохранение повышенного уровня провоспалительных цитокинов в желудочном соке у *H. pylori*-положительных больных коррелирует с высокой частотой рецидивов ЯБ – обострение заболевания (клинико-эндоскопически подтвержденное) чаще наблюдалось у больных, у которых в слизистой оболочке выявлялся *H. pylori*: у 8 (53,3%) из 15 больных: у 1 с легкой, у 4 – с умеренной и у 3 с высокой степенью обсеменения. Из них 1 пациент получал лечение по первой схеме, 2 пациента – по второй схеме и 5 пациентов – по третьей схеме. Из 17 пациентов с *H. pylori*-негативной формой заболевания обострение за 6 мес возникло у 4 (22,5%).

Анализ содержания провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) в желудочном соке у больных с обострением ЯБ показал, что концентрация их у всех 8 пациентов после проведенных курсов терапии превышала норму ($p < 0,05$) и составляли IL-1 β – 30,30 \pm 1,15 пг/мл, IL-6 – 10,4 \pm 0,83 пг/мл и TNF- α – 32,5 \pm 1,13 пг/мл. При этом уровень провоспалительных цитокинов в желудочном соке коррелировала со степенью обсеменности *H. pylori* в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны.

Следовательно, выявление *H. pylori* в конце курсов лечения у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки в подавляющем большинстве случаев сопровождается сохранением повышенного содержания провоспалительных цитокинов в желудочном соке, что свидетельствует о незавершении репаративных процессов в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки.

Подводя резюме вышеизложенному, можно отметить, что хеликобактерная инфекция на процессы воспаления и язвообразования в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки, возможно, помимо других механизмов, влияет через активацию и повышенную секрецию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α) в желудочном соке. Неполная эрадикация *H. pylori* после лечения в период клинико-

эндоскопической ремиссии у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки в подавляющем большинстве случаев сопровождается сохранением повышенного уровня провоспалительных цитокинов в желудочном соке, что может служить одной из причин рецидива заболевания и это диктует необходимость пересмотра существующих схем стандартов эрадикационной терапии *H. pylori*.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-3,5, 9-11, 13, 14, 18, 21,23-26 см. REFERENCES)

- Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Рязанцева Н.В. Ассоциация полиморфизмов генов G-174 C IL6 и T-251A IL8 с язвенной болезнью у хакасов. *Иммунология*. 2010; 31 (3): 131-3.
- Осадчук М.М., Купаев В.И., Осадчук А.М. Хеликобактериоз. Актуальные и нерешенные проблемы патогенеза и лечения. *Практическая медицина*. 2012; 1 (56): 16-21.
- Степченко А.А., Филиппенко Н.Г., Прибылова Н.Н., Поветкин С.В. Уровень про- и противовоспалительных цитокинов, фенотип окислительного метаболизма у больных язвенной болезнью, ассоциированной с различными штаммами *Helicobacter pylori*. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2010; 3: 134-9.
- Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Н.Г., Андреев Д.Н. Важные практические результаты и современные тенденции в изучении заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2012; 4: 17-26.
- Маев И.В., Самсонов А.А. Современные стандарты лечения кислотозависимых заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori*. *Consilium Medicum*. Приложение: *Гастроэнтерология*. 2006; 1: 3-8.
- Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А., Трухманов А.С. и комитет экспертов. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2018; 28 (1): 55-70.
- Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А., Трухманов А.С., Абдулхаков Р.А. и др. Лечение инфекции *Helicobacter pylori*: мейнстрим и новации (Обзор литературы и резолюция Экспертного совета Российской гастроэнтерологической ассоциации, 19 мая 2017г.); *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2017; 27 (4): 4-21.
- Ивашкин В.Т., Шептулин А.А., Маев И.В., Баранская Е.К., Трухманов А.С., Лапина Т.Л. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению язвенной болезни. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2016; 26 (6): 40-54.
- Дехнич Н.Н., Костякова Е.А., Пунин А.А., Алимов А.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность *H. pylori*: результаты микробиологического регионального исследования. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2011; 21 (2): 37-42.
- Симаненков В.И., Захарова Н.В., Жебрун А.Б., Сварваль А.В., Савилова И.В., Ферман Р.С. Резистентность *Helicobacter pylori* к антимикробным препаратам по результатам бактериологического тестирования. *Лечащий врач*. 2015; (4): 91-5.
- Лапина Т.Л., Мутигулина Э.Р., Ивашкин В.Т. Рациональный выбор эрадикационной терапии инфекции *Helicobacter pylori*. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2013; 23 (5): 74-80.
- Орадова А.Ш., Устенова Г.О., Стабаева Г.С. Методы исследования цитокинов. *Medicine*. 2014; 10: 84-7.

REFERENCES

1. Malfertheiner P. The intriguing relationship of *Helicobacter pylori* infection and acid secretion in peptic ulcer disease and gastric cancer. *Digestive Diseases*. 2011; 29: 459-64.
2. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J. et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*. 2015; 64(9): 1353-67.
3. Suzuki H., Moayyedi P. *Helicobacter pylori* infection in functional dyspepsia. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2013; 10:168-74.
4. Ageeva E.S., Shtygasheva O.V., Rjazantseva N.V. Association of polymorphisms of genes G-174 C IL6 and T-251A IL8 with peptic ulcer in the Khakas. *Immunologiya*. 2010; 31 (3): 131-3. (in Russian)
5. Kasifoglu N., Akdun Y, Saricam T. IL8 serum levels in patients with *Helicobacter pylori* infection and relation between serological markers. *African journal of microbiology research*. 2009; 3 (11): 822-5.
6. Osadchuk M.M., Kupaev V.I., Osadchuk A.M. Helicobacter pyloriosis. Actual and unsolved problems of pathogenesis and treatment. *Prakticheskaya meditsina*. 2012; 1(56): 16-21. (in Russian)
7. Stepchenko A.A., Filippenko N.G., Pribylova N.N., Povetkin S.V. The level of pro- and anti-inflammatory cytokines, the phenotype of oxidative metabolism in patients with peptic ulcer disease associated with different strains of *Helicobacter pylori*. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek I ego zdorov'e"*. 2010; 3: 134-9. (in Russian)
8. Maev I.V., Samsonov A.A., Andreev N.G., Andreev D.N. The level of pro- and anti-inflammatory cytokines, the phenotype of oxidative metabolism in patients with peptic ulcer disease associated with different strains of *Helicobacter pylori*. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2010; 3: 134-9. (in Russian)
9. Ford A.C., Qume M., Moayyedi P. et al. Helicobacter pylori "test and treat" or endoscopy for managing dyspepsia: an individual patient data meta-analysis. *Gastroenterology*. 2005; 128: 1838-44.
10. Bayraktaroglu T., Aras A.S., Aydemir S. Serum levels of tumor necrosis factor- α , interleukin-6 and interleukin-8 are not increased in dyspeptic patients with *Helicobacter pylori* -associated gastritis. *Mediators of inflammation*. 2004; 13 (1): 25-8.
11. Current European concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht Consensus Report. European Helicobacter Pylori Study Group. *Gut*. 1997; 41(1): 8-13.
12. Maev I.V., Samsonov A.A. Current standards for the treatment of acid-related diseases associated with Helicobacter pylori. *Consilium Medicum: Gastroenterology*. 2006; 1: 3-8. (in Russian)
13. Malfertheiner P., Mégraud F., O'Morain C. et al. European Helicobacter Pylori Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht IV Florence Consensus Report. *Gut*. 2012; 61(5): 646-64.
14. Malfertheiner P., Mégraud F., O'Morain C. et al. European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht V Florence Consensus Report. *Gut*. 2017; 66(1): 6-30.
15. Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L., Sheptulin A.A., Truhmanov A.S. and an expert committee. Clinical recommendations of the Russian Gastroenterological Association for the diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection in adults. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2018; 28 (1): 55-70. (in Russian)
16. Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L., Sheptulin A.A., Truhmanov A.S., Abdulkhakov R.A. et al. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: mainstream and innovations (Literature review and resolution of the Expert Council of the Russian Gastroenterological Association, May 19, 2017). *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2017; 27 (4): 4-21. (in Russian)
17. Ivashkin V.T., Sheptulin A.A., Maev I.V., Baranskaja E.K., Truhmanov A.S., Lapina T.L. et al. Clinical recommendations of the Russian Gastroenterological Association for the diagnosis and treatment of peptic ulcer. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2016; 26 (6): 40-54. (in Russian)
18. Thung I., Aramin H., Vavinskaya V. et al. Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2016; 43: 514-33.
19. Dehnich N.N., Kostjakova E.A., Punin A.A., Alimov A.V., Ivanchik N.V., Kozlov R.S. *H. pylori* antibiotic resistance: a microbiological regional study. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2011; 21 (2): 37-42. (in Russian)
20. Simanenkov V.I., Zaharova N.V., Zhebrun A.B., Svarval' A.V., Savilova I.V., Ferman R.S. *Helicobacter pylori* antimicrobial resistance based on bacteriological testing. *Lechashchiy vrach*. 2015; 4: 91-5. (in Russian)
21. Ince A.T., Tozlu M., Baysal B. et al. Yields of dual therapy containing high-dose proton pump inhibitor in eradication of *H. pylori* positive dyspeptic patients. *Hepatogastroenterology*. 2014; 61: 1454-8.
22. Lapina T.L., Mutigulina E.R., Ivashkin V.T. Rational choice of eradication therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii I koloproktologii*. 2013; 23 (5): 74-80. (in Russian)
23. Malfertheiner P. Diagnostic methods for *H. pylori* infection: choices, opportunities and pitfalls. *United European Gastroenterol. J*. 2015; 3: 429-31.
24. Tongtawee T., Dechsukhum C., Leeanansaksiri W. et al. Improved detection of *Helicobacter pylori* infection and premalignant gastric mucosa using "site specific biopsy": a randomized control clinical trial. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2015; 16: 8487-90.
25. Kong Y.J., Yi H.G., Dai J.C. et al. Histological changes of gastric mucosa after *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review and meta-analysis. *World J. Gastroenterol*. 2014; 20: 5903-11.
26. Delgado S., Cabrera-Rubio R., Mira A. et al. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. *Microb. Ecol*. 2013; 65: 763-72.
27. Oradova A.Sh., Ustenova G.O., Stabaeva G.S. Methods for the study of cytokines. *Medicine*. 2014; 10: 84-7. (in Russian)

Поступила 12.06.19

Принята к печати 25.06.19

Артамонова З.А., Намоконов Е.В.

НОВЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИАГНОСТИКЕ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 672000, Чита, Россия

Отсутствие четкой клинко-лабораторной картины, субъективность оценки жизнеспособности кишечника, прогрессирование некроза кишки в послеоперационном периоде при острой мезентериальной ишемии (ОМИ) способствует высокой летальности. Ранее экспериментально нами было доказано, что некроз кишки приводит к изменениям в субпопуляционной структуре лимфоцитов крови. Это побудило нас определить клиническое значение субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови у пациентов с острой мезентериальной ишемией. Работа построена на основании ретроспективного анализа результатов контролируемого клинко-иммунологического обследования 18 пациентов в возрасте от 62 до 78 лет (контрольная группа и группа ОМИ). Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови. Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистики. У пациентов в группе ОМИ отмечено достоверное снижение как абсолютного, так и относительного числа лимфоцитов относительно таковых в контрольной группе. Изучение субпопуляционной структуры лимфоцитов также показало снижение абсолютного числа CD8, CD4, B, NK клеток и снижение относительного числа CD8, CD4, NK клеток относительно показателей в контрольной группе. Ишемия и некроз слизистой оболочки кишечника сопровождаются массивной транслокацией кишечной микрофлоры через нарушенный кишечный барьер наряду с миграцией лимфоцитов в очаг поражения и их гибелью, что проявляется снижением числа лимфоцитов в периферической крови. Комплексная оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови может быть использована в качестве дополнительного диагностического критерия некротической стадии острой мезентериальной ишемии, служить критерием отбора пациентов для проведения иммунотерапии.

Ключевые слова: мезентериальная ишемия; диагностика; лимфоциты.

Для цитирования: Артамонова З.А., Намоконов Е.В. Новые лабораторные показатели в диагностике острой мезентериальной ишемии. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 490-492.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-490-492>

Artamonova Z. A., Namokonov E. V.

NEW LABORATORY PARAMETERS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA

Chita state medical Academy, Ministry of health of the Russian Federation, 672000, Chita, Russia

Lack of clear clinical and laboratory picture of subjective evaluation of bowel viability, the progression of bowel necrosis in the postoperative period with acute mesenteric ischemia (AMI) contributes to the high mortality rate. Earlier experiments we proved that gut necrosis leads to changes in the subpopulation structure of blood lymphocytes. This prompted us to determine the clinical significance of the subpopulation structure of venous blood lymphocytes in patients with acute mesenteric ischemia. The paper is based on a retrospective analysis of the results of a controlled clinical and immunological examination of 18 patients aged 62 to 78 years (control group and a group of AMI). Evaluation lymphocyte subpopulation structure was performed by the standard method of direct immunofluorescence staining of whole blood. The obtained data were processed with nonparametric statistical methods. Study of lymphocyte subpopulation structure in patients with AMI patients showed a decrease in the absolute and relative number of CD8, CD4, B, NK cells on the indicators in the control group. Ischemia and necrosis of the intestinal mucosa accompanied by a massive translocation of intestinal microflora through the impaired intestinal barrier along with the migration of lymphocytes into the lesion and death, which is manifested in a decrease in the number of lymphocytes of the peripheral blood. Comprehensive assessment of venous blood lymphocyte subpopulation structure can be used as an additional diagnostic criterion necrotic step AMI, serve as criteria for selection of patients for immunotherapy.

Key words: mesenteric ischemia; diagnosis; lymphocytes.

For citation: Artamonova Z. A., Namokonov E. V. New laboratory parameters in the diagnosis of acute mesenteric ischemia. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 490-492 (in Russ.)
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-490-492>

For correspondence: Artamonova Z.A., Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of General and Specialized Surgery; e-mail: zoyaartamonova@mail.ru

Information about authors:

Artamonova Z.A., <http://orcid.org/0000-0003-4674-5908>

Namokonov E.V., <http://orcid.org/0000-0001-7029-9173>

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

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

Received 17.05.2019
Accepted 31.05.2019

Введение. В диагностике острой мезентериальной ишемии (ОМИ) остается множество нерешенных проблем [1]. Отсутствие четкой клинико-лабораторной картины [2], субъективность оценки жизнеспособности кишечника, прогрессирование некроза кишки в послеоперационном периоде способствует высокой летальности при данном заболевании [3]. По мнению К. Karabulut [4] лабораторный маркер ОМИ должен находиться в слизистой оболочке кишки, не разрушаться в печени и определяться в периферической крови. Вместе с тем известно, что ЖКТ выполняет не только пищеварительную, но и иммунную функцию. Также известно, что лимфоидная ткань, связанная со слизистыми желудочно-кишечного тракта – самый большой по объему отдел иммунной системы [5].

Ранее, экспериментально нами было доказано, что при полной окклюзии краниальной брыжеечной артерии прогрессирует снижение числа лимфоцитов, увеличивается отношение CD4/CD8 в крови [6,7].

Все вышеперечисленное побудило нас определить клиническое значение субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови у пациентов с острой мезентериальной ишемией.

Материал и методы. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации. Наша работа построена на основании ретроспективного анализа результатов контролируемого клинико-иммунологического обследования 18 пациентов в возрасте от 62 до 78 лет. Это 9 практически здоровых человек (без признаков аллергических, аутоиммунных, инфекционных и паразитарных заболеваний), проходивших диспансеризацию (контрольная группа) и 9 пациентов с острой мезентериальной ишемией, некротическая стадия (группа ОМИ). В группе ОМИ у всех пациентов наблюдался тромбоз верхней брыжеечной артерии, некроз тонкой кишки, подтвержденный интраоперационно и гистологически. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Кровь для иммунологического обследования получали путем пункции локтевой вены в строго стерильных условиях. Для иммунофенотипирования кровь забирали в пробирку VACUTAINER (BD), содержащую динатриевую соль ЭДТА объемом 2,5 мл.

Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием коммерческого лизирующего/фиксирующего раствора OPTILYSE C (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител tetraCHROME™ и IOTest (Beckman Coulter): 1-ая панель – CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и HLA-DR-PC7; 2-ая панель – CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 и CD16-PC7. Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, USA), регистрировали суммарно не менее 10 тыс. событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистики. Для показателей определялись медиана (Me), 75-й и 25-й перцентили (75-й; 25-й). Сравнение медиан выборок осуществляли по критерию Колмогорова - Смирнова. Различия величин признавали достоверными при критическом уровне $p \leq 0,05$. Обработка результатов производилась с помощью пакета

компьютерных программ BioStat, Microsoft Excel 2007 для Windows XP.

В таблице представлены средние уровни показателей субпопуляции лимфоцитов крови пациентов контрольной группы и пациентов из группы ОМИ. Сравнение изучаемых показателей выявило статистически достоверные отличия. У пациентов в группе ОМИ абсолютное число лимфоцитов было на 82 %, а относительное – на 86% ниже чем в контрольной группе. Изучение субпопуляционной структуры лимфоцитов показало снижение абсолютного числа CD8 клеток на 89 %, CD4 клеток – на 87%, В-клеток на 67%, NK-клеток на 92% относительно показателей в контрольной группе. Также отмечалось снижение относительного числа CD8 клеток на 41 %, CD4 клеток – на 31%, NK-клеток на 72% относительно показателей в крови пациентов с ОМИ.

Обсуждение. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой кишечника, формируется за счет CD3- и В-лимфоцитов, NK-клеток, тучных клеток и эозинофилов [5]. При этом, несмотря на некоторую территориальную разобщенность между системным иммунитетом и лимфоидной тканью, ассоциированной со слизистыми, все основные группы системы функционируют как единое целое, а лимфоидная ткань и лимфоидные органы желудочно-кишечного тракта теснейшим образом функционально связаны как с системным иммунитетом, так и с другими компонентами лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми [8]. Первыми на пути проникновения инфекции через ЖКТ являются межэпителиальные лимфоциты, которые в 98% представлены Т-клетками, из которых 75% составляют CD3 [8]. Исследованием ряда авторов установлено, что уже на 30 минуте тотальной ишемии происходит нарушение межэпителиальных контактов слизистой кишечника [9]. То есть, ишемия и некроз слизистой оболочки кишеч-

Сравнительная таблица основных популяций иммунных клеток в контрольной группе и группе ОМИ (Me; 25-й;75-й)

Показатель	Контрольная группа (n=9)	Группа ОМИ (n=9)
Лимфоциты, %	30,5 (29; 35,5)	4,25 (2,8; 6,6) $p < 0,001$
Лимфоциты, кл/мкл	2715,5 (2504; 2802,5)	488 (399,5; 560) $p < 0,005$
CD4-клетки, %	49,5 (47,5; 53,5)	34,25 (21; 47,8) $p < 0,1$
CD4-клетки, кл/мкл	1152 (1009; 1287,5)	148,5 (81,5; 271) $p < 0,005$
CD8-клетки, %	30,5 (28,5; 33,5)	18 (10,95; 19,35) $p < 0,005$
CD8-клетки, кл/мкл	851 (778; 911)	91 (49; 109) $p < 0,001$
CD4/CD8	2,4 (2,2; 2,6)	2,6 (1,7; 3,35) $p < 0,1$
В-клетки, %	14 (12; 15)	13 (8,9; 38) $p < 0,1$
В-клетки, кл/мкл	288 (215; 348)	95,5 (50,5; 191) $p < 0,025$
NK-клетки, %	13,6 (12,8; 15,5)	3,8 (0,65; 11,5) $p < 0,025$
NK-клетки, кл/мкл	266 (214; 333,5)	22 (3,5; 45) $p < 0,005$

Примечание. p - уровень значимости между показателями контрольной группы и группы ОМИ.

ника сопровождаются массивной транслокацией кишечной микрофлоры через нарушенный кишечный барьер наряду с миграцией лимфоцитов в очаг поражения и их гибелью, что проявляется снижением абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови на 82% относительно показателей в контрольной группе. При этом отмечается снижение абсолютного числа как CD8-клеток на 89 %, так и CD4-клеток на 87%. Вместе с тем снижение относительного числа CD4 и CD8-клеток крови в группе ОМИ происходит равномерно, вследствие чего не выявлено достоверного изменения соотношения CD4/CD8. Можно предположить, что снижение абсолютного числа NK-клеток на 92% связано с гибелью последних на фоне чрезмерного поступления антигенов, когда, кроме антиген-специфических механизмов элиминации патогена, задействованы антиген-неспецифические [5]. Некроз стенки кишечника сопровождается также и снижением абсолютного числа В-клеток на 67%.

Заключение. Таким образом, результаты исследования выявили достоверные изменения в субпопуляционной структуре лимфоцитов у пациентов с некрозом тонкой кишки при острой мезентериальной ишемии. Выявленное снижение числа иммунокомпетентных клеток может иметь патогенетическое значение в прогрессировании некроза и возникновении осложнений в послеоперационном периоде при ОМИ. Комплексная оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови может быть использована в качестве дополнительного диагностического критерия некротической стадии острой мезентериальной ишемии [10], служить методом иммуномониторинга и критерием отбора пациентов для проведения иммунотерапии.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хрипун А.И., А.В. Саликов А.В., Прямик А.Д. Современный подход к диагностике и лечению острого нарушения мезентериального кровообращения. *Хирургия*. 2014; (6): 36-42.
2. Баешко А.А., Климук С.А., Юшкевич В.А. Причины и особенности поражений кишечника и его сосудов при остром нарушении брыжеечного кровообращения. *Хирургия*. 2005; (4): 57 - 63.
3. Лемешевский, А.И. Проблема острой мезентериальной ишемии. *Белорусский медицинский журнал*. 2008; (3): 34 - 8.
4. Karabulut K., Gül M., Dündar ZD., Cander B., Kurban S., Toy H. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and phosphorus in acute mesenteric ischemia. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011; (17): 193-8.
5. Хайтов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. Учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
6. Артамонова З.А., Намоконов Е.В., Терешков П.П., Обыденко В.И. Роль некоторых показателей иммунной системы в прогнозировании развития острой мезентериальной ишемии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2015; 8 (3): 287-290

7. Артамонова З.А., Семинский И.Ж., Намоконов Е.В. Влияние острой окклюзии краниальной брыжеечной артерии на динамику показателей клеточного иммунитета и интерлейкинов -6,-8 в эксперименте. *Сибирский медицинский журнал*. 2015; (7): 71-4.
8. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта (сообщение 1). *Анналы хирургической гепатологии*. 2002; 7 (2): 105-10.
9. Кувшинов А.Г., Ильичева Е.А., Рой Т.А., Максиков Д.И., Лепехова С.А., Коваль Е.В. и др. Закономерности развития бактериальной транслокации при остром прекращении магистрального кровотока в бассейне краниальных брыжеечных сосудов. *Бюллетень СО РАМН*. 2003; 5: 155-9.
10. Намоконов Е.В., Артамонова З.А., Терешков П.П. Способ прогнозирования некроза кишки у больных острой мезентериальной ишемией. Патент РФ № 2677652; 2018.

REFERENCES

1. Khripun A.I., A.V. Salikov A.V., Pryamikov A.D. Modern approach to diagnostics and treatment of an acute disorder of mesenterialny blood circulation. *Khirurgiya*. 2014; (6): 36-42. (in Russian)
2. Baeshko A.A., Klimuk S.A., Yushkevich V.A. The reasons and features of damages of intestines and its vessels at an acute disorder of mesenteric blood circulation. *Khirurgiya*. 2005; (4): 57 - 63. (in Russian)
3. Lemeshevskiy, A.I. Problema of acute mezenterialny ischemia. *Belarusian medical journal*. 2008; (3): 34 - 8.
4. Karabulut K., Gül M., Dündar ZD., Cander B., Kurban S., Toy H. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and phosphorus in acute mesenteric ischemia. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011; (17): 193-8.
5. Khaitov R.M. Immunology: structure and functions of the immune system: Manual. [Immunologiya: struktura i funktsii immunnogo sistemy. Uchebnoe posobie]. Moscow: GEOTAR-media; 2013. (in Russian)
6. Artamonova Z.A., Namokonov E.V., Tereshkov P.P., Obydenko V.I. A role of some indicators of the immune system in forecasting of development of acute mezenterialny ischemia. *Vestnik eksperimental' noy i klinicheskoy khirurgii*. 2015; 8 (3): 287-90. (in Russian)
7. Artamonova Z.A., Seminskiy I.Zh., Namokonov E.V. Influence of acute occlusion of a cranial mesenteric artery on dynamics of indicators of cellular immunity and interleukins-6,-8 in an experiment. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; (7): 71-4. (in Russian)
8. Khaitov R.M., Pinegin B.V. New data on the building and functioning of the immune system of digestive tract (message 1). *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*. 2002; 7 (2): 105-10. (in Russian)
9. Kuvshinov A.G., Il'icheva E.A., Roy T.A., Maksikov D.I., Lepekhova S.A., Koval' E.V. et al. Regularities of development of a bacterial translocation at the acute termination of the main blood-groove in the pool of cranial mesenteric vessels. *Bulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk*. 2003; 5: 155-9. (in Russian)
10. Namokonov E.V., Artamonova Z.A., Tereshkov P.P. A way of forecasting of a necrosis of a gut at patients with acute mezenterialny ischemia. Patent RF № 2677652; 2018. (in Russian)

Поступила 17.05.19

Принята к печати 31.05.19

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Пименова А.С.¹, Борисова О.Ю.^{1,2}, Петрова М.С.¹, Гадуа Н. Т.¹, Борисова А.Б.¹, Кафарская Л.И.², Афанасьев С.С.¹

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ КОКЛЮША ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НА ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАДИЦИОННЫХ ВИСКОЗНЫХ ТАМПОНОВ И УНИВЕРСАЛЬНЫХ ВЕЛЮР-ТАМПОНОВ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия

Целью работы являлась оценка возможности использования универсального велюр-тампона на этапе забора биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша. В исследование включено 87 больных в возрасте от 1 месяца до 37 лет, госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ». У 68 (78,2 %) человек верифицирован диагноз «Коклюш», основную группу которых составили дети в возрасте от 1 до 12 месяцев (медиана 4 месяца); у 17 (19,5 %) – другие заболевания респираторного тракта; у 2 (2,3 %) – установлен контакт с больным коклюшем. Первичное обследование пациентов проводилось на 1 - 8-й неделях от начала заболевания. Материал от больных брали с интервалом в один день с задней стенки глотки коммерческими тампонами двух видов одной фирмы-производителя: зондом из полистирола с вискозным тампоном и велюр-тампоном на пластиковом аппликаторе, имеющим щеточку на конце. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза в биологическом материале осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Bordetella multi-FL». Установлено, что эффективность ПЦР-исследования при использовании велюр-тампона на этапе забора биологического материала составила 83,8 %, а вискозного тампона – 82,3 %. Следовательно, применение универсального велюр-тампона на преаналитическом этапе повысило эффективность исследования на 1,5 %. Таким образом, при заборе биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша наряду с вискозным зондом-тампоном, применение которого регламентировано СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша», возможно использование универсального велюр-тампона.

Ключевые слова: коклюш; вискозный тампон; велюр-тампон; преаналитический этап ПЦР-исследования; эффективность ПЦР-диагностики коклюша.

Для цитирования: Пименова А.С., Борисова О.Ю., Петрова М.С., Гадуа Н.Т., Борисова А.Б., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С. Сравнительные испытания по оценке эффективности ПЦР-диагностики коклюша при использовании на преаналитическом этапе исследования традиционных вискозных тампонов и универсальных велюр-тампонов. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 493-496. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-493-496>

Pimenova A.S.¹, Borisova O.Yu.^{1,2}, Petrova M.S.¹, Gadua N.T.¹, Borisova A.B.¹, Kafarskaya L.I.², Afanasiev S.S.¹

COMPARISON OF RAYON AND FLOCKED SWABS FOR COLLECTION AND TRANSPORT OF DEEP THROAT SWABS FOR DETECTION OF BACTERIA CAUSING WHOOPING COUGH BY MULTIPLEX REAL-TIME PCR ASSAY

¹G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russian Federation;

²Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, 117997, Moscow, Russian Federation

The aim of the work was to comparison of rayon and flocked swabs for collection and transport of deep throat swabs for detection of bacteria causing whooping cough by multiplex real-time PCR assay. The study included 87 patients aged from 1 month to 37 years, hospitalized in Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1 of the Moscow Department of Healthcare. 68 (78,2 %) people had a diagnosis of whooping cough, the main group of which consisted of children aged 1 to 12 months (median 4 months); 17 (19,5 %) – other diseases of the respiratory tract; 2 (2,3 %) – contact with sick whooping cough. The initial examination of patients was carried out on the 1 - 8th week of the onset of the disease. The material from the patients was taken at one-day interval with commercial rayon swabs and flocked swabs. Identification and differentiation of specific genome fragments of the causative agents of whooping cough in biological material was carried out by real-time PCR using the «AmpliSens® Bordetella multi-FL» reagent kit. The efficiency of PCR-based diagnostics of whooping cough using flocked swabs at the preanalytical stage was 83,8 %, and rayon swabs – 82,3 %. The use of a flocked swabs at the preanalytical stage increased the research efficiency by 1,5 %. Thus, when collecting biological material for PCR-based diagnostics of whooping cough it is possible to use flocked swabs.

Key words: whooping cough; rayon swab; flocked swab; preanalytical stage of PCR research; efficiency of PCR-based diagnostics of whooping cough.

For citation: Pimenova A.S., Borisova O.Yu., Petrova M.S., Gadua N.T., Borisova A.B., Kafarskaya L.I., Afanasiev S.S. Comparison of rayon and flocked swabs for collection and transport of deep throat swabs for detection of bacteria causing whooping cough by multiplex real-time PCR assay. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 493-496. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-493-496>

For correspondence: Borisova O.Yu., doctor of medicine (MD), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections; e-mail: olgborisova@mail.ru

Information about authors:

Pimenova A.S. <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>
Borisova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>
Petrova M.S. <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>
Gadua N.T. <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>
Borisova A.B. <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>
Kafarskaya L.I. <https://orcid.org/0000-0002-5488-5786>
Afanasiev S.S. <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Received 13.05.2019
Accepted 25.05.2019

Введение. Массовая специфическая вакцинопрофилактика коклюша в Российской Федерации привела к значительному улучшению эпидемиологической обстановки и показала ее социально-экономическую значимость для поддержания санитарно-эпидемиологического благополучия по этой инфекции в нашей стране [1, 2]. Благодаря достижению в 2003 г. высокого охвата (95%) вакцинацией и ревакцинацией АКДС-вакциной детей и последующему его поддержанию, заболеваемость коклюшем в России в течение последних пяти лет по данным официальной статистики стабилизировалась (показатель заболеваемости составил 3.27, 4.42, 5.63, 3.70 и 7.10 на 100 тыс населения в 2014, 2015, 2016, 2017 и 2018 гг. соответственно). При этом восприимчивость к данной инфекции сохраняется высокой у детей до 1 года, не привитых, а также утративших иммунитет с возрастом [3-6]. Ежегодно регистрируются локальные вспышки с формированием очагов разной интенсивности в семьях и организованных детских коллективах [7,8]. Источником инфекции, как правило, являются подростки или взрослые, у которых коклюш протекает в лёгкой или стёртой форме [9,10].

В связи с трудностью клинического распознавания коклюша на этапе оказания амбулаторно-поликлинической помощи населению, проблема лабораторной диагностики приобрела особую значимость в современных условиях. В последние годы в структуре заболеваемости увеличивается доля лёгких и стёртых форм клинического течения среди детей старшей возрастной группы и взрослых, а также форм коклюша, смешанных с вирусно-бактериальными респираторными инфекциями, что значительно затрудняет диагностику, особенно на ранних стадиях развития болезни [3-5,11]. Во многих странах мира молекулярно-генетические методы для выявления возбудителей этой инфекции стали применять с конца 80-х годов [12-15], при этом унифицированной методики не существует. Их использование обеспечивает быструю и раннюю диагностику коклюша и эффективно как у пациентов с различными формами клинического течения болезни, так и у пациентов, обследование которых проводится через 3 недели после начала кашля или на фоне приёма антибактериальных препаратов, и не зависит от вакцинального статуса [16-18].

Согласно СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша» забор материала для ПЦР-исследования на коклюш производится с задней стенки глотки сухими стерильными

зондами из полистирола с тампонами из вязкого или хлопкового волокна. Рекомендуемый вид тампона обладает хорошей гигроскопичностью и высокой абсорбционной способностью. Однако при работе с ним большая часть материала остается внутри тампона, что не только снижает эффективность, но и может повлиять на результаты диагностического исследования в целом [19, 20]. В отличие от традиционных вязких или хлопковых тампонов, которые состоят из множества скрученных волокон, в велюр-тампонах нет внутреннего слоя, задерживающего пробу. Несколько тысяч коротких нейлоновых волокон прикреплены перпендикулярно к наконечнику аппликатора, имеют мягкую текстуру, которая обладает хорошими сорбционными свойствами. По данным, представленным в патенте на изобретение РФ № 2586809 от 10.06.2016 г., универсальный велюр-тампон не только собирает значительно больше клеточных образцов, но и мгновенно и полностью высвобождает их в жидкую среду при элюции, повышая эффективность диагностического исследования [19, 20].

Цель работы – оценить возможности использования универсального велюр-тампона на этапе забора биологического материала для ПЦР-исследования на коклюш.

Материал и методы. В исследование включено 87 больных в возрасте от 1 мес до 37 лет, госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ» с подозрением на коклюш. У 68 (78,2%) пациентов на основании клинико-эпидемиологических и лабораторных данных врачами-инфекционистами верифицирован диагноз «Коклюш», у 17 (19,5%) – другие заболевания респираторного тракта, у 2 (2,3%) – установлен контакт с больным коклюшем.

По возрастным категориям пациенты распределились следующим образом: от 1 до 12 мес – 53 (60,9%), от 1 года до 10 лет – 27 (31,0%), от 11 до 20 лет – 4 (4,6%), 21 год и старше – 3 (3,5%). Из них больных коклюшем в возрасте от 1 до 12 мес было 42 (61,8%), от 1 года до 10 лет – 23 (33,8%), от 11 до 20 лет – 3 (4,4%), т. е. основную группу больных коклюшем составили дети в возрасте от 1 до 12 мес (медиана 4 месяца). Тяжесть и течение заболевания оценивали согласно общепринятой классификации, в соответствии с которой у 5 (7,4%) пациентов коклюш протекал в лёгкой, у 57 (83,8%) – в среднетяжёлой, у 6 (8,8%) – в тяжёлой формах. У 12 пациентов (17,6%) болезнь имела осложнённое течение, обусловленное присоединением вторичной инфекции.

Результаты ПЦР-исследования образцов клинического материала, собранных тампоном № 1 и № 2

Вид тампона	Результат выявления ДНК <i>B. pertussis</i> методом ПЦР-РВ		Всего
	положительный	отрицательный	
Тампон № 1	56	31	87
Тампон № 2	59	28	87

Первичное обследование пациентов проводилось на разных сроках от начала заболевания: 6 (6,9%) – на 1-й нед, 33 (37,9%) – на 2-й нед, 26 (29,9%) – на 3-й нед, 14 (16,1%) – на 4-й нед, 5 (5,7%) – на 5-й нед, 2 (2,3%) – на 6-й нед и 1 (1,2%) – на 8-й нед болезни, т. е. большинство (83,9%) пациентов обследовано на 2-4-й неделях болезни.

Биологический материал от больных брали с интервалом в один день с задней стенки глотки коммерческими тампонами двух видов одной фирмы-производителя (COPAN, Италия): зондом из полистирола с вязкозным тампоном (тампон № 1) и велюр-тампоном на пластиковом аппликаторе, имеющим щёточку на конце (тампон № 2). За одну процедуру по забору материала медицинским персоналом, прошедшим соответствующий инструктаж, использовалось последовательно два сухих стерильных тампона одного вида, которые объединялись в единую пробу. Необходимость применения одновременно двух тампонов объясняется следующим. Взятие материала первым тампоном за счёт оказываемого раздражающего действия на слизистую задней стенки глотки стимулирует кашель у обследуемого, что приводит к увеличению концентрации микробных частиц во второй порции материала, собираемого вторым тампоном.

Выделение ДНК из клинических образцов проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией по применению. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома возбудителей коклюша, паракоклюша, бронхисептикоза в биологическом материале осуществляли методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® *Bordetella multi-FL*» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) на приборе «Rotor-Gene Q» (QIAGEN GmbH, Германия). Анализ и интерпретацию результатов проводили согласно методическим рекомендациям по применению набора реагентов.

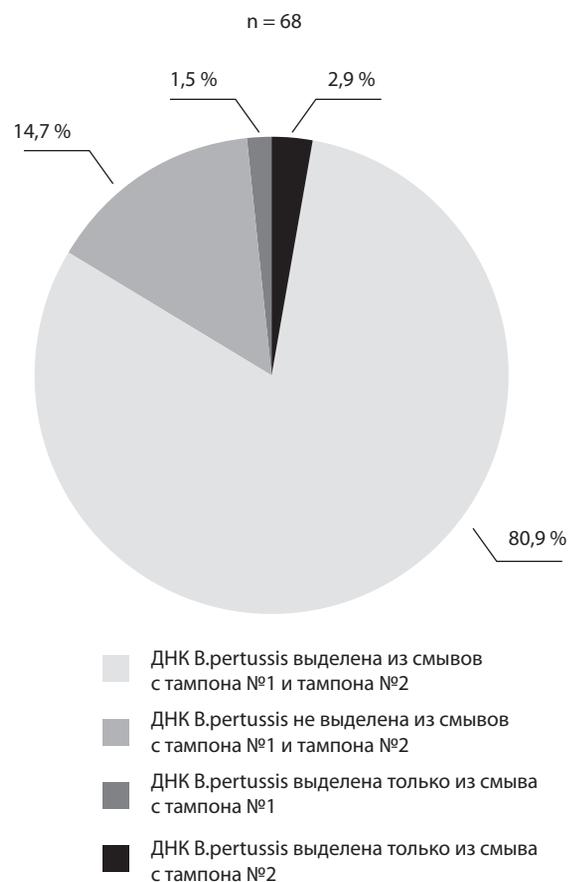
Результаты и обсуждение. При обследовании 68 больных с диагнозом «Коклюш» методом ПЦР лабораторное подтверждение получено у 58 (85,3%) пациентов. У 55 (80,9%) больных ДНК *B. pertussis* обнаружена в обоих образцах клинического материала, собранных как тампоном № 1, так и тампоном № 2; у 1 (1,5%) больного – только в образце клинического материала, собранном тампоном № 1, у 2 (2,9%) пациентов – только в образцах клинического материала с тампона № 2 (см. рисунок).

Сравнительный анализ эффективности ПЦР-диагностики показал, что клинический диагноз «Коклюш» при применении двух видов тампонов подтвержден у 55 (80,9%) пациентов. Использование велюр-тампона на этапе забора биологического материала привело к увеличению эффективности ПЦР-исследования на 2,9%, вязкозного тампона – только на 1,5%.

У 16 из 17 (94,1%) пациентов с другими заболеваниями респираторного тракта из клинического матери-

ала, собранного тампоном № 1 и тампоном № 2, ДНК возбудителя коклюша не обнаружена. В одном случае, при обследовании девочки в возрасте 9 мес с диагнозом «Парагрипп. Аденовирусная инфекция. РС-инфекция», в ходе ПЦР-исследования получены различные результаты. Из клинического материала, собранного тампоном № 1, ДНК возбудителя коклюша не выделена, а в клиническом материале, собранном тампоном № 2, ДНК *B. pertussis* обнаружена.

В исследование включены 2 контактировавшие с больным коклюшем женщины 28 и 30 лет, обследование которых проведено по эпидемиологическим показаниям. В первом случае, в клиническом материале, собранном тампоном № 1, ДНК возбудителя коклюша не выявлена, а в клиническом материале с тампона № 2 обнаружена ДНК *B. pertussis*. Во втором случае, в клиническом материале с тампона № 1 и тампона № 2 ДНК возбудителя коклюша не обнаружена.



Частота выделения ДНК *B. pertussis* из клинического материала, собранного тампоном № 1 и тампоном № 2 при обследовании больных с диагнозом «Коклюш».

Проведённый статистический анализ (см. таблицу) не показал значимых отличий между частотой выделения ДНК возбудителя коклюша из клинического материала, забор которого осуществляли тампоном № 1, и частотой выделения ДНК возбудителя коклюша из клинического материала с тампона № 2 ($p > 0,05$, критерий Мак-Нимара с поправкой Йейтса).

При использовании велюр-тампона (тампон № 2) на преналитическом этапе ПЦР-исследования медицинским персоналом, проводившим процедуру по забору биологического материала, отмечены некоторые особенности его строения, благодаря которым упрощалась их работа. Наличие гибкой шейки позволяло собирать материал у больного с большей поверхности слизистой оболочки задней стенки глотки, не вызывая при этом неприятные ощущения у обследуемого. Наличие компактной щёточки, расположенной на конце пластикового аппликатора, упрощало проведение манипуляций по объединению двух велюр-тампонов в единую пробу и требовало применение минимальных усилий со стороны сотрудника.

Заключение. Эффективность ПЦР-исследования при использовании велюр-тампона на этапе забора биологического материала составила 83,8%, вискозного тампона – 82,3%. Применение универсального велюр-тампона на преналитическом этапе повысило эффективность исследования на 1,5%. Таким образом при заборе биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша наряду с вискозным зондом-тампоном, применение которого регламентировано СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша», возможно использование и универсального велюр-тампона.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 см. REFERENCES)

1. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическое благополучие населения России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 1: 42-51.
2. Паньков А.С., Денисюк Н.Б., Кайкова О.В. Эволюция коклюшной инфекции: вопросы профилактики. *Медицинский альманах*. 2015; 5(40): 129-132.
3. Петрова М.С., Попова О.П., Борисова О.Ю., Абрамова Е.Н., Вартанян Р.В., Келли Е.И. Коклюш у детей раннего возраста. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 6: 12-24.
4. Попова О.П., Петрова М.С., Борисова О.Ю., Скирда Т.А., Грачева Н.М., Малышев Н.А. Клинические особенности коклюша у взрослых. *Терапевтический архив*. 2014; 86(11): 78-81.
5. Бабаченко И.В., Харит С.М., Курова Н.Н., Ценева Г.Я. *Коклюш у детей*. М.: Комментарий; 2014.
6. Гасилина Е.С., Китайчик С.М., Горелова И.А., Кабанова Н.П., Федосеева О.А., Богоявленская И.Ю. и др. Коклюш у детей – клинико-эпидемиологическая характеристика в Самарской области. *Журнал инфектологии*. 2018; 10(3): 54-60.
7. Егорова Т.В., Кулик М.С., Шангина И.А., Рожкова А.В., Кассихина С.А. Коклюш: старая проблема в современных условиях. *Вятский Медицинский Вестник*. 2015; 2(46): 44-7.
8. Гаврилова О.А., Астапов А.А., Шмелева Н.Д., Колодкина В.Л., Мартынов В.С. Вспышка коклюша среди привитых детей в организованном коллективе. *Здравоохранение*. 2017; 2: 75-80.
9. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Синашнина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Я.И., Каратаев И.Г. и др. Распространенность стертых форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. *Детские инфекции*. 2010; 9(4): 19-22.
10. Борисов А.С., Цуканова Е.С., Гурович О.В., Пухова Е.В., Степанничева Н.А., Мешкова Ю.В. и др. Коклюш и паракоклюш в современной практике участкового педиатра. *Вестник научных конференций*. 2017; 1-1(17): 34-6.

16. Прадед М.Н., Яцышина С.Б., Селезнева Т.С., Малинина С.В., Бирюлева Н.В., Любимова Т.Е. и др. ПЦР-диагностика инфекций, вызванных *B.pertussis*, *B.parapertussis* и *B.bronchiseptica*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 1: 53-6.

REFERENCES

1. Onishchenko G.G. Epidemiological well-being of the population of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 1: 42-51. (in Russian)
2. Pankov A.S., Denisyuk N.B., Kaikova O.V. Evolution of pertussis infection: issues of prophylaxis. *Meditsinskiy Almanach*. 2015; 5(40): 129-32. (in Russian)
3. Petrova M.S., Popova O.P., Borisova O.Yu., Abramova E.N., Vartanyan R.V., Kelli E.I. Pertussis in children of early age. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2012; 6: 12-24. (in Russian)
4. Popova O.P., Petrova M.S., Borisova O.Yu., Skirda T.S., Gracheva N.M., Malyshev N.A. Clinical features of pertussis in adults. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(11): 78-81. (in Russian)
5. Babachenko I.V., Harit S.M., Kurova N.N., Tseneva G.Ya. *Whooping cough at children [Koklyush u detey]*. Moscow: Kommentariy; 2014. (in Russian)
6. Gasilina E.S., Kitajchik S.M., Gorelova I.A., Kabanova N.P., Fedoseeva O.A., Bogoyavlenskaya I.Yu. et al. Pertussis in children – clinical and epidemiological characteristics in the Samara region. *Zhurnal infektologii*. 2018; 10(3): 54-60. (in Russian)
7. Egorova T.V., Kulik M.S., Shangina I.A., Rozhkova A.V., Kassihina S.A. Pertussis: an old problem in modern condition. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2015; 2(46): 44-7. (in Russian)
8. Gavrilova O.A., Astapov A.A., Shmeleva N.D., Kolodkina V.L., Martynov V.S. Case of whooping cough outbreak among vaccinated organized children. *Zdravookhranenie*. 2017; 2: 75-80. (in Russian)
9. Medkova A. Yu., Alyapkina Yu. S., Sinyashina L.N., Amelina I.P., Alekseev Ya.I., Karataev G.I. et al. The prevalence of subclinical forms of pertussis and analysis of phase states of bacteria *Bordetella pertussis*. *Detskie infektsii*. 2010; 9(4): 19-22. (in Russian)
10. Skoff T.H., Kenyon C., Cocoros N., Liko J., Miller L., Kudish K. et al. Sources of infant pertussis infection in the United States. *Pediatrics*. 2015; 136(4): 635-41.
11. Borisov A.S., Tsukanova E.S., Gurovich O.V., Pukhova E.V., Stepanishcheva N.A., Meshkova Yu.V. et al. Whooping cough in modern practice of the local pediatrician. *Vestnik nauchnykh konferentsiy*. 2017; 1-1(17): 34-6. (in Russian)
12. Houard S., Hackel C., Herzog A., Bollen A. Specific identification of *Bordetella pertussis* by the polymerase chain reaction. *Research in Microbiology*. 1989; 140(7): 477-87.
13. Glare E.M., Paton J.P., Premier R.R., Lawrence A.J., Nisbet I.T. Analysis of a repetitive DNA sequence from *Bordetella pertussis* and its application to the diagnosis of pertussis using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28(9): 1982-7.
14. Birkebaek N.H., Heron I., Skjoldt K. *Bordetella pertussis* diagnosed by polymerase chain reaction. *APMIS*. 1994; 102(4): 291-4.
15. Schlapfer G., Cherry J.D., Heininger U., Ueberal M., Schmitt-Grohe S., Laussucq S. Polymerase chain reaction identification of *Bordetella pertussis* infections in vaccinees and family members in a pertussis vaccine efficacy trial in Germany. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1995; 14(3): 209-14.
16. Praded M.N., Yatsyshyna S.B., Selezneva T.S., Malinina S.V., Birulyeva N.V., Lubimova T.Ye. et al. The kit of reagents for polymerase chain reaction diagnostic of infections caused by *B.pertussis*, *B.parapertussis* and *B.bronchiseptica*. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 1: 53-6. (in Russian)
17. Kamachi K., Yoshino S., Katsukawa C., Otsuka N., Hiramatsu Y., Shibayama K. Laboratory-based surveillance of pertussis using multitarget real-time PCR in Japan: evidence for *Bordetella pertussis* infection in preteens and teens. *New Microbes and New Infections*. 2015; 8: 70-4.
18. Martini H., Detemmerman L., Soetens O., Yusuf E., Pierard D. Improving specificity of *Bordetella pertussis* detection using a four target real-time PCR. *PLoS One*. 2017; 12(4): e0175587.
19. Probst A., Facius R., Wirth R., Moissl-Eichinger C. Validation of a nylon-flocked-swab protocol for efficient recovery of bacterial spores from smooth and rough surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76(15): 5148-58.
20. Finazzi G., Losio M.N., Varisco G. FLOQSwab™: optimisation of procedures for the recovery of microbiological samples from surfaces. *Italian Journal of Food Safety*. 2016; 5(3): 121-3.

Поступила 13.05.19

Принята в печать 25.05.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Савинова Т. А.¹, Бочарова Ю. А.¹, Лазарева А. В.¹, Чеботарь И. В.², Маянский Н. А.³

РАЗНООБРАЗИЕ ИНТЕГРОНОВ У *BLA_{VIM-2}*-НЕСУЩИХ КАРБАПЕНЕМРЕЗИСТЕНТНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Минздрава РФ», 119296, Москва, Россия;

²ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», 111123, Москва, Россия;

³Российская детская клиническая больница ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 119571, Москва, Россия

Рост распространённости продуцента металло-β-лактамаз (МБЛ) Pseudomonas aeruginosa в популяциях внутрибольничных патогенов связан с клональным распространением и/или горизонтальным переносом МБЛ в составе мобильных генетических элементов, в том числе интегронов.

Цель: охарактеризовать генетическое окружение гена, кодирующего бета-лактамазу VIM-2, в популяции карбапенем-резистентных (Карба-Р) клинических изолятов P. aeruginosa. Детекцию интегронов класса 1 проводили методом ПЦР. Типирование интегронов, несущих bla_{VIM-2}-генную кассету, осуществляли с помощью анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP, PCR-restriction fragment length polymorphism) с последующим секвенированием переменных регионов интегрона. В популяции P. aeruginosa выявлено пять типов bla_{VIM-2}-несущих интегронов: ST654-изоляты, составлявшие более 50% Карба-Р популяции, являлись носителями In56; ST235-изоляты содержали In559 (26% Карба-Р изолятов); ST111-изоляты (19% Карба-Р изолятов) характеризовались In59-подобной структурой интегрона; по одному ST235-изоляту являлись носителями In59 и In249. За исключением In56, несущего единственную генную кассету bla_{VIM-2}, выявленные типы интегронов характеризовались наличием дополнительных генов резистентности к триметоприму и/или аминогликозидам. В исследованной популяции P. aeruginosa не выявлено новых типов интегронов. Наблюдаемая корреляция типа интегрона с определёнными ST может свидетельствовать о преимущественной диссеминации клинически значимых детерминант резистентности, связанной с клональным распространением эпидемических линий ST111, ST654 и ST235. Особенности переменных участков интегронов могут быть использованы для эпидемиологической характеристики клинических изолятов P. aeruginosa.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*; карбапенемрезистентность; металло-β-лактамазы; VIM-2; интегроны.

Для цитирования: Савинова Т. А., Бочарова Ю. А., Лазарева А. В., Чеботарь И. В., Маянский Н. А. Разнообразие интегронов у *bla_{VIM-2}*-несущих карбапенемрезистентных клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 497-502. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-497-502>

Savinova T.A.¹, Bocharova Yu.A.¹, Lazareva A.V.¹, Chebotar I.V.², Mayanskiy N.A.³

INTEGRON DIVERSITY IN *BLA_{VIM-2}*-CARRYING CARBAPENEM-RESISTANT CLINICAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATES

¹National Medical Research Center for Children's Health Federal state autonomous institution of the Russian Federation Ministry of Health, Russia, 119296, Moscow, Russia;

²Central Research Institute of Epidemiology of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, 111123, Moscow, Russia;

³Russian Children's Clinical Hospital, Pirogov Russian National Research Medical University of the Russian Federation Ministry of Health, 119571, Moscow, Russia

The growing prevalence of metallo-β-lactamase (MBL)-producing Pseudomonas aeruginosa in nosocomial pathogen populations has been attributed to their clonal spread, and/or horizontal transfer of MBL determinants in mobile genetic elements, including integrons. To characterize the genetic background of the beta-lactamase VIM-2 encoding gene in the population of carbapenem-resistant (Carba-R) P. aeruginosa clinical isolates. The detection of class 1 integrons was performed by PCR. Typing of the class 1 integrons containing the bla_{VIM-2} gene cassette was performed by the PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) approach followed by sequencing of variable regions of class 1 integrons. Five types of the bla_{VIM-2}-carrying integrons were identified: ST654-isolates accounting for more than 50% of the Carba-R population harbored In56; ST235-isolates contained In559 (26% Carba-R isolates); ST111-isolates (19% Carba-R isolates) were characterized by carrying In59-like integron; two ST235-isolates harbored In59 and In249 each. Except In56, carrying the only bla_{VIM-2}-gene cassette, all other identified integron types harbored the genes of resistance to trimethoprim and/or aminoglycosides. No new types of integrons were identified in the P. aeruginosa clinical isolates. The observed correlation of the integron type with specific STs indicates a clonal dissemination of significant resistance determinant producers - ST111, ST654 and ST235 epidemic lines. The features of the integron variable regions can be used for the epidemiological characterization of clinical P. aeruginosa isolates.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; resistance to carbapenems; metallo-β-lactamase; VIM-2; integrons.

For citation: Savinova T. A., Bocharova Yu. A., Lazareva A. V., Chebotar I. V., Mayanskiy N. A. Integron diversity in *bla_{VIM-2}*-carrying carbapenem-resistant clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 497-502 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-497-502>.

For correspondence: Savinova T.A., Ph.D., Senior Research Fellow, Molecular microbiology Laboratory; e-mail: taniasavinova@gmail.com

Для корреспонденции: Савинова Татьяна Александровна, канд. биол. наук, ст.науч. сотр. лаб. мол.микробиологии; e-mail: taniasavinova@gmail.com

Information about authors:

Savinova T.A., <https://orcid.org/0000-0002-5484-5098>
Bocharova Yu.A., <http://orcid.org/0000-0003-0197-0255>
Lazareva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-7149-5387>
Chebotar I.V., <https://orcid.org/0000-0002-6691-2171>
Mayanskiy N.A., <https://orcid.org/0000-0001-8077-5313>

Acknowledgment. The study was funded by Russian Foundation for Basic Research (project no. 18-015-00301).

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

Received 16.05.2019
Accepted 25.06.2019

Введение. *Pseudomonas aeruginosa*, один из наиболее значимых оппортунистических патогенов, обладает природной резистентностью к широкому спектру анти-микробных препаратов [1, 2]. Многие штаммы этого возбудителя могут быстро приобретать резистентность к таким стандартным противосинегнойным антибиотикам, как карбапенемы и аминогликозиды, нередко сохраняя чувствительность только к колистину [3-5].

Хотя резистентность к карбапенемам у *P. aeruginosa* в основном связана с мутациями, приводящими к потере или инактивации порина OprD, или гиперэкспрессией эффлюксных систем [6], высокие уровни резистентности обычно бывают опосредованы продукцией карбапенемазы, в первую очередь металло-β-лактамаз (МБЛ) [7]. Инфекции, вызванные МБЛ-продуцирующими изолятами *P. aeruginosa*, связаны с более высокой смертностью и с более высокой частотой инвазивных заболеваний по сравнению с инфекциями, вызванными МБЛ-негативными изолятами [8-10].

Носительство МБЛ обычно коррелирует с определёнными генетическими линиями *P. aeruginosa*, клонами высокого эпидемического риска, которые обладают способностью приобретать и/или экспрессировать гены резистентности [11]. К международным клонам, обладающим множественной лекарственной устойчивостью, относятся сиквенс-типы (ST) 111, 175, 235 и др. [11]. Наиболее распространёнными МБЛ в мире являются ферменты типа VIM и IMP, гены которых локализованы на интегронах класса 1 [7,12]. Кроме генов МБЛ,

интегроны этого класса часто несут детерминанты резистентности к другим классам антибиотиков, в том числе к аминогликозидам и триметоприму [7]. Интегроны не являются самораспространяемыми мобильными генетическими элементами (МГЭ), они активно переносятся за счёт транспозонов, которые, в свою очередь, могут располагаться в плаزمиде или хромосоме.

Мы описали генетическую структуру популяции карбапенемрезистентных (Карба-Р) клинических изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в стационарах Москвы в 2012-2016 гг. [13]. Эта структура отличается доминированием небольшого числа международных клонов на фоне высокого разнообразия неродственных сиквенс-типов. Ведущим механизмом резистентности к карбапенемам у исследованных изолятов является продукция карбапенемазы VIM-2 [13]. В настоящем исследовании мы провели анализ генетического окружения гена *bla_{VIM-2}* и его взаимосвязи с клональными линиями, доминирующими в популяции Карба-Р *P. aeruginosa*.

Материал и методы. Карба-Р клинические изоляты *P. aeruginosa*, продуцирующие карбапенемазу VIM-2, выделены в трёх стационарах г. Москвы в период с 2012 по 2017 г. Для характеристики клональной структуры популяции использован метод мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) (<https://pubmlst.org/paeruginosa/>).

Аmplификацию и секвенирование *bla_{VIM}* проводили с использованием ранее описанных праймеров и условий [14]. Присутствие интегрона класса 1 определяли с использованием праймеров, специфических для 5' и

Праймеры для детекции и определения генетической структуры *bla_{VIM-2}*-несущих интегров

Название праймера	Последовательность праймера (5'–3')	Цель	Ссылка
5°CS	GCCTGTTCCGGTTCGTAAGCT	Аmplификация региона между 5°CS и <i>bla_{VIM}</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	[15]
tmiC	CGATCTCTGCGAAGAACTCG	Аmplификация региона между <i>bla_{VIM}</i> и <i>tmiC</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	[15]
VIM-F	AGTGGTGAGTATCCGACAG	Аmplификация региона между <i>bla_{VIM}</i> и <i>tmiC</i> или между <i>bla-VIM</i> и <i>sull</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	[16]
VIM-R	ATGAAAGTCCGTTGGAGAC	Аmplификация региона между 5°CS и <i>bla_{VIM}</i> или между <i>intI</i> и <i>blaVIM</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	[16]
INT-FN	ATGCCCCGTTCCATACAGAAGCT	Аmplификация региона между <i>intI</i> и <i>blaVIM</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	Данное исследование
Sul-RN	AACGCCGACTTCAGCTTTTGA	Аmplификация региона между <i>blaVIM</i> и <i>sull</i> для детекции интегрона, RFLP и секвенирования	Данное исследование
VIM2-For	CGCTCAGTCGTTGAGTAG	Секвенирование региона между <i>bla_{VIM}</i> и <i>sull</i> или <i>tmiC</i>	[17]
VIM2-Rev	CTTACTCAAAAAGTTTGAACAT	Секвенирование региона между <i>intI</i> или 5°CS и <i>bla_{VIM}</i>	[17]
INT-For	CTTCYARAAAACCGAGGATGC	Секвенирование региона между <i>intI</i> и <i>bla_{VIM}</i>	[17]
QacF	ATCGCAATAGTTGGCGAAGT	Секвенирование региона между <i>qacEΔI</i> и <i>sull</i>	[17]
QacR	CGGATGTTGCGATTACTTCG	Секвенирование региона между <i>bla_{VIM}</i> и <i>qacEΔI</i>	[18]

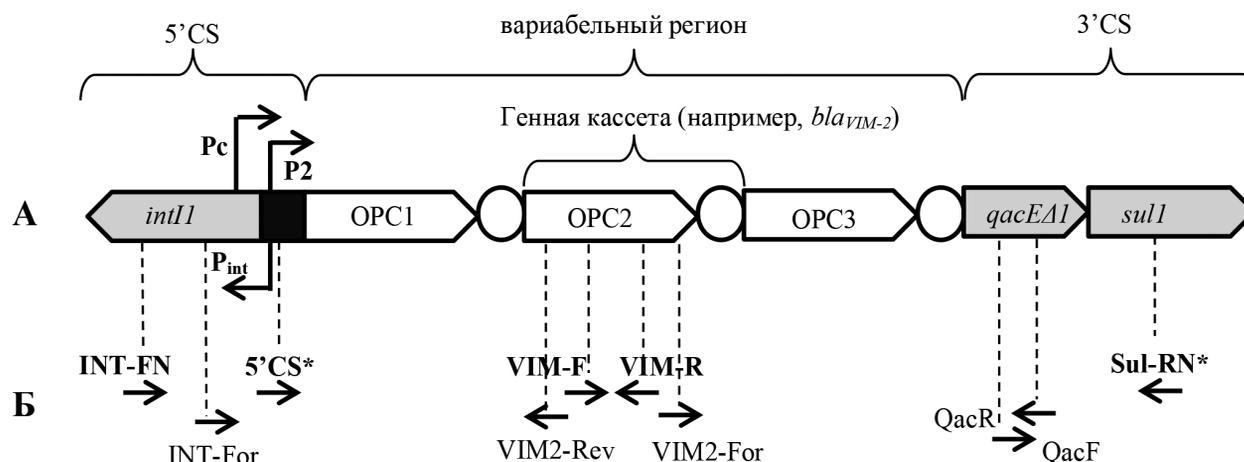


Рис. 1. Структура интегрона класса 1.

А – схема интегрона с тремя генными кассетами. Серые участки – концевые невариабельные регионы интегрона, черный прямоугольник – сайт интеграции *attI*, белые участки – высоковариабельный регион, включающий генные кассеты; кругами показаны рекомбинационные сайты *attC*. Pc и P2 – кассетные промоторы, P_{int} – промотор интегразы; OPC – открытая рамка считывания. Б – места отжига праймеров.

3' консервативных сегментов интегрона (CS, conserved segment) и консервативных регионов *bla_{VIM}*. Для амплификации 5'-части использовали праймеры 5'CS/INT-FN и VIM-R, для амплификации 3'-части использовали праймеры VIM-F и *tniC*/Sul-RN (см. таблицу, рис. 1).

Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP, PCR-restriction fragment length polymorphism) применяли для анализа переменных регионов интегрон-несущего изолята получали два ампликона (5'- и 3'-регион), которые подвергали обработке эндонуклеазой рестрикции TaqI (Thermo Fisher Scientific). Дальнейший анализ образующихся фрагментов проводили методом электрофореза в 2% агарозном геле. От одного до пяти изолятов, представляющих каждый RFLP-тип, отбирали для секвенирования переменных регионов интегрона с использованием амплификационных праймеров и дополнительных праймеров для секвенирования (см. табл. 1, рис. 1). Структуру интегрона анализировали с использованием алгоритма BLAST, номер интегрона присваивали в соответствии с базой данных INTEGRALL [<http://integrall.bio.ua.pt>].

Результаты. Проанализированы 64 Карба-Р изолята, содержащих *bla_{VIM-2}*, которые относились к трём сиквентипам: ST654 (*n*=33), ST235 (*n*=19), ST111 (*n*=12). Методом рестрикционного анализа идентифицировано четыре RFLP-типа интегрон-несущих (рис. 2). При помощи секвенирования репрезентативных изолятов удалось выявить пять типов интегрон-несущих (рис. 3).

Более 50% Карба-Р изолятов относились к RFLP-типу I (см. рис. 2). Эти изоляты несли интегрон типа In56 (GenBank AF191564) и обладали ST654. Этот интегрон содержал единственную генную кассету *bla_{VIM-2}*, связанную с резистентностью к бета-лактамам. Выявленный интегрон имел ряд отличий от референсной последовательности In56, в том числе он содержал два промотора PcW и P2 с более высокой эффективностью экспрессии вместо одного «слабого» промотора PcW. Активная форма P2-промотора получена путём инсерции 3 п.о. в область гена *intI1*. 3'-последовательность выявленного

нами интегрона обладала необычной структурой, имея в своем составе участок 5'CS-региона и ген *sulI*.

Карба-Р изоляты *P. aeruginosa* RFLP-типа II составляли 26% от выборки (см. рис. 2, 3); все они несли интегрон In559 (GenBank AM749810) и относились к ST235. Особенностью этого интегрона являлось отсутствие 3'CS-региона, обнаруживаемого у большинства интегрон-несущих в клинически значимых бактериях. Этот консервативный регион обычно включает гибридную генную кассету, несущую *qacE* и *sulI*, в интактном виде опосредующих резистентность к четвертичным аммониевым соединениям и сульфаниламидам, соответственно [19]. Выявленный In559 в 3'-регионе содержал ген *tniC*, кодирующий резольвазу транспозона Tn5090 [14]. Кроме *bla_{VIM-2}*,

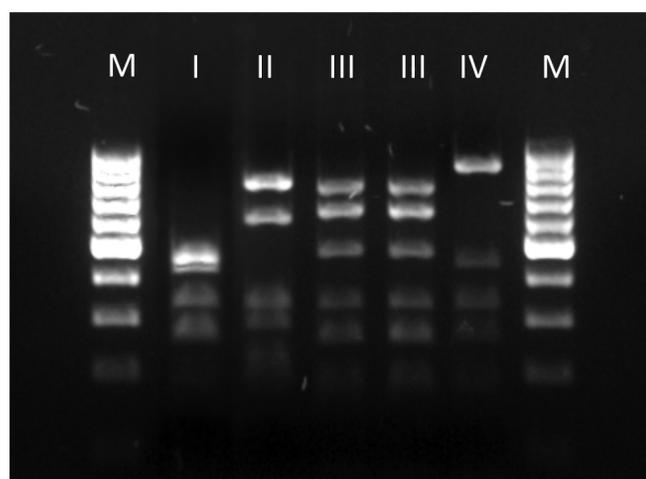


Рис. 2. RFLP-типы интегрон-несущих.

M – маркер молекулярного веса; I – In56 (ST654, *n*=33); II – In559 (ST235, *n*=17); III – In59 (ST235, *n*=1) и In59-подобный (ST111, *n*=12); IV – In249 (ST235, *n*=1).

	N (%) изолятов	ST	Кассетный промотор	Вариабельный регион (п.о.)	Структура интегрона
In56 (AF191564)	33 (52)	654	PcW/P2	1143	
In559 (AM749810)	17 (26)	235	PcH2	2713	
In59-подобный (KY860571)	12 (19)	111	PcS	2373	
In59 (AF263519)	1 (2)	235	PcS	2373	
In249 (AM087404)	1 (2)	235	PcS	1811	

Рис. 3. Распределение и генетическая структура *bla*_{VIM-2}-несущих интегронов.

Номера интегронов присвоены в соответствии с базой данных INTEGRALL. Номера референсных последовательностей в GeneBank представлены в скобках. Вариабельный регион расположен между геном интегразы (*intI*) и 3'CS (conserved sequence, консервативная последовательность). 5' и 3'CS интегронов класса I выделены светло-серым цветом, а *bla*_{VIM-2} генные кассеты – темно-серым цветом

интегрон несёт гены аминогликозид-ацетилтрансферазы (*aacA7*, *aacA5*) и дигидрофолатредуктазы (*dfrB5*), опосредующие резистентность к аминогликозидам и триметоприму, соответственно (см. рис. 3).

In59-подобный интегрон выявлен у 12 (19%) Карба-Р изолятов (см. рис. 2, 3). Все изоляты относились к ST111 и имели RFLP-тип III. Описываемый интегрон включал *bla*_{VIM-2}, фланкированный генами аминогликозид-ацетилтрансферазы - *aacA29a* (см.рис.3). Референсный In59 (GenBank AF263519) в третьей позиции вариабельного региона содержит *aacA29b* вместо *aacA29a*. Ферменты, кодируемые генами *aacA29a* и *aacA29b*, различались по четырём аминокислотам. Отличия от референсного In59 затронули некодирующие регионы: две и пять точечных мутаций в промоторном регионе PcS и *attC*-сайте первой генной кассеты (*aacA29a*), соответственно, и инсерция одной пары оснований в рекомбинационном сайте *attC* третьей генной кассеты. Секвенирование единственного ST235-изолята, относившегося к RFLP-типу III, показало типичную для In59 структуру: *aacA29a*/*bla*_{VIM-2}/*aacA29b*.

В одном Карба-Р ST235-изоляте с RFLP-типом IV выявлен редкий интегрон In249 (GenBank AM087404). Вариабельный регион этого интегрона содержал две генные кассеты: *aacA4* и *bla*_{VIM-2}. В отличие от референсной последовательности In249, обнаруженный интегрон имел дубликацию 19 п.о. в *attC* сайте генной кассеты *aacA4*, связанной с резистентностью к аминогликозидам.

Обсуждение. Разнообразие МБЛ-кодирующих интегронов класса I изучено среди 64 продуцирующих карбапенемазу VIM-2 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в трёх стационарах г. Москвы. На фоне общего генетического разнообразия Карба-Р изолятов, *bla*_{VIM-2}-продуцирующие штаммы *P. aeruginosa* относились всего к трём клональным линиям (ST654, 235, 111).

Все ST654-изоляты относились к RFLP-типу I и несли интегрон In56. Согласно базе данных INTEGRALL, референсный интегрон этого типа содержит одну генную кассету, *bla*_{VIM-2}. Отличия от референсного интегрона состояли в особенностях генетического окружения генной кассеты, а именно в типе промотора и структуре 3'-региона интегрона. 3'-последовательность имела структуру, аналогичную структуре In1206 (GenBank KR337991), описанного в 2015 г. в изолятах, выделенных в Великобритании [20]. Подобный необычный 3'-регион, но с добавлением генной кассеты *aadB*, кодирующей аминогликозид-аденилтрансферазу, ранее обнаружен у ST654-изолята из Швеции, который, по-видимому, импортирован из Туниса [21].

В долговременном эпидемиологическом исследовании *P. aeruginosa* в Беларуси, Казахстане, России рост частоты Карба-Р изолятов в 2008-2010 г. г. связан с распространением доминирующего МБЛ-продуцирующего ST235-клона. Ген *bla*_{VIM-2} обнаружен у подавляющего большинства МБЛ-изолятов (99,6%) преимущественно в составе интегрона In559 (95,6%), у незначительной части изолятов выявлены интегроны In599, In340, In464, In620 (4,3%) [22]. Такая распространённость In559 среди ST235-изолятов характерна и для проанализированной популяции. Семнадцать из 19 Карба-Р ST235-изолятов несли интегрон In559 (GenBank AM749810). Отсутствие консервативного 3'CS-региона и наличие вместо него гена резольвазы *tniC* в составе In559 является характерной чертой интегронов класса I, входящих в состав Tn5090-подобных транспозонов. *bla*_{VIM-2}-содержащие интегроны с аналогичным составом генных кассет и структурой обнаружены ранее в изолятах, выделенных в России (GenBank AM749810, DQ522233), США (GenBank AY943084), Тайване, Норвегии (GenBank FM165436) [21-24], Монголии (GenBank KT768111) [25], Танзании (GeneBank KC630981) [26].

Впервые изолят с референсной структурой интегрона In59 выделен во Франции в 1998 г. (GenBank AF263519), затем в Австрии [27]. По данным MLST эти изоляты относились к CC111. Все ST111-изоляты, проанализированные в данном исследовании, относились к RFLP-типу III и несли *bla*_{VIM-2} в составе In59-подобного интегрона. Аналогичный состав и структура интегрона (*aacA29a/bla*_{VIM-2}/*aacA29a*) выявлены у продуцирующих VIM-2 ST111-изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в Чехии (GenBank KY860571) [28]. В нашей коллекции один изолят с классической структурой интегрона In59 относился к ST235.

Резистентность к карбапенемам одного ST235-изолята обусловлена наличием *bla*_{VIM-2} в составе интегрона In249. От референсной последовательности он отличался дупликацией в сайте *attC* генной кассеты *aacA4*. Такая особенность характерна для интегрона In238 из штамма SMART1130 *Serratia marcescens* (LC169580), выделенного в Чехии в 2013 году, и In259 из штамма IRPA-2 *Pseudomonas aeruginosa* (AY574992), выделенного в 2004 году в Китае. Китайский интегрон имел сходную последовательность варибельного региона в 3'-области. Аминокислотная последовательность кодируемой геном *aacA4* аминогликозид-6'-*N*-ацетилтрансферазы в составе интегрона In249 несла замены Leu90Ser и Gly71Ser по сравнению с In238 из штамма SMART1130 и In259 из штамма IRPA-2, соответственно. In238 и In249 также различались по типу VIM: интегрон из *Serratia marcescens* содержал генную кассету *bla*_{VIM-4}.

Несмотря на то что интегроны являются МГЭ и имеют механизмы для распространения в составе плазмид или транспозонов, большинство генов МБЛ «заякорены» в хромосоме [28]. Поскольку в настоящем исследовании не выявлено новых типов интегროнов и наблюдалась корреляция типа интегрона с определёнными ST, можно утверждать, что диссеминация клинически важных детерминант резистентности, таких как гены МБЛ, связана в первую очередь с клональным распространением генетических линий высокого эпидемического риска ST111, ST654 (100% изолятов этих ST являются носителями *bla*_{VIM-2}) и ST235 (65% изолятов этого ST являются носителями *bla*_{VIM-2}) [13]. Изменения в составе *bla*_{VIM-2}-несущих интегროнов, затрагивающие варибельные области, в том числе промоторные и рекомбинационные сайты, и приводящие к появлению новых интегронных структур, свидетельствуют о продолжающейся эволюции бактерий. Это обосновывает необходимость дальнейшего изучения МГЭ, их локализации и распространения в популяции клинически значимых бактерий, в том числе *P. aeruginosa*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-015-00301).

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-12, 14-28 см. REFERENCES)

13. Савинова Т.А., Лазарева А.В., Шамина О.В., Крыжановская О.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Генотипы и носительство металло-β-лактамаз среди карбапенемрезистентных *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у детей в г. Москве. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018; 20(4): 370-4.

REFERENCES

1. Driscoll J.A., Brody S.L., Kollef M.H. The epidemiology, patho-

- genesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 2007; 67: 351-68.
2. Lister P.D., Wolter D.J., Hanson N.D. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009; 22: 582-610.
3. Andrade S.S., Jones R.N., Gales A.C., Sader H.S. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin American medical centres: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *J. Antimicrob. Chemother.* 2003; 52: 140-1.
4. Lim T.P., Lee W., Tan T.Y. et al. Effective antibiotics in combination against extreme drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibility to polymyxin B. *PLoS One*. 2011; 6: e28177.
5. Cabot G., Ocampo-Sosa A.A., Dominguez M.A., et al. Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Genetic markers of widespread extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56: 6349-57.
6. Breidenstein E.B.M., de la Fuente-Nunez C., Hancock R.E.W. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol.* 2011; 19: 419-26.
7. Cornaglia G., Giamarellou H., Rossolini G.M. Metallo-β-lactamases: a last frontier for β-lactams? *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11: 381-93.
8. Laupland K.B., Parkins M.D., Church D.L., Gregson D.B., Louie T.J., Conly J.M., Elsayed S., and Pitout J.D. Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: importance of metallo-β-lactamase (MBL)-producing strains. *J. Infect. Dis.* 2005; 192:1606-12.
9. Zavascki A.P., Barth A.L., Fernandes J.F., Moro A.L., Goncalves A.L., and Goldani L.Z. Reappraisal of *Pseudomonas aeruginosa* hospital acquired pneumonia mortality in the era of metallo-β-lactamase-mediated multidrug resistance: a prospective observational study. *Crit. Care*. 2006; 10: R114.
10. Zavascki A.P., Barth A.L., and Goldani L.Z. Nosocomial bloodstream infections due to metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 61:1183-5.
11. Woodford N., Turton J.F., Livermore D.M. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2011; 35: 736-55.
12. Stokes H.W., Martinez E., Roy Chowdhury P. et al. Class 1 integron-associated spread of resistance regions in *Pseudomonas aeruginosa*: plasmid or chromosomal platforms? *J. Antimicrob. Chemother.* 2012; 67: 1799-800.
13. Savinova T.A., Lazareva A.V., Shamina O.V., Kryzhanovskaya O.A., Chebotar I.V., Mayanskiy N.A. Genotypes and metal-β-lactamases carriage in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children in Moscow. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2018; 20(4): 370-4. (in Russian)
14. Shibata N., Doi Y., Yamane K., Yagi T., Kurokawa H., Shibayama K., Kato H., Kai K., Arakawa Y. PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(12): 5407-13.
15. Toleman M.A., Vinodh H., Sekar U., Kamat V., Walsh T.R. *Bla*_{VIM-2}-harboring integrons isolated in India, Russia, and the United States arise from an ancestral class 1 integron predating the formation of the 3 conserved sequence *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51: 2636-8.
16. Miriagou V., Tzelepi E., Gianneli D., and Tzouveleki L.S. *Escherichia coli* with a self-transferable, multi-resistant plasmid coding for the metallo-β-lactamase VIM-1. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47: 395-7.
17. Siarkou V.I., Vitti D., Protonotariou E., Ikonomidis A., Sofianou D. Molecular epidemiology of outbreak-related *Pseudomonas aeruginosa* strains carrying the novel variant *bla*_{VIM-17} metallo-beta-lactamase gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(4): 1325-30.
18. Toleman M.A., Biedenbach D., Bennett D.M., Jones R.N., and Walsh T.R. Italian metallo-beta-lactamases: a national problem?

- Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005; 55: 61–70.
19. Paulsen I.T., Littlejohn T.G., Rådström P., Sundström L., Sköld O., Swedberg G., Skurray R.A. The 3' Conserved Segment of Integrons Contains a Gene Associated with Multidrug Resistance to Antiseptics and Disinfectants. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37(4): 761-8.
 20. Wright L.L., Turton J.F., Hopkins K.L., Livermore D.M., Woodford N. Genetic environment of metallo- β -lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015 Dec; 70(12): 3250-8.
 21. Samuelsen O., Toleman M.A., Sundsfjord A. et al. Molecular epidemiology of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Norway and Sweden shows import of international clones and local clonal expansion. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54: 346–52.
 22. Edelstein M.V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., D'souza J.W., Tapalski D.V., Azizov I.S., Sukhorukova M.V., Pavlukov R.A., Kozlov R.S., Toleman M.A., Walsh T.R. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect. Dis.* 2013;13(10): 867-76.
 23. Lolans K., Queenan A.M., Bush K., Sahud A., Quinn J.P. First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo- β -lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49: 3538–40.
 24. Yan J.J., Hsueh P.R., Lu J.J., Chang F.Y., Ko W.C., Wu J.J. Characterization of acquired β -lactamases and their genetic support in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Taiwan: the prevalence of unusual integrons. *J. Antimicrob. Chemother* 2006; 58: 530–6.
 25. Baljin B., Baldan G., Chimeddorj B., Tulгаа K., Gunchin B., Sandag T., Pfeffer K., MacKenzie C.R., Wendel A.F. Faecal Carriage of Gram-Negative Multidrug Resistant Bacteria among Patients Hospitalized in Two Centres in Ulaanbaatar, Mongolia. *PLoS One.* 2016;11(12): e0168146.
 26. Moyo S., Haldorsen B., Aboud S., Blomberg B., Maselle S.Y., Sundsfjord A., Langeland N., Samuelsen Ø. Identification of VIM-2-producing *Pseudomonas aeruginosa* from Tanzania is associated with sequence types 244 and 640 and the location of blaVIM-2 in a TniC integron. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015;59(1): 682-5.
 27. Duljasz W., Gniadkowski M., Sitter S., Wojna A., and Jebelean C. First organisms with acquired metallo- β -lactamases (IMP-13, IMP-22, and VIM-2) reported in Austria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53: 2221–2.
 28. Papagiannitsis C.C., Medvecky M., Chudejova K., Skalova A., Rotova V., Spanelova P., Jakubu V., Zemlickova H., Hrabak J. Czech Participants of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Molecular Characterization of Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* of Czech Origin and Evidence for Clonal Spread of Extensively Resistant Sequence Type 357 Expressing IMP-7 Metallo- β -Lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(12): e01811-7.

Поступила 16.05.19

Принята к печати 25.06.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Боронина Л.Г.^{1,2}, Саматова Е.В.²

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛАЗЕРНОГО СВЕТОРАСSEИВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии, 620028, Екатеринбург, Россия;

²ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», лаборатория клинической микробиологии, 620149, Екатеринбург, Россия

Результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией лазерного светорассеивания и культуральным методом по D. Maki совпали в 91,8% случаев. Инфекции, связанные с катетером доказаны в 8 случаях. У 5 пациентов из крови и интраваскулярного катетера выделялись: Staphylococcus epidermidis (n=1), Staphylococcus haemolyticus (n=1), Escherichia coli (n=1), Staphylococcus aureus (n=2); у 1 ребенка из вентрикулярного шунта и ликвора обнаружен Staphylococcus epidermidis (n=1) и у 1 ребенка из вентрикулярного шунта Escherichia coli лактозонегативная + Staphylococcus haemolyticus, а из ликвора только Escherichia coli лактозонегативная; у 1 пациента из мочевого катетера и мочи выявлена Pseudomonas aeruginosa (n=1).

Клиническое значение выделенных микроорганизмов из катетера необходимо оценивать в каждом конкретном случае с учетом его количества и вида выделенного микроорганизма.

Ключевые слова: катетер-ассоциированные инфекции; дети; технология лазерного светорассеивания.

Для цитирования: Боронина Л.Г., Саматова Е.В. Применение технологии лазерного светорассеивания для диагностики катетер-ассоциированных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(8): 503-506

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-503-506>

Boronina L.G.^{1,2}, Samatova E.V.²

APPLICATION OF LASER LIGHT SCATTERING TECHNIQUE TO DIAGNOSE CATHETER-ASSOCIATED INFECTIONS

¹Urals State Medical University, chair of clinical laboratory diagnostics and bacteriology, 620028, Ekaterinburg, Russian Federation;

²Regional Children's Clinical Hospital, clinical microbiology laboratory, 620149, Ekaterinburg, Russian Federation

The results of the bacteriological catheter investigation on the analyzer with the technology of laser light scattering and using D. Maki culture technique coincided in 91.8% of cases. Catheter-associated infections are proven in 8 cases. The following obtained from blood and intravascular catheter in 5 patients: Staphylococcus epidermidis (n=1), Staphylococcus haemolyticus (n=1), Escherichia coli (n=1), Staphylococcus aureus (n=2); Staphylococcus epidermidis (n=1) was detected in 1 child from ventricular shunt and cerebrospinal fluid and Escherichia coli lactose-negative + Staphylococcus haemolyticus were detected in 1 child from ventricular shunt, while only Escherichia coli lactose-negative was detected from cerebrospinal fluid; Pseudomonas aeruginosa (n=1) was found out in 1 patient from the urinary catheter and urine.

Clinical significance of the isolated microorganisms from the catheter must be assessed in each particular case taking into account its quantity and type of the isolated microorganism.

Key words: catheter-associated infections; children; laser light scattering technology.

For citation: Boronina L.G., Samatova E.V. Application of laser light scattering technique to diagnose catheter-associated infections. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64(8): 503-506. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-503-506>

For correspondence: Boronina Lyubov Grigorievna, Doctor of Medical Sciences, Professor of chair of clinical laboratory diagnostics and bacteriology; e-mail: boroninalg@mail.ru

Information about authors:

Boronina L.G., <http://orcid.org/0000-0003-0152-962X>

Samatova E.V., <http://orcid.org/0000-0003-3154-6201>

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

Funding. The study had sponsorship – firm Alifax, Moscow.

Received 17.06.2019
Accepted 25.07.2019

Введение. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи имеют место в любом стационаре, в том числе катетер-ассоциированные инфекции. По данным Всемирной организации здравоохранения среди

взрослых пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии в странах с высоким уровнем дохода, например, частота катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК) составляет 3,5 на 1000 катетеро-дней и для новорожденных 17,6 на 1000 катетеро-дней, в странах со средним и низким уровнем доходов данный показатель значительно выше — 12,2 на 1000 катетеро-дней [1]. В России 4,6 случаев у пациентов ОРИТ на 1000 дней катетеризации [2]. Примерно у 15% пациен-

Для корреспонденции: Боронина Любовь Григорьевна, д-р мед. наук, проф. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии; e-mail: boroninalg@mail.ru

тов после постановки центрального венозного катетера (ЦВК) развиваются осложнения: механические – 5-19%, инфекционные – 5-26%, тромботические – до 26%, которые требуют удаления катетера. В условиях нарастания инвазивности лечебно-диагностического процесса, распространения полирезистентных к антимикробным препаратам микроорганизмов манипуляция пункционной катетеризации сосудов сопряжена с риском развития инфекционных осложнений. Клинические проявления подобного состояния разнородны и проявляются как в виде локального воспаления в месте введения катетера, так и в виде наиболее тяжелой формы генерализованной инфекции — сепсиса [1, 3]. КАИК занимает 3 место среди всех нозокомиальных инфекций (20%) [4]. При этом самым распространенным источником нозокомиальной инфекции являются мочевыводящие пути, особенно в случае их дренирования уретральным катетером. Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей составляют, по меньшей мере, 80% всех осложненных инфекций мочевыводящих путей и остаются наиболее распространенным типом внутрибольничной инфекции [5]. Также к инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи можно отнести гнойный менингит, вентикулит у больных с гидроцефалией при проведении нейрохирургического вмешательства с целью установки шунтирующей системы или ее обслуживания. Правильная и быстрая идентификация возбудителя, определение чувствительности к антибактериальным препаратам, может сыграть решающую роль при лечении больных с различными катетер-ассоциированными инфекциями.

Целью настоящего исследования является оценить возможность применения ускоренных методов диагностики катетер-ассоциированных инфекции у детей для получения быстрых, но при этом точных результатов посевов катетеров.

Материал и методы. С 6 марта по 6 ноября 2018 г. исследованы 197 проб катетеров от 197 ребенка преимущественно из реанимационных, хирургических и онкогематологических отделений ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница». Возраст детей от 3 дней до 16 лет, преимущественно с диагнозами: респираторный дистресс-синдром; внутриутробная инфекция, недошенность; катетер-ассоциированная инфекция кровотока под вопросом; гемолитическая болезнь новорожденных; хирургические вмешательства по поводу атрезии пищевода; хроническая почечная недостаточность; пневмония; врожденный порок сердца; острый лейкоз; гидроцефалия; инфекция мочевыводящих путей. При подозрении на катетер-ассоциированные инфекции кровотока исследовали: пупочный, центральный венозный катетер (ЦВК), глубокую венозную линию, сосудистый катетер; при поэтапных шунтирующих операциях при гидроцефалии с подозрением на шунт-менингит – вентрикулярный шунт; при инфекциях мочевыводящих путей – мочевой катетер.

При соблюдении стерильности каждый катетер длиной не менее 5-6 см делился по палам. Посев одного из фрагментов осуществлялся классическим культуральным полуколичественным методом по D. Maki на кровяно-сывороточный агар (инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 ч) и погружением катетера в сахарный бульон для изучения его внутреннего канала, инкубация при +37°C в течение трех суток с ежедневным просмотром.

Вторая половина катетера исследовалась с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, позволяющей обнаружить делящиеся бактерии. Для этого второй фрагмент катетера заливался 1 мл сахарно-сывороточного бульона, перемешивался в течение 5 минут на вортексе, затем центрифугировался при 3500 оборотов/мин в течение 30 минут. 500 мкл суспензии образца катетера вносили в специальные флаконы HB&L. В каждый флакон было также добавлено 200 мкл коммерческого препарата Alifax, содержащего никотинамидадениндинуклеатид, фактор X и гемин, для ускорения роста прихотливых микроорганизмов (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*). Флаконы с образцами загружали в анализатор с технологией лазерного светорассеивания, время инкубации составляло 10 часов. Результаты фиксировались автоматически с выдачей концентрации микроорганизмов в образце (в КОЕ/мл). Если бактериальная концентрация 0 КОЕ/мл выдается результатом анализатором, как отрицательный; бактериальная концентрация 0+50 КОЕ/мл – результат положительный в количестве < 50 КОЕ/мл; бактериальная концентрация > 50 КОЕ/мл – результат положительный в конкретном цифровом количестве. Положительные образцы, высеивали на кровяно-сывороточный агар и инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ с последующей идентификацией выделенных микроорганизмов.

Для посева крови из интактной периферической вены использовались: системы для гемокультур «Signal» («Oxoid», Великобритания), флаконы для автоматического анализатора гемокультур «BACTEC™ FX» («Becton Dickinson», США).

Посев спинномозговой жидкости (СМЖ) проводился, согласно методическим указаниям 4.2.1887-04 [6]. Чашки с шоколадным и кровяно-сывороточным агарами инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 48 часов, 0,1% полужидкий сывороточный агар при +37°C в течение 5 суток с ежедневным просмотром. Мазки из СМЖ окрашивали по Граму.

Посев мочи осуществлялся на кровяной агар по методу Айзенберга [7].

Видовую идентификацию бактерий, определение чувствительности к антибактериальным препаратам выделенных микроорганизмов проводили по классическим бактериологическим методикам и с использованием наборов реагентов для бактериологических анализаторов: автоматического MicroScan WalkAway 96 (Siemens, США) и полуавтоматических: SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США/Великобритания), ATB Expression (bioMerieux, Франция).

Результаты и обсуждение. В 156 (79,2%) пробах, исследованных как методом по D. Maki, так и с использованием полуавтоматического анализатора с технологией лазерного светорассеивания выявлена корреляция: анализатор – результат отрицательный (микроорганизм не обнаружен), культуральный метод – «рост микроорганизмов не обнаружен».

В 25 пробах (12,6%) выявлена корреляция с результатами культурального исследования по D. Maki (см. таблицу). Обнаружены как диагностически значимые для катетер-ассоциированной инфекции микроорганизмы (13 проб, 6,6%): *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*,

Положительные результаты исследования катетеров методом лазерного светорассеивания

Вид исследуемого катетера	Всего, n	Из них положительные, n	Обнаруженные микроорганизмы	КОЕ/мл			
Катетер-ассоциированные инфекции кровотока							
Пупочный	60	8	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>Enterococcus sp.</i>	1.000			
			<i>Staphylococcus hominis</i>	400.000			
			<i>Escherichiacoli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	12.000.000			
			<i>Streptococcus agalactiae</i>	700.000			
			<i>Corynebacterium sp.</i> ,	< 50			
			<i>Escherichia coli</i>	1000			
			<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Enterococcus sp.</i>	< 50			
			<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	< 50			
			Центральный венозный катетер	46	7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50
						<i>Staphylococcus aureus</i>	1000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50						
<i>Escherichia coli</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	1000						
<i>Acinetobacter baumannii</i>	200.000						
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	< 50						
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1000						
Глубокая венозная линия	34	4				<i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50
			<i>Streptococcus sp.</i>	< 50			
			<i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50			
			<i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50			
Сосудистый	33	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.000			
			<i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50			
Венозный	14	1	<i>Enterobacter cloacae</i>	40.000			
Катетер-ассоциированные инфекции центральной нервной системы							
Вентрикуляр-ный шунт	8	2	<i>Escherichiacoli</i> лактозонегативная + <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	12.000.000			
			<i>Staphylococcus epidermidis</i>	< 50			
			Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей				
Мочевой	2	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500.000			
Всего	197	25					

Staphylococcus hominis, *Staphylococcus haemolyticus* как в монокультуре, так и в ассоциации. Результат анализатора с технологией лазерного светорассеивания был от 1000 до 12.000.000 КОЕ/мл.

В 12 пробах (6%) выявлены главным образом коагулазоотрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*), *Corynebacterium sp.*, *Streptococcus sp.* как в монокультуре, так и в ассоциации, титр менее 50 КОЕ/мл, свидетельствующие скорее о колонизации катетера.

16 проб (8,2%) отрицательные по результатам анализатора с технологией лазерного светорассеивания, а в культуральном методе положительные – выделялись преимущественно коагулазоотрицательные стафилококки в количестве менее 15 КОЕ/катетер, что свидетельствует о возможной контаминации.

В то же время выделение *Staphylococcus epidermidis* из интактной вены у недоношенных детей или детей с нарушениями иммунитета может играть этиологическую роль в развитии бактериемии и сепсиса [8].

Таким образом, результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией ла-

зерного светорассеивания и культуральным методом по D. Makі совпали в 91,8% случаев.

Инфекции, связанные с катетером доказаны в 8 случаях. У 5 пациентов из крови и интраваскулярного катетера выделялись: *Staphylococcus epidermidis* (n=1), *Staphylococcus haemolyticus* (n=1), *Escherichia coli* (n=1), *Staphylococcus aureus* (n=2); у 1 ребенка из вентрикулярного шунта и ликвора обнаружен *Staphylococcus epidermidis* (n=1) и у 1 ребенка из вентрикулярного шунта *Escherichia coli* лактозонегативная + *Staphylococcus haemolyticus*, а из ликвора только *Escherichia coli* лактозонегативная; у 1 пациента из мочевого катетера и мочи выявлена *Pseudomonas aeruginosa* (n=1).

Считаются основными возбудителями КАИК микроорганизмы рода *Staphylococcus* – 43% (*Staphylococcus aureus* - 25%, коагулазоотрицательные стафилококки - 18%), *Enterobacteriaceae sp.* - 27%, *Acinetobacter spp.* - 13%, *Pseudomonas aeruginosa* - 9%, *Enterococcus spp.* - 3%, *Candida spp.* - 5% [1].

Ведущая роль в патогенезе катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей принадлежит собственной кишечной микрофлоре, тогда как среди фак-

торов риска развития наиболее значимым считается длительность катетеризации, при этом ежедневно колонизируется 5% пациентов находящихся в стационаре. В 15% случаев бактериурия может носить полимикробный характер. В случае кратковременной и интермиттирующей катетеризации проведение рутинной антибиотико-профилактики не требуется, в то время как при развитии клинически значимой инфекции пациентам должна быть назначена системная антибактериальная терапия, коррекция которой возможна только после бактериологического анализа мочи [5, 9].

Заключение. Применение технологии лазерного светорассеивания позволяет выявить минимальное количество микроорганизмов на катетере. Результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией лазерного светорассеивания и культуральным методом по D. Маки совпали в 91,8% случаев. Клиническое значение выделенных микроорганизмов из катетера необходимо оценивать в каждом конкретном случае с учетом его количества и вида выделенного микроорганизма. Кроме того для смыва бактериологических пленок с катетеров оптимально использование встряхивателя типа «Vortex». Использование технологии лазерного светорассеивания возможно применение для оценки колонизации/инфекции связанной с катетером, шунтом.

Финансирование. Исследование имело спонсорскую поддержку – фирма *Alifax*, Москва.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Благодарим врачей-бактериологов лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»: Блинову С.М., Кукушкину М.П., Панову С.А., Устюгову С.С., за оказанную помощь.

ЛИТЕРАТУРА (п. 7 см. REFERENCES)

1. Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за центральным венозным катетером (ЦВК): федеральные клинические рекомендации. Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Межрегиональная общественная организация «Общество врачей и медицинских сестер «Сепсис Форум». М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2017.
2. Бельский Д.В. Госпитальные инфекции в отделениях реанимации нейрохирургического профиля: распространённость, факторы риска и определение подходов к профилактике: Автореферат дисс. ...канд.мед.наук. Екатеринбург; 2012.
3. Квашнина Д.В., Ковалишена О.В., Белянина Н.А. Комплексная клиничко-этиологическая и эпидемиологическая характеристика катетер-ассоциированных инфекций кровотока. *Медицинский Альманах*. 2017; 49(4): 41-5.
4. Бережанский Б.В., Жевнерев А.А. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2006; 8(2): 130-44.

5. Васильев А.О., Говоров А.В., Ширяев А.А., Пушкарь Д.Ю. Роль уретрального катетера в развитии катетер-ассоциированной инфекции мочевыводящих путей. *Журнал урологии*. 2017; 6:107-11.
6. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов. Методические указания 4.2.1887 – 04. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2005.
8. Боронина Л.Г., Гончаров А.Е., Саматова Е.В. MLVA-типирование нозокомиальных изолятов эпидермального стафилококка. *Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017»*. М.: ООО фирма «Юлис»; 2017: 228-9.
9. Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008). Available: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17>. (Accessed 31 May 2019).

REFERENCES

1. Prevention of catheter-associated bloodstream infections and care of the central venous catheter (CVC): federal clinical guidelines. [Natsional'naja asociaciya specialistov po kontrolyu infektsiy, svyazannyh s okazaniem meditsinskoy pomoshchi. Mezhregional'naya obshchestvennaya organizatsiya «Obshchestvo vrachey i meditsinskih sester «Sepsis Forum»]. Moscow: Ministerstvo zdравоохранeniya Rossiyskoy Federatsii; 2017. (in Russian)
2. Bel'skiy D.V. Hospital infections in the neurosurgical resuscitation units: prevalence, risk factors and determination of approaches to prevention. Diss.... Ekaterinburg; 2012. (in Russian)
3. Kvashnina D.V., Kovalishena O.V., Beljanina N.A. Comprehensive clinical, etiological and epidemiological characteristics of catheter-associated bloodstream infections. *Meditsinskiy Al'manakh*. 2017; 49(4): 41-5. (in Russian)
4. Berezhanskiy B.V., Zhevnerov A.A. Catheter-associated bloodstream infections. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2006; 8(2): 130-44. (in Russian)
5. Vasil'ev A.O., Govorov A.V., Shirjaev A.A., Pushkar' D.Ju. The role of a urethral catheter in the development of a catheter-associated urinary tract infection. *Zhurnal urologiya*. 2017; 6:107-11. (in Russian)
6. Laboratory diagnosis of meningococcal infection and purulent bacterial meningitis. Methodical instructions 4.2.1887 – 04. Moscow: Federal'nyj tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2005. (in Russian)
7. Essential procedures for clinical microbiology. Isenberg H.D., ed. Washington, D.C.: ASM PRESS; 1998.
8. Boronina L.G., Goncharov A.E., Samatova E.V. MLVA-typing of nosocomial isolates of epidermal staphylococcus. *Materialy IX Vserossiyskoynauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Molekulyarnaya diagnostika 2017»*. Moscow: ООО firma «Julis»; 2017: 228-9. (in Russian)
9. Recommendations for the management of patients with infections of the kidneys, urinary tract and male genital organs (European Association of Urology, 2008). Available: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17>. (Accessed 31 May 2019). (in Russian)

Поступила 17.06.19

Принята к печати 25.07.19

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Червинец В. М., Червинец Ю. В., Кравчук Э. С., Ганина Е. Б.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА И ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ЮНОШЕЙ ПРИ ПЕРЕМЕНЕ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 170100, Тверь, Россия

*Цель работы – определить видовой, количественный состав, частоту встречаемости микроорганизмов в ротовой жидкости и толстом кишечнике у здоровых юношей при изменении условий жизни. Проведено анкетирование 14 иногородних юношей-студентов 1-го и 2-го курсов, обучающихся в Тверском государственном медицинском университете, которое включало вопросы о месте рождения, условиях проживания, наличии хронических заболеваний и частоте их обострений за последний год, водном и пищевом режимах, физических нагрузках, наличии вредных привычек и эмоционального напряжения и др. Для определения спектра и количества микробиоты верхнего и нижнего отделов желудочно-кишечного тракта исследованы ротовая жидкость и фекалии. В результате анкетирования установлено, что условия жизни всех обследованных юношей значительно ухудшились у второкурсников, чем первокурсников. Выявлено, что микробиота толстого кишечника у второкурсников характеризуется меньшим разнообразием, чем у первокурсников, несмотря на заметное возрастание количества выделенных представителей условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Klebsiella spp.*) над резидентными. В микробиоте ротовой полости студентов 2-го курса наблюдалось снижение количества и частоты встречаемости всех представителей микрофлоры в сравнении с первокурсниками. Ухудшение условий жизни иногородних студентов вело к возрастанию числа лиц среди второкурсников с дисбиотическими изменениями микробиоты кишечника с 86% до 100%, преимущественно за счёт возрастания количества лиц со II и III степенью дисбактериоза.*

Ключевые слова: микробиота; желудочно-кишечный тракт; юноши; условия жизни.

Для цитирования: Червинец В. М., Червинец Ю. В., Кравчук Э. С., Ганина Е. Б. Динамика изменчивости микробиоты полости рта и толстого кишечника юношей при перемене условий жизни. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(8): 507-512. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-507-512>

Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Kravchuk E.S., Ganina E.B.

DYNAMICS OF VARIABILITY OF MICROBIOTES OF THE CAVITY OF THE MOUTH AND THE GREAT INTESTINE OF YOUNG MEN WHEN CHANGING THE CONDITIONS OF LIFE

Tver State Medical University, Tver, 170100

*The purpose of the work is to determine the spectrum, quantity and frequency of occurrence of microorganisms in the oral fluid and large intestine in healthy young men under changes of living conditions. A survey was conducted of 14 nonresident young men, students of the 1st and 2nd courses, studying at Tver State Medical University, which included questions about the place of birth, living conditions, the presence of chronic diseases and the frequency of their exacerbations over the past year, water and food regimes, physical exertion, the presence of bad habits and emotional stress, etc. The oral fluid and feces were examined to determine the spectrum and amount of microbiota of the upper and lower parts of the gastrointestinal tract. As the result of the survey, it was found that the living conditions of all young men significantly worsened among second-year students than freshmen. It was revealed that colon microbiota in sophomores characterized by less diverse than those of first-year, despite of a marked increase in the number of opportunistic pathogens (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Klebsiella spp.*) over resident microbes. It was found the decrease in the number and frequency of occurrence of all microbial representatives in the oral microbiota of 2nd year students in comparison with first-year. It was proved that the deterioration of living conditions of nonresident students led to the increase in the number of second-year students with dysbiotic changes in the intestinal microbiota from 86% to 100%, mainly due to the increase in the number of persons with dysbiosis of II and III degree.*

Key words: microbiota; gastrointestinal tract; students; living conditions.

For citation: Chervinets V. M., Chervinets Yu. V., Kravchuk E. S., Ganina E. B. Dynamics of variability of microbiotes of the cavity of the mouth and the great intestine of young men when changing the conditions of life. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (8): 507-512. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-507-512>

For correspondence: Kravchuk Elina Sergeevna, post-graduate student, Assistant of the Department of Microbiology and Virology with a course of immunology; e-mail: ellada_92@mail.ru

Information about authors:

Chervinets V. M., <http://tvergm.ru/paps/sotrud8452/>

Chervinets Yu. V., <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>

Kravchuk E. S., <https://orcid.org/0000-0002-7236-3391>

Ganina E.B., <https://orcid.org/0000-0002-8686-8526>

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 23.04.2019
Accepted 30.04.2019

Для корреспонденции: Кравчук Элина Сергеевна, аспирант, ассистент каф. микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии; e-mail: ellada_92@mail.ru

Введение. Микробиота пищеварительного тракта, наиболее многочисленный биотоп организма человека по спектру и количеству микроорганизмов, в настоящее время рассматривается как дискретный орган, являющийся функциональным блоком единой системы организма человека [1-4]. Сформированный микробиоценоз кишечника здорового человека отличается высокой стабильностью в течение жизни и сложным составом. Микрофлора здорового человека является своеобразным индикатором состояния организма. Она обеспечивает поддержание динамического равновесия между организмом, ассоциацией микроорганизмов, колонизирующих его ЖКТ (желудочно-кишечный тракт) и окружающей средой [5]. Микробное сообщество различных биотопов пищеварительного тракта быстро реагирует количественными и видовыми изменениями на воздействие внешних и внутренних факторов даже при отсутствии клинических симптомов и жалоб [5-9]. Это климатогеографические и эколого-гигиенические условия обитания человека, особенности питания, учебная нагрузка, малоподвижный образ жизни, возраст, иммунный и гормональный статус, психоэмоциональное напряжение и другие [10-13].

Одна из категорий здоровых людей, организм которых подвергается воздействию почти всех перечисленных факторов являются иногородние студенты. В течение первого года обучения в вузе у них происходит адаптация организма к изменившемуся образу жизни и микрофлоры пищеварительного тракта, в частности.

Количественный состав и биологические свойства нормофлоры определяют состояние здоровья человека и доказывается её изменением при различных заболеваниях [14,15]. Так как нарушения в микробиоценозе кишечника наступают задолго до клинических проявлений, оценка нормальной микрофлоры человека позволяет дать характеристику состояния его здоровья и выявить лиц с повышенным риском заболеваний.

Цель исследования – определить видовой, количественный состав, частоту встречаемости микроорганизмов в ротовой жидкости и толстом кишечнике у здоровых юношей при изменении условий жизни.

Материал и методы. Для определения спектра, частоты встречаемости, количества микроорганизмов с интервалом 1 год исследовались ротовая жидкость (слюна) и фекалии у 14 студентов (18-20 лет) мужского пола Тверского государственного медицинского университета (ТГМУ). Первичный анализ биоматериала этих студентов проводился при их обучении в начале 1 курса. Повторный анализ – через 12 мес. – в начале 2 курса. Все обследованные являлись иногородними студентами, приехали на обучение в г. Тверь из других областей Центрального региона РФ. Они были клинически здоровы, не имели в анамнезе инфекционных и соматических заболеваний ЖКТ и других органов, дали информированное письменное согласие на сбор материала. Забор слюны и фекалий проводился утром до еды в стерильные одноразовые пластиковые контейнеры лично студентами, предварительно обученными методикам забора материала. Материал доставляли в бактериологическую лабораторию кафедры микробиологии ТГМУ в течение 2 ч.

Для определения изменений условий жизни проведено анкетирование этих студентов в начале 1-го и 2-го курсов обучения, которое включало вопросы о месте проживания, месте и условиях проживания, наличии хро-

нических заболеваний и частоте их обострений за последний год, наличии заболеваний дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта, водном и пищевом режимах, характере физической активности, наличии вредных привычек и эмоционального напряжения и др.

Для изучения микробиоценоза пищеварительного тракта использован бактериологический метод. Посевы проводили на следующие питательные среды: Columbia Agar с кровью – для накопления, хромогенный селективный агар для уropатогенных кишечных бактерий, HiCrome Bacillus Agar для обнаружения и идентификации бацилл, HiCrome Enterococcus faecium Agar – для энтерококков, маннит-солевой агар (M118) с добавлением эмульсии куриного желтка – для стафилококков, МРС-лактоагар, бифидоагар, Shaedler Agar с кровью, хромогенный агар для грибов рода *Candida* (HiMedia). Культивирование проводилось при температуре 37° С в течение 24-48 ч в аэробных, микроаэрофильных, анаэробных условиях с использованием микроаэростатов (BBL) и газогенераторных пакетов. Количественное содержание бактерий выражали в виде десятичного логарифма колониеобразующих единиц – lg КОЕ/г или lg КОЕ/мл. Анализ микробного пейзажа кишечника проводили в соответствии с ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».

Для статистической обработки результатов использовалась прикладная программа STATISTICA (StatSoft Russia), различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты. Процесс адаптации иногородних студентов к изменяющимся условиям жизнедеятельности при обучении в университете складывается из влияния перечисленных ранее различных факторов. Адаптационный период затрагивает функциональную перестройку всех органов и систем в разной степени выраженности, в том числе ЖКТ.

Второкурсники чаще предъявляли жалобы со стороны ЖКТ – 43% студентов, на первом курсе – лишь 21%. Жалобы со стороны дыхательной системы были постоянными в течение года у 21% студентов. У 29% опрошенных студентов 2-го курса обнаружены различные аллергические реакции, у 36% хронические заболевания внутренних органов. Наличие вредных привычек выявлено у 50% второкурсников (на 1-м у 21%). Более половины опрошенных (64%) подвержены постоянному влиянию эмоционального напряжения. Все обследуемые указали на двухразовое смешанное питание. Характер принимаемой пищи за год обучения резко изменился в сторону учащения использования полуфабрикатов и приёма пищи в точках быстрого питания (у 79% второкурсников). В течение года обучения у 64% юношей выявлена потеря массы тела в среднем на 4,3 кг, у 36% человек масса тела увеличилась на 4,8 кг.

Культуральные исследования показали, что микробиота проксимального и дистального отделов пищеварительного тракта студентов в разный период имеет свои особенности.

При первичном исследовании фекалий у 14 студентов мужского пола выделены микроорганизмы 18 родов (рис. 1). Преобладали следующие бактерии: *Bifidobacterium spp.* (86%), *Enterococcus spp.* (79%), *Escherichia coli* (71%), *Bacillus spp.* (71%), *Lactobacillus spp.* (64%), *Peptostreptococcus spp.* (43%), *Proteus vulgaris* (43%), *Klebsiella pneumoniae* (43%). В меньшем числе случаев изолировались *Staphylococcus spp.* и *Clostridium spp.* (36% каждый), *Micrococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Bacteroides spp.* (14% каждый). Распространённость других микро-

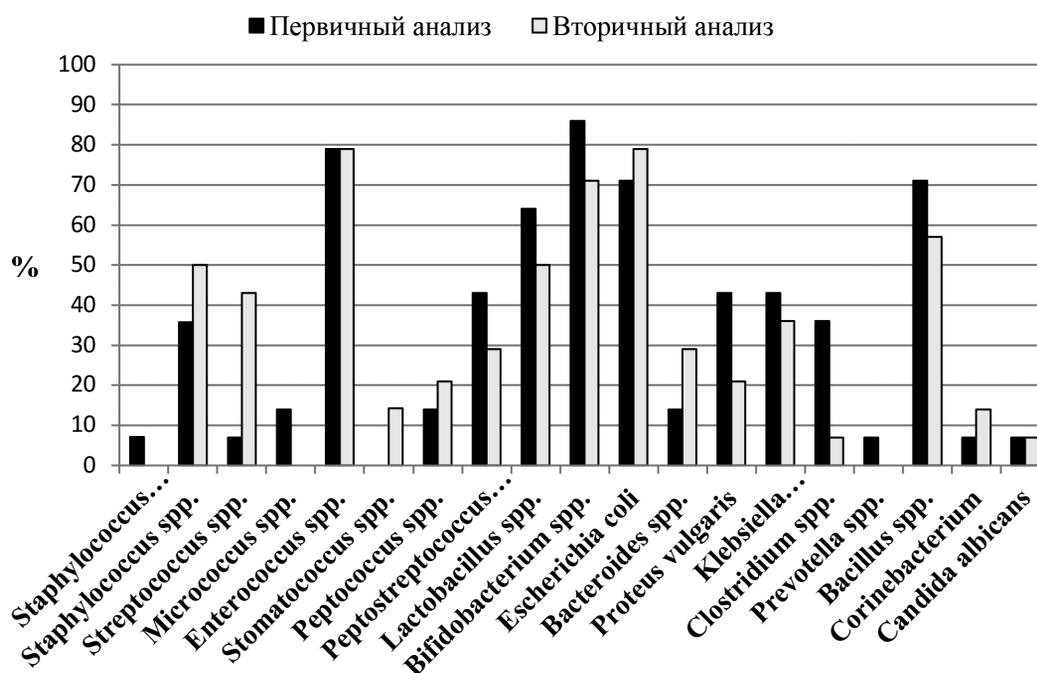


Рис. 1. Частота встречаемости микроорганизмов в фекалиях студентов ($n=14$) 1-го и 2-го года обучения; $p \leq 0,05$. По оси абсцисс – наименования микроорганизмов; по оси ординат – распространенность микроорганизмов (%).

организмов составила менее 7%. Количество выделенной микробиоты варьировало от $8,47 \pm 0,72$ lg КОЕ/г у *Prevotella spp.* до $4,56 \pm 0,84$ lg КОЕ/г у *Staphylococcus spp.*, средняя величина составила $5,7 \pm 0,97$ lg КОЕ/г. *S. aureus* выделялся в количестве $5,47 \pm 0,31$ lg КОЕ/г.

Нормальный микробиоценоз выявлен у 14% студентов, у 50% – дисбактериоз I степени, у 36% – II степени.

При повторном (через 12 мес.) бактериологическом исследовании в фекалиях этих же студентов выявлены микроорганизмы 16 родов (рис. 1). Преобладали: *Enterococcus spp.* и *E. coli.* (по 79%), *Bifidobacterium spp.* (71%), *Bacillus spp.* (57%), *Staphylococcus spp.* и *Lactobacillus spp.* (по 50%), *Streptococcus spp.* (43%). С меньшей частотой встречаемости изолировались *Klebsiella pneumoniae* (36%), *Peptostreptococcus spp.* и *Bacteroides spp.* (по 29%), *Peptococcus spp.* и *Proteus vulgaris* (по 21%), *Corinibacterium* и *Stomatococcus spp.* по (14%). У остальных микроорганизмов распространённость составила 7% – *Clostridium spp.* и *Candida albicans*.

При вторичном исследовании микробиоты количество бактерий изменялось от $7,47 \pm 0,13$ lg КОЕ/г у *Clostridium spp.* до $4,15 \pm 0,15$ lg КОЕ/г – у *Stomatococcus spp.*, средняя величина составила $5,8 \pm 0,82$ lg КОЕ/г.

У всех обследованных юношей выявлены дисбиотические нарушения: у 21% – дисбактериоз I степени, у 57% – II степени, у 22% – III степени.

При первичном посеве утренней слюны этих студентов выделены микроорганизмы 13 родов (рис. 2).

С большей частотой высевались: *Streptococcus spp.* и *Peptostreptococcus spp.* (по 86%), *Lactobacillus spp.* (57%), *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus spp.* (по 43% каждый). В меньшем проценте случаев изолированы *Bifidobacterium spp.* (29%), *Veillonella spp.* (21%), *Bacteroides spp.*, *Candida albicans* (14%). Другие микроорганизмы выделялись в менее 7% случаев.

Количество микробиоты варьировало от $8,53 \pm 1,35$ lg КОЕ/мл у *Peptostreptococcus spp.* до $5,47 \pm 1,64$ lg КОЕ/мл у *Staphylococcus spp.*, средняя величина составила $6,76 \pm 1,2$ lg КОЕ/мл. Количество *S. aureus* составило $6,66 \pm 1,55$ lg КОЕ/мл.

При повторном исследовании микробиоценоза полости рта у студентов 2-го курса выявлены бактерии 14 родов (рис. 2).

Из слюны наиболее часто высевались: *Peptostreptococcus spp.* (57%), *Staphylococcus spp.* и *Bifidobacterium spp.* (по 50%), *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* и *Bacillus spp.* (по 43%). Распространённость *Micrococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Candida albicans* оказалась незначительной 7%. В слюне отсутствовали *Veillonella spp.*, но стали высеваться *Klebsiella pneumoniae* и *Clostridium spp.* (по 7%). Частота встречаемости *S. aureus* составила 21% при их количестве $5,02 \pm 0,48$ lg КОЕ/мл.

Количество микроорганизмов изменялось от $8,47 \pm 0,21$ lg КОЕ/мл у *Enterococcus spp.*, до $4,41 \pm 0,99$ lg КОЕ/мл у *Staphylococcus spp.*, средняя величина составила $5,95 \pm 1,11$ lg КОЕ/мл.

Обсуждение. При сравнительном анализе результатов исследований фекалий, установлено, что микробиота толстого кишечника здоровых юношей за год изменилась: исчезли *S. aureus*, *Micrococcus spp.*, *Prevotella spp.*, стали высеваться микроорганизмы рода *Stomatococcus*. Значительно увеличилась частота встречаемости *Streptococcus spp.* – на 35%, *Staphylococcus spp.* и *Bacteroides spp.* на 14%. Снизилась распространённость *Clostridium spp.* – на 28%, *Proteus vulgaris* – на 21%, *Peptostreptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacillus spp.* на 14%. Частота встречаемости *Enterococcus spp.* (79%) и *Candida albicans* (7%) осталась прежней.

Условно-патогенные микроорганизмы (УПМ):

Staphylococcus spp., *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *K. pneumoniae* выделялись в достоверно большем количестве у второкурсников. Представители резидентной микробиоты *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli* определялись в достоверно меньшем количестве при вторичном анализе фекалий. Обобщая имеющиеся в литературе данные и результаты нашего исследования, отмечаем, что увеличение частоты встречаемости и количества УПМ в микробиоте толстого кишечника юношей на втором году обучения объясняется негативным влиянием на организм студентов изменений климатических и экологических условия обитания, характера питания, учебной и эмоциональной нагрузками, сидячим образом жизни и другими факторами.

При исследовании микробиоценоза ротовой полости существенного различия в спектре микробиоты у студентов 1 и 2 курсов не выявлено. Частота встречаемости и количество выделенных микроорганизмов имели ряд особенностей. При повторном исследовании слюны наблюдалось увеличение частоты встречаемости: *Bacillus spp.* на 35%, *Bifidobacterium spp.* на 21%, снижение распространённости *Streptococcus spp.* на 43%, *Peptostreptococcus spp.* на 28%, *S. aureus* на 21%, *Lactobacillus spp.* на 14%. Преподосталась распространённость бактерий 4 родов: *Micrococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Peptococcus spp.* (по 7%) и *Bacteroides spp.* (14%).

Количественные параметры всего спектра выделенных микроорганизмов в ротовой жидкости у второкурсников имели тенденцию к снижению. УПМ полости рта (*Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium spp.*) выявлялись в достоверно большем количестве (на 40-100%), резидентная микробиота (*Streptococcus spp.*,

Bifidobacterium spp., *Lactobacillus spp.*) в меньшем (на 23-52%). Преобладание этих бактерий в микробиоценозе ротовой полости способствует учащению развития гнойно-воспалительных процессов и кариеса.

Состояние микробиоты пищеварительного тракта людей является системным фактором оценки здоровья человека, поэтому и подвергается разностороннему изучению. Проведенные исследования дополняют имеющиеся данные по микробиоценозу кишечника молодых здоровых людей.

По данным возрастной оценки кишечного микробиоценоза у жителей Западной Сибири (2003 г.), видовой состав фекальных образцов обильно представлен *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli* (выделенными у юношей 18-20 лет). *Staphylococcus spp.*, *S. aureus*, *Clostridium spp.*, *C. albicans*, *Streptococcus spp.* высевались в меньшем количестве по сравнению с нашими студентами [16].

По опубликованным результатам исследований Беляевой Е. А. и др. (2013 г.) из толстого кишечника реже высевались представители микробиоты: *Bifidobacterium spp.* (55%), *Bacillus spp.* (35%), *Peptostreptococcus spp.* (26%), *Clostridium spp.* (5%), *Staphylococcus spp.* (5%) при неизменном снижении количественного состава бактерий всего обнаруженного спектра по сравнению с полученными нами данными [17].

По данным микрoэкологического исследования Самоукиной А. М. и др. (2015 г.) спектр представителей кишечного микробиома, выделенный для сравнительного анализа, более узок (*E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *S. aureus*, *C. albicans*, *Bacillus spp.*). Сопоставляя результаты, можно констатировать,

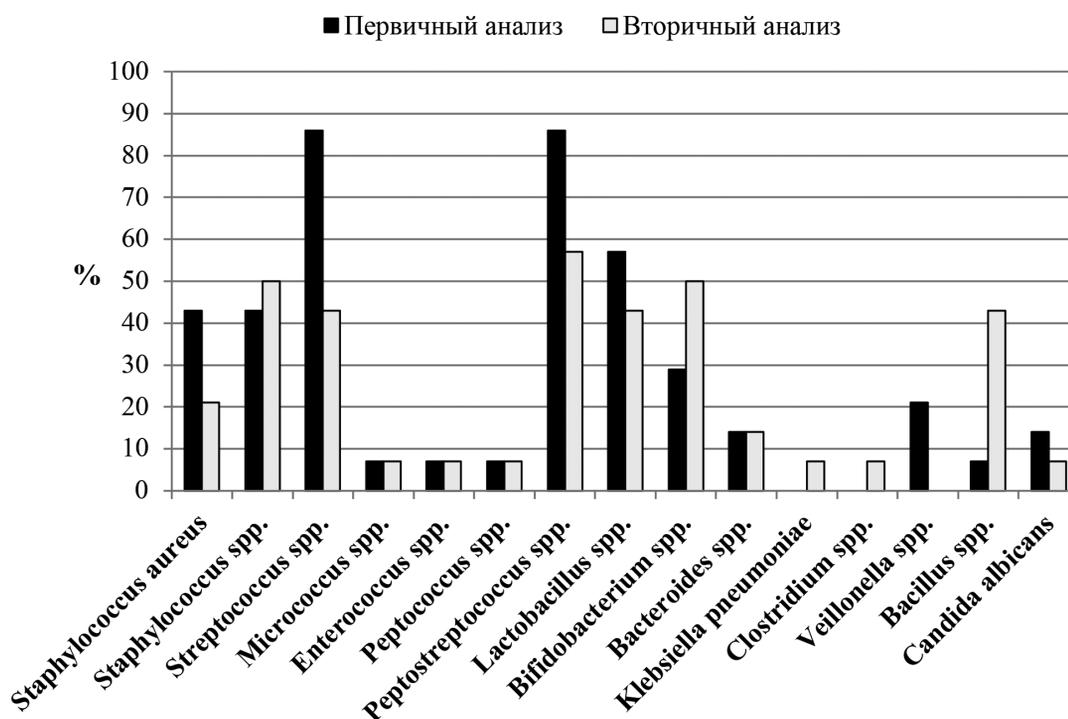


Рис.2 Частота встречаемости микроорганизмов в слюне студентов ($n=14$) 1-го и 2-го года обучения; $p \leq 0,05$.

По оси абсцисс – наименования микроорганизмов; по оси ординат – распространенность микроорганизмов (%). n – количество обследуемых юношей, p – требуемый уровень значимости.

что частота встречаемости *E. coli*, *Lactobacillus spp.*, *S. aureus*, *C. albicans*, *Bacillus spp.* преобладала над распространённостью этих же бактерий в микробиоте толстого кишечника и ротовой полости по результатам наших исследований, у *Enterococcus spp.* и *Bifidobacterium spp.* – снижена. Количественный состав этих микроорганизмов достоверно выше, чем в нашей работе [5; 18].

Заключение. Микробиота полости рта и толстого кишечника здоровых людей имеет ряд общих взаимосвязанных характеристик, определяющих видовой и количественный состав микрофлоры всего пищеварительного тракта и здоровья человека.

Анализ качественных и количественных параметров микробиоценоза в изучаемых биотопах у здоровых юношей при изменении условий жизни в течение года позволил выделить особенности сочетания доминирующей облигатной и факультативной микрофлоры и степень выраженности микроэкологических изменений. При анализе микробиоты толстого кишечника, несмотря на незначительное сокращение видового разнообразия микроорганизмов, различные колебания их частоты встречаемости, выявлено заметное возрастание количества УПМ в сравнении с облигатной. В микробиоценозе ротовой полости наблюдалось снижение количественных параметров всех микроорганизмов, причём видовой состав в течение года изменился незначительно при суммарном снижении распространённости бактерий. С изменением условий жизни студентов происходит достоверное возрастание числа лиц с дисбиотическими нарушениями микрофлоры кишечника с 86% до 100%, преимущественно за счёт возрастания количества лиц со II и III степенью дисбактериоза.

Изменения видовых и количественных параметров нормобиоценоза, выделение «сигнальных» бактерий, могут рассматриваться как показатели индивидуального процесса адаптации юношей при изменении условий жизни и использоваться для диагностической оценки снижения уровня здоровья, риска развития различных заболеваний.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4,9,13,15 см. REFERENCES)

1. Чернин В. В., Бондаренко В. М., Червинец В. М., Базлов С. Н. Дисбактериоз мукозной микрофлоры эзофагогастроуденальной зоны, его диагностика и лечение. Москва: МИА; 2011.
2. Бондаренко В. М., Парфёнов А. И. Что нам дал вековой опыт познания симбиотной кишечной микрофлоры? *Архив патологии*. 2012; 84 (2): 5-10.
3. Шендеров Б. А. Микробная экология человека и ее роль в поддержании здоровья. *Метаморфозы*. 2014; 5: 72-80.
4. Самоукина А. М., Михайлова Е. С., Чернин В. В., Алексеева Ю. А. Микробиота пищеварительного тракта как системный фактор оценки здоровья человека и проведения превентивной коррекции. *Лечение и профилактика*. 2015; 3(15): 23-8.
5. Чернин В. В., Парфёнов А. И., Бондаренко В. М., Рыбальченко О. В., Червинец В. М. Симбиотное пищеварение человека. Физиология. Клиника, диагностика и лечение его нарушений. Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2013.
6. Гаврилова О. А., Червинец Ю. В., Бондаренко В. М., Червинец В. М., Самоукина А. М., Лебедев Д. В. Микробный пейзаж полости рта у здоровых подростков и больных хроническим га-

2. стродуоденитом. *Журнал микробиологии*. 2008; 6: 59-63.
7. Червинец В. М., Червинец Ю. В., Михайлова Е. С., Самоукина А. М., Беляева Е. А., Миронов А. Ю. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у детей младшего школьного возраста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 2: 49-51.
8. Червинец Ю. В., Червинец В. М., Миронов А. Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Тверь: Тверской госмедуниверситет Минздрава РФ; 2016.
9. Воробьев А. А., Несвижский Ю. В. Действие внешних факторов на организм человека. Стратегия жизни в условиях планетарного экологического кризиса. Красногорская Н.В., ред. Санкт-Петербург: «Гуманистика»; 2002; 2: 16-28.
10. Коршунов В. М., Поташник Л. В., Ефимов Б. А. Качественный состав нормальной микрофлоры кишечника у лиц различных возрастных групп. *Журнал микробиологии, иммунологии, вирусологии*. 2001; 2: 57-61.
11. Воробьев А. А., Иноземцева Л. О., Буданова Е. В. Изменения микробиоценоза толстой кишки у больных различными заболеваниями. *Вестник РАМН*. 2001; 5: 59-64.
12. Леванова Л. А. Микробиоценоз кишечника у жителей Западной Сибири и возрастные показатели нормы основных представителей нормальной микрофлоры. *Медицина в Кузбассе*. 2003; 3: 30-3.
13. Беляева Е. А., Червинец В. М., Червинец Ю. В., Самоукина А. М., Михайлова Е. С., Пятова А. И., Миронов А. Ю. Дисбиотические изменения микрофлоры кишечника у здоровых людей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 3: 45-7.
14. Самоукина А. М., Михайлова Е. С., Червинец В. М., Миронов А. Ю., Алексеева Ю. А. Микроэкология пищеварительного тракта как показатель состояния здоровья человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60(6): 57-60.

REFERENCES

1. Chernin V. V., Bondarenko V. M., Chervinets V. M., Bazlov S. N. Dysbacteriosis of mucosal microflora of the esophagogastrroduodenal zone, its diagnosis and treatment [Disbakterioz mukoznoj mikroflory ehzofagogastroduodenal'noj zony, ego diagnostika i lechenie]. Moscow: MIA; 2011. (in Russian)
2. Bondarenko V. M., Parfenov A. I. What gave us a century of experience in the knowledge of symbiotic intestinal microflora? *Arkhiv patologii*. 2012; 84 (2): 5-10. (in Russian)
3. Shenderov B. A. Human microbial ecology and its role in maintaining health. 2014; 5: 72-80. (in Russian)
4. Ho J.T., Chan G.C., Li J.C. Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol.* March, 2015; 16: 1: 21.
5. Samoukina A. M., Mikhajlova E. S., Chernin V. V., Alekseeva Yu. A. The microbiota of the digestive tract as a system factor in assessing human health and conducting preventive correction. *Lechenie i profilaktika*. 2015; 3(15): 23-8. (in Russian)
6. Chernin V. V., Parfenov A. I., Bondarenko V. M., Rybal'chenko O. V., Chervinets V. M. Human symbiotic digestion. Physiology. Clinic, diagnosis and treatment of its disorders [Simbiotnoe pishchevarenie cheloveka. Fiziologiya. Klinika, diagnostika i lechenie ego narusheniy]. Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2013. (in Russian)
7. Gavrilova O. A., Chervinets Yu. V., Bondarenko V. M., Chervinets V. M., Samoukina A. M., Lebedev D. V. Microbial landscape of the oral cavity in healthy adolescents and patients with chronic gastroduodenitis. *Zhurnal mikhrobiologii*. 2008; 6: 59-63. (in Russian)
8. Chervinets V. M., Chervinets Yu. V., Mikhajlova E. S., Samoukina A. M., Belyaeva E. A., Mironov A. Yu. Intestinal microbiocenosis and immune status in children of primary school age. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 2: 49-51. (in Russian)
9. Buccigrossi V., Nicastrò E., Guarino A. Functions of intestinal microflora in children. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013; 29: 1: 31-8.

10. Chervinets Yu. V., Chervinets V. M., Mironov A. Yu. Symbiotic relationships of lactobacilli and gastrointestinal microorganisms. [Simbioticheskie vzaimootnosheniya laktobatsill i mikroorganizmov zheludochno-kishechnogo trakta]. Tver': Tverskoy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet; 2016. (in Russian)
11. Vorob'ev A. A., Nesvizhskij Yu. V. The effect of external factors on the human body. Life strategy in a global environmental crisis [Dejstvie vneshnikh faktorov na organizm cheloveka. Strategiya zhizni v usloviyakh planetarnogo ehkologicheskogo krizisa]. Krasnogorskaya N.V., ed. St.Petersburg: «Gumanistika»; 2002; 2: 16-28. (in Russian)
12. Korshunov V.M., Potashnik L.V., Efimov B.A. Qualitative composition of the normal intestinal microflora in individuals of different age groups. *Zhurnal mikrobiologii, immunologii, virusologii*. 2001; 2: 57-61. (in Russian)
13. Coffin, B. Colonic microflora and motility. Physiological data and during irritable bowel syndrome. *Gastroenterol. Clin. Biol*. 2001; 25: 2: 85-8.
14. Vorob'ev A. A., Inozemtseva L. O., Budanova E. V. Changes in the microbiocenosis of the colon in patients with various diseases. *Vestnik RAMN*. 2001; 5: 59-64. (in Russian)
15. Bjorksten B., Sepp E., Julg K. Allegri development and intestinal microflora during the first year of life. *J. AllegrClin. Immunol*. 2000; 1: 4: 516-20.
16. Levanova L. A. Intestinal microbiocenosis among residents of Western Siberia and age indicators of the main representatives of normal microflora. *Meditsina v Kuzbasse*. 2003; 3: 30-3. (in Russian)
17. Belyaeva E. A., Chervinets V. M., Chervinets Yu. V., Samoukina A. M., Mikhajlova E. S., Pyatova A. I., Mironov A. Yu. Dysbiotic changes in the intestinal microflora in healthy people. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 3: 45-7. (in Russian)
18. Samoukina A. M., Mikhaylova E. S., Chervinets V. M., Mironov A. Yu., Alekseeva Yu. A. Microecology of the digestive tract as an indicator of the state of human health. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 60(6): 57-60. (in Russian)

Поступила 23.04.19

Принята к печати 30.04.19

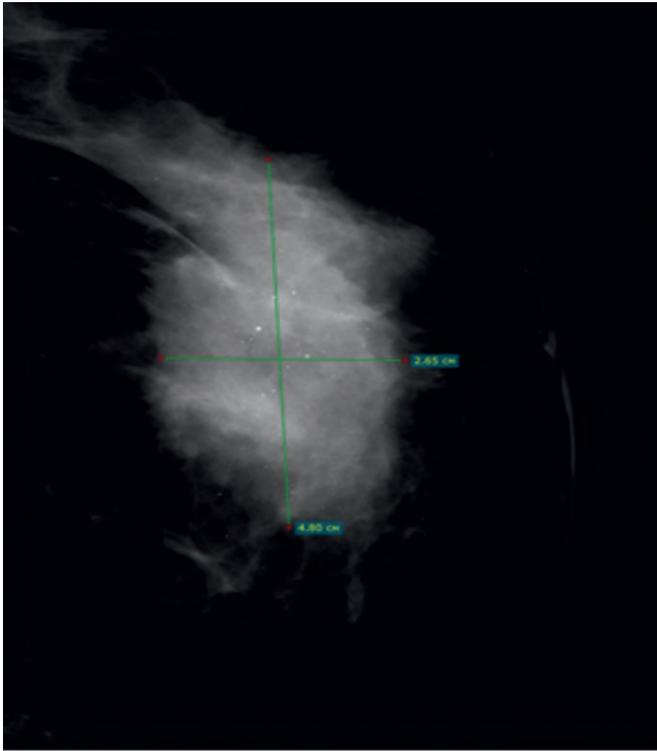


Рис. 1. Маммография левой молочной железы. Образование располагается преимущественно на границе верхних квадрантов. Прямая проекция.

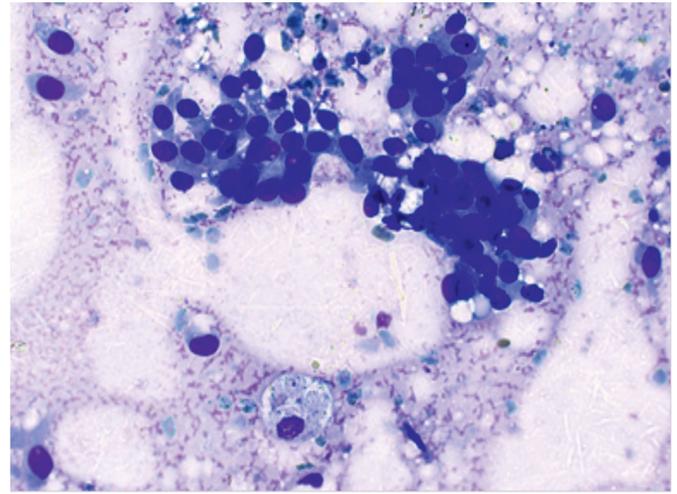


Рис. 2. Цитологический препарат. Окраска азур-эозином. Увеличение x400.

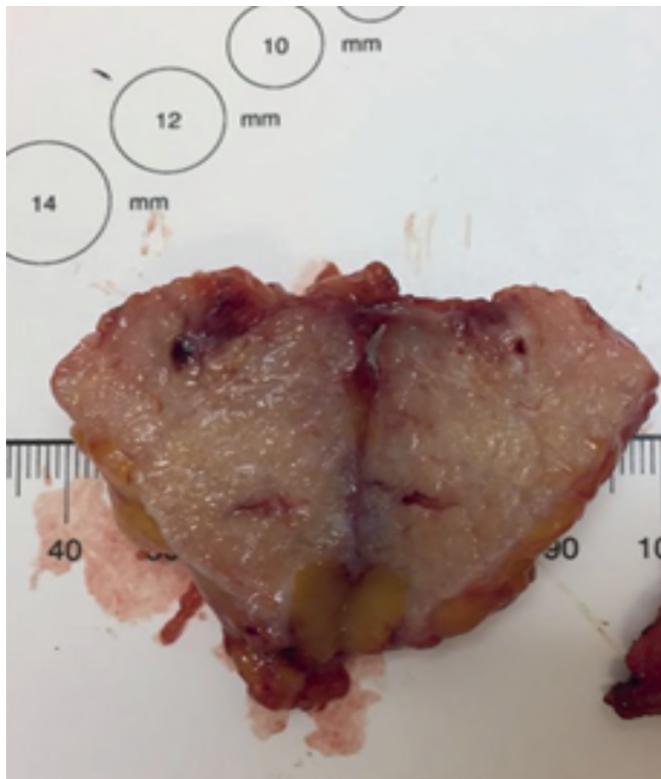


Рис. 3. Вид удаленного препарата на разрезе.

К ст. Сарибекян Е.К. и соавт.

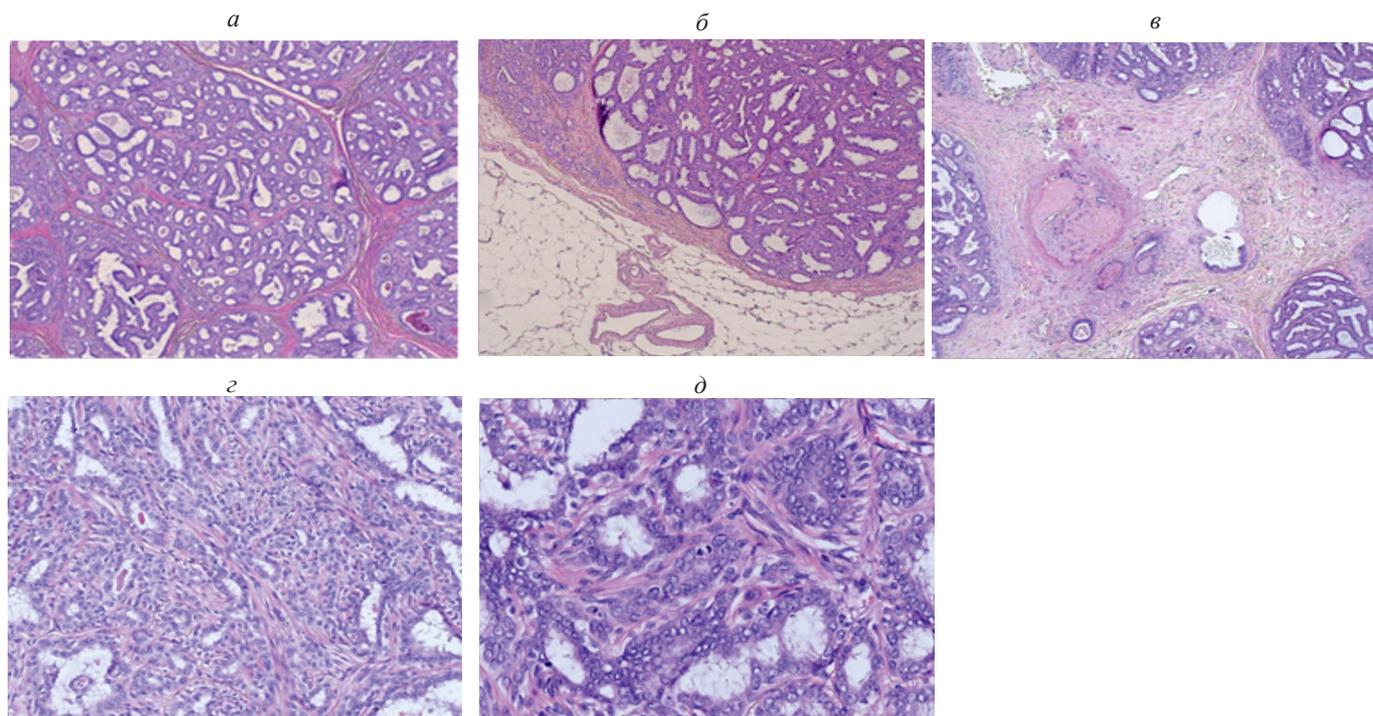


Рис. 4. Гистологическая структура ССПГ: сливающиеся протоки, создающие узловой вид образования (а), экспансивные края (б), в центре поражения преобладает строма с фиброзом и эластозом (в). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$. В структуре образования можно выявить участки аденозного строения (г). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$. В миоэпителии и эпителии определяются рассеянные фигуры митоза (д). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

К ст. Эседова Э.М. и соавт.

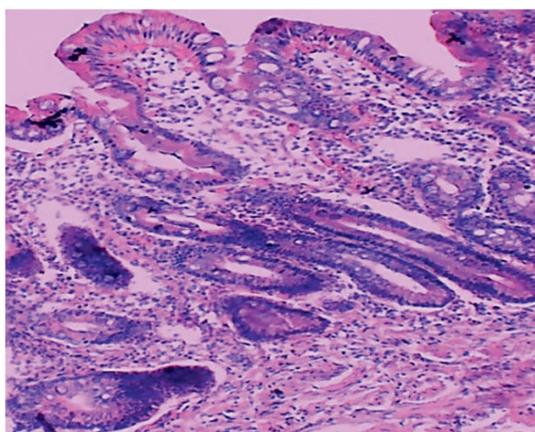


Рис. 1. Хронический продуктивный поверхностный антрумгастрит с диффузной лимфоцитарной инфильтрацией собственной пластинки с примесью гранулоцитов, а также ангиогенезом с гиперемией и отеком. Покровно-ямочный эпителий с повышенной секрецией мукоида. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 20×10 .

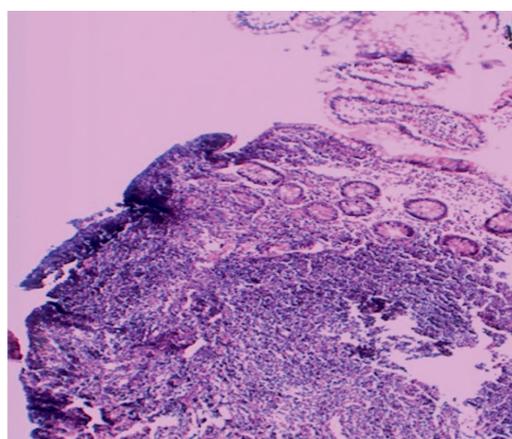


Рис. 2. Хронический продуктивный язвенный дуоденит с зоной некробиоза, массивной лимфоцитарно-нейтрофильной инфильтрацией, формированием фолликулоподобных солидных комплексов без светлых центров. Воспалительный инфильтрат распространяется на подслизистую основу. В краевых участках определяются атрофичные ворсинки и дезорганизованные крипты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 20×10 .