

числе санитарно-микробиологические исследования, выполняли с учетом данных об этиологической значимости возбудителей ГВП в подразделениях института.

Использовали наиболее эффективные методики микробиологической диагностики. При этом решали задачи не только быстрого назначения больным оптимальной антимикробной терапии, но и оценки эпидемиологической ситуации.

Для повышения достоверности результатов анализов, обнаружения госпитальных штаммов микроорганизмов в больничной среде в настоящее время широко используется геномная диагностика (ПЦР) и другие молекулярные методы в комплексе с классической культуральной микробиологической диагностикой.

Стремительное развитие информационных технологий

дает возможность разработки компьютерных программ, позволяющих объединить усилия сотрудников лабораторий и клиницистов, в частности для выявления взаимосвязи распространенности возбудителей ГВП, их биологических свойств, использования антибиотиков и дезинфицирующих препаратов и выявления корреляционных связей этих данных со статистическими показателями работы стационара, характеризующими качество лечения больных. Для разработки алгоритма управления лечебным процессом в стационаре необходимо выявление наиболее достоверных критериев для создания компьютерной программы оценки эффективности проведения противоэпидемических и других организационных мероприятий в режиме on-line с быстрой оценкой результативности проведенной работы с позиций системы «мероприятие-эффект».

СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НА СЛУЖБЕ КЛИНИКИ

Катя Ватерстрадт, Керстин Шнурр. Анализ функциональных характеристик сывороточного альбумина. MedInnovation GmbH, Грос-Берлинер Дамм 151, 12487 Берлин / Германия

Анализ функциональности альбумина крови является простым в применении тестом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) для определения функциональных свойств сывороточного альбумина как транспортного белка. Патологические изменения в организме могут влиять на функциональные свойства сывороточного альбумина человека (САЧ). Независимые модули ЭПР-теста позволяют проводить диагностику различных заболеваний, таких как онкология, заболевания печени и почек, сепсис. Анализ функциональности альбумина основывается на определении специфических конформационных изменений молекулы альбумина. Такие измерения детектируются посредством способности САЧ связывать жирные кислоты. САЧ транспортирует гидрофобные вещества, такие как жирные кислоты, витамины и микроэлементы, а также метаболиты и лекарственные препараты. Метод ЭПР дает возможность измерять соответствующие специфические аллостерические изменения САЧ посредством связывания спин меченных жирных кислот с исследуемым объектом. Таким образом, оценка биофизических параметров связывания жирных кислот по ЭПР-спектрам позволяет зафиксировать конформационное состояние исследуемого САЧ. Также по спектрам ЭПР возможно произвести комплексную оценку конформационного и функционального состояния САЧ, в том числе определить эффективность детоксикации (DTE) и реальное качество транспортных свойств (RTQ) транспортных белков.

Альбумин обладает высокой конформационной подвижностью, что является основой разнообразия его биологических функций. В последние годы интенсивно исследуются низкомолекулярные соединения – биомаркеры, связывающиеся с транспортными протеинами, как вещества, имеющие высокий потенциал для раннего выявления патологий [Kawashima et al., JProteomeRes, 2010; Lowenthal et al., ClinChem, 2005; Metha et al., DisMarkers, 2003]. В патологических условиях наблюдаются модификации конформационной подвижности альбумина, индуцирующие изменения транспортных и детоксификационных характеристик САЧ. Эти параметры характеризуют как свойства альбумина пациентов при различных патологиях, так и параметры растворов коммерческих альбуминов.

В клинических исследованиях ЭПР-тест САЧ продемонстрировал как высокую чувствительность при различных локализациях очагов злокачественной пролиферации (около 90%), так и специфичность (90%) [Seidel et al., Z. Med. Phys., 2005; Kazmierczak et al., Clin. Chem., 2006; Gurachevsky et al.,

Clin. Chem. Lab. Med., 2008; Gelos et al., Int. J. Colorectal. Dis., 2010; Moergel et al., Clin. Oral. Investig., 2012]. Также данный тест демонстрирует преимущество (91% эффективности) по сравнению с маркерами СЕА (45%) и СА19-9 (28%) в случаях диагностики колоректального рака. В случае дифференциации аденомы и дивертикулита ЭПР-тест САЧ и конвенциональные опухолевые маркеры сравнимы по их специфичности (около 90%) [Gelos et al., Int. J. Colorectal. Dis., 2010].

В исследованиях патологий печени ЭПР-тест САЧ демонстрирует значимое снижение показателя DTE по сравнению с контрольной группой. У больных с печеночной недостаточностью (ACLF) этот параметр фиксирует дальнейшее снижение по сравнению с пациентами с циррозом печени [Jalan et al., Hepatology, 2009].

Высокий диагностический потенциал ЭПР-теста был продемонстрирован в исследованиях по диагностике сепсиса/синдрома системной воспалительной реакции. Результаты клинического исследования на базе отделений интенсивной терапии указывают на статистически значимое различие показателя DTE при развитии септических осложнений и случаев ССВР. Динамика DTE соответствовала реальной клинической картине.

ЭПР-тест САЧ может рассматриваться как значимый тест при диагностике онкологических заболеваний и мониторинге противоопухолевой терапии, в том числе для контроля рецидивов; а также при прогнозе развития ССВР, сепсиса, острых заболеваний печени, для исследования эффективности систем искусственной печени и диализа и для контроля качества промышленных альбуминов.

А.С. Ильичева¹, М.А. Фомина², А.А. Егоров¹. Окислительная модификация белков крови у больных с гипергомоцистеинемией. ¹ГБУЗ МО «Коломенская центральная районная больница», Московская область; ²ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава РФ

Целью работы являлось изучение продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) в крови больных с атеросклеротическим поражением артериального русла и повышенным уровнем гомоцистеина. В странах Европы и США гипергомоцистеинемия обнаруживается у 2–10% населения, в РФ повышенный уровень гомоцистеина определяется у 10–50% здорового населения. Концентрация гомоцистеина в крови, по разным источникам, колеблется от 5 до 11 мкмоль/л; при концентрациях от 15 мкмоль/л и выше уже говорят о гипергомоцистеинемии. Из-за наличия SH-группы гомоцистеин обладает прооксидантными свойствами; при высоких концентрациях окисляется с образованием свободных радикалов. В аэробных организмах имеется система защиты, поддерживающая равновесие между продукцией свободных

радикалов и антиоксидантов. Необратимым окислительным повреждением белков, ведущим за собой потерю их функции и/или изменение структуры, является их карбонилирование. В исследование были включены 32 мужчины с патологией сосудов в возрасте от 45 до 65 лет и уровнем гомоцистеина в сыворотке крови выше 15 мкмоль/л. Критерием отбора для исследования являлось наличие атеросклеротического поражения артериального русла различных локализаций и стадий заболевания, что было подтверждено ультразвуковым исследованием и ангиографией. Группу контроля составили 20 мужчин с уровнем гомоцистеина до 11 мкмоль/л, сопоставленных по возрасту, без патологии артерий. Все пациенты находились на стационарном лечении в отделении сердечно-сосудистой хирургии ГБУЗ МО «Коломенская центральная районная больница». Исследование уровня гомоцистеина проводилось иммунотурбидиметрическим методом с использованием оборудования и расходных материалов фирмы Instrumentation Laboratory. ОМБ определяли по методу R.I. Levine в модификации Е.Е. Дубининой. Продукты окислительного повреждения белков – динитрофенилгидразоны (ДНФГ) – оценивали, разбивая график спектра ОМБ на сегменты, где регистрировались альдегидные (АДНФГ) и кетонные карбонильные производные (КДНФГ) нейтрального и основного характера. При сопоставлении содержания гомоцистеина в сыворотке крови обнаружено выраженное статистически значимое отличие в экспериментальной группе относительно контрольной (22,99 [20,57; 24,19] мкмоль/л против 10,33 [9,14; 10,64] мкмоль/л соответственно, $p < 0,01$). Содержание продуктов ОМБ статистически значимо выросло в экспериментальной группе, преимущественно за счет альдегидных (АДНФГ) динитрофенилгидразонов. В меньшей степени, но также статистически значимо увеличилось содержание кетонных (КДНФГ) динитрофенилгидразонов. Преобладание АДНФГ говорит о накоплении в крови фрагментированных продуктов окислительного повреждения белков, играющих роль первичных маркеров оксидативного стресса. Проанализировав соотношение альдегидных и кетонных динитрофенилгидразонов в обеих группах, установили, что содержание последних (выступающих маркерами вторичного окислительного стресса) при гипергомоцистеинемии в два раза меньше, чем в контрольной группе, что еще раз подтверждает развитие оксидативного стресса именно за счет персистенции фрагментированных продуктов ОМБ. Однако полученные нами данные не позволяют исключить и то, что свободные радикалы, взаимодействуя с белковыми молекулами и формируя агрегированные вторичные продукты оксидативного стресса, вызывают дополнительное окислительное повреждение белков крови.

А.Г. Кочетов^{1,2}, О.В. Лянз², Р.Р. Гимадиев¹, А.А. Абрамов³.

Уровень циркулирующих микроРНК при хронической сердечной недостаточности. ¹ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»; ²ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов; ³НПЦ медицинской помощи детям

МикроРНК – высококонсервативные некодирующие малые молекулы РНК, регулирующие экспрессию белок-кодирующих генов на посттранскрипционном этапе с помощью механизмов, ингибирующих процесс трансляции или деградации матричной РНК, или их комбинацией. По данным многих исследований, нарушение уровня экспрессии микроРНК является одним из пусковых механизмов различных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых (ССЗ). МикроРНК могут регулировать процессы гипертрофии кардиомиоцитов, интерстициального фиброза, изменения плотности капилляров, активации иммунной системы.

Целью настоящего исследования явилась оценка уровня и вариабельности экспрессии циркулирующих микроРНК, которые демонстрировали выраженную динамику в экспериментальных и клинических зарубежных работах, – микроРНК-21, микроРНК-423-5р, микроРНК-34а, микроРНК-208а и микроРНК-499а в плазме крови больных

хронической сердечной недостаточностью (ХСН) различной этиологии.

Уровни циркулирующих микроРНК (21, 423-5р, 208а, 499а и 34а) были измерены в плазме крови 56 пациентов с ХСН, 15 человек с ССЗ без признаков ХСН и 29 здоровых добровольцев (контрольная группа). Основными причинами развития ХСН у больных, включенных в данное исследование, послужили ИБС с постинфарктным кардиосклерозом (ИБС:ПИКС) у 25 (44,6%), дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) у 13 (23,2%), декомпенсированное гипертоническое сердце у 8 (14,3%), порок сердца у 4 (7,1%), воспалительная кардиомиопатия (ВКМП) у 3 (5,4%) больных. Выделение микроРНК проводилось из цельной крови с использованием коммерческих наборов Exiqon (Дания). Амплификацию и детекцию проводили методом ПЦР в реальном времени на термоциклере Rotor-Gene 3000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия). Данные по экспрессии микроРНК нормализовали на исходный объем цельной крови. Статистическая обработка была проведена с помощью программного обеспечения SPSS 18.0, Microsoft Excel 2010.

Уровень микроРНК-423-5р был повышен у пациентов с ХСН по сравнению с группами пациентов без признаков ХСН в 2,5 раза ($p=0,006$), пороговое значение составило 35,5 у.е., чувствительность и специфичность – 79 и 64% соответственно. Больные с ХСН характеризуются статистически значимым высоким уровнем микроРНК-21 относительно больных с ССЗ без ХСН (в 1,7 раза, $p=0,022$). Больные с ССЗ без ХСН имеют более высокий уровень микроРНК-34а по сравнению с контрольной группой ($p=0,016$). Плазменные уровни микроРНК-423-5р в 11,3 раза и микроРНК-21 в 4,4 раза достоверно выше у пациентов с ВКМП, а уровень микроРНК-21 в группе пациентов с ДКМП в 1,7 раза превышает уровень группы больных ССЗ без ХСН. При оценке уровня микроРНК-423-5р выявлено статистически значимое повышение ее уровня относительно контрольной группы в группе больных ХСН, вызванной ПИКС (в 2,5 раза), ДКМП (в 3,7 раза) и ВКМП (в 11,5 раза).

Плазменные уровни микроРНК-423-5р могут быть использованы в качестве биомаркера ХСН, ДКМП, ВКМП и ПИКС, а уровень микроРНК-21 – в качестве биомаркера ДКМП и ВКМП.

А.Г. Кочетов^{1,2}, О.В. Лянз², Р.Р. Гимадиев¹, А.А. Абрамов³. **Циркулирующие микроРНК у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.** ¹ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»; ²ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов; ³НПЦ медицинской помощи детям

Многочисленные экспериментальные и клинические исследования демонстрируют дисрегуляцию профиля экспрессии циркулирующих микроРНК (микроРНК) при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ). В настоящей работе впервые в нашей стране была проведена оценка диагностического потенциала микроРНК в плазме крови пациентов с ССЗ без признаков хронической сердечной недостаточности (ХСН).

Уровни циркулирующих микроРНК (21, 423-5р, 208а, 499а и 34а) были измерены в плазме крови 15 пациентов с ССЗ без ХСН и 29 практически здоровых добровольцев. Выделение микроРНК проводилось из цельной крови с использованием коммерческих наборов Exiqon (Дания). Амплификацию и детекцию проводили методом ПЦР в реальном времени на термоциклере Rotor-Gene 3000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия). Данные по экспрессии микроРНК нормализовали на исходный объем цельной крови. Статистическая обработка данных исследования была проведена с помощью программного обеспечения SPSS 18.0, Microsoft Excel 2010.

Статистически значимые различия по плазменным уровням микроРНК-423-5р и 21 у пациентов с ССЗ и контрольной группой отсутствовали ($p=0,785$ и $0,407$ соответственно), а микроРНК-208а и 499а практически не обнаруживались в плазме крови. Уровень микроРНК-34а был повышен на 10,4

у.е. у больных ССЗ по сравнению с контрольной группой ($p=0,016$) и может быть использован в качестве биомаркера ССЗ (AUC 0,711 (ДИ 95% 0,552-0,871), пороговое значение 2,5 у.е., чувствительность и специфичность – 87 и 72% соответственно). Выявлена положительная корреляционная связь между повышенным содержанием микроРНК-34а и увеличением возраста пациентов ($r=0,336$, $p=0,026$). Внутри группы больных с ССЗ концентрация микроРНК-34а была статистически значимо выше на 9,5 у.е. у пациентов с ишемической болезнью сердца: постинфарктным кардиосклерозом (ИБС:ПИКС) по сравнению с контрольной группой ($p=0,016$), в то время как у больных гипертонической болезнью (ГБ) относительно контрольной группы статистически значимых отличий не выявлено ($p=0,16$).

Результаты данного исследования подтвердили значимость микроРНК-34а как потенциального биомаркера ССЗ за счет активации процессов возрастной гибели кардиомиоцитов, апоптоза и фиброза в миокарде этих больных, что согласуется с данными зарубежных исследований, и позволили рассчитать пороговое значение в прогнозе ССЗ, которое составило 2,5 у.е.

А.Г. Кочетов^{1,2}, О.В. Лянз², Р.Р. Гимадиев¹, А.А. Абрамов³, А.С. Садовникова⁴. **Оценка экспрессии микроРНК-21, 423-5р, 208а, 499а и 34а при развитии хронической сердечной недостаточности у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.** ¹ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»; ²ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов; ³НПЦ медицинской помощи детям; ⁴ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

МикроРНК являются относительно новым классом эндогенных, некодирующих одноцепочечных малых РНК, которые участвуют в регуляции экспрессии генов на пост-транскрипционном уровне. Использование микроРНК является перспективным в целях диагностики хронических заболеваний, таких как хроническая сердечная недостаточность (ХСН), различные формы и основные причины которой опосредованы специфической экспрессией и регуляцией микроРНК.

Целью настоящей работы явилась оценка уровня и вариабельности экспрессии микроРНК 21, 423-5р, 208а, 499а и 34а в развитии ХСН.

Уровни циркулирующих микроРНК 21, 423-5р, 208а, 499а и 34а были измерены в плазме крови 56 пациентов с ХСН и 15 пациентов с ССЗ без признаков ХСН (группа сравнения). Основными причинами развития ХСН у больных, включенных в данное исследование, послужили ИБС с постинфарктным кардиосклерозом (ИБС:ПИКС) у 25 (44,6%), дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) у 13 (23,2%), декомпенсированное гипертоническое сердце (ДГС) у 8 (14,3%), порок сердца у 4 (7,1%), воспалительная кардиомиопатия (ВКМП) у 3 (5,4%) больных. Выделение микроРНК проводилось из цельной крови с использованием коммерческих наборов Exiqon (Дания). Амплификацию и детекцию проводили методом ПЦР в реальном времени на термоциклере Rotor-Gene 3000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия). Данные по экспрессии микроРНК нормализовали на исходный объем цельной крови. Статистическая обработка данных исследования была проведена с помощью программного обеспечения SPSS 18.0, Microsoft Excel 2010.

Выявлено, что уровень микроРНК-34а у больных ХСН, вызванной ДГС, в 20,8 раза ниже уровня в группе сравнения ($p=0,009$). Уровень микроРНК-21 повышен у пациентов с ХСН в 1,7 раза ($p=0,022$) и может быть использован в качестве биомаркера ХСН (AUC 0,694 (ДИ 95% 0,550–0,838), пороговое значение 882,9 у.е., чувствительность и специфичность – 52 и 87% соответственно). Отмечена обратная корреляция между уровнем микроРНК-21 и стадиями ХСН по классификации В.Х. Василенко и Н.Д. Стражеско ($r=-0,304$, $p=0,036$). Плазменные уровни микроРНК-21 в 4,4 раза и микроРНК-423-5р в 11,3 раза достоверно выше у пациентов

с ВКМП, а уровень микроРНК-21 в подгруппе пациентов ДКМП в 1,7 раза превышает уровень группы сравнения.

Плазменные уровни микроРНК-21 могут быть использованы в качестве биомаркера ХСН, ВКМП и ДКМП, уровень микроРНК-423-5р – в качестве биомаркера ВКМП. Впервые выявлены биомаркеры для основных причин ХСН: дилатационной (ДКМП) и воспалительной кардиомиопатии (ВКМП).

А.С. Авдеева¹, Е.Н. Александрова¹, М.В. Черкасова¹, Е.Ю. Панасюк¹, Г.В. Лукина¹, Д. Розгенбук², Е.Л. Насонов¹. **Антитела к RA-33 при ревматоидном артрите.** ¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия; ²Бранденбургский технический университет, Котбус-Сенфтенберг, 01968, Сенфтенберг, Германия

Антитела к RA-33 направлены против гетерогенного нуклеарного рибонуклеопротеида (hn-RNP-A2), экспрессирующегося в синовиальной оболочке при РА и вызывающего аутоиммунный ответ. Данный вид аутоантител может выявляться на ранних стадиях РА, в том числе у РФ-негативных пациентов.

Цель – оценить уровень антител к RA-33 (anti-RA-33) у пациентов с РА, проанализировать их взаимосвязь с клинико-лабораторными показателями активности заболевания; динамику на фоне различных схем терапии.

Уровень anti-RA-33 в сыворотке крови (ЕД/мл) определялся методом ИФА у 89 пациентов с РА (70 женщин, средний возраст – 53; 42–60 лет, длительность заболевания – 5; 2,5–7,6 лет, DAS 28 – 5,9; 5,1–6,7, РФ позитивных – 74,2%, АЦЦП позитивных – 80,9%). В зависимости от проводимой терапии все больные были разделены на три группы: 26 пациентов получали терапию метотрексатом (МТ), 63 больным в связи с недостаточной эффективностью терапии стандартными базисными противовоспалительными препаратами (БПВП) и глюкокортикоидами была инициирована терапия генно-инженерными биологическими препаратами (40 – тоцилизумабом (ТЦЗ) и 23 ритуксимабом (РТМ) по стандартной схеме). Верхняя граница нормы anti-RA-33 при обследовании 50 здоровых доноров составила 14 ЕД/мл.

Исходный уровень anti-RA-33 среди больных РА составил 2,1; 1,5–7,3 и не отличался от здоровых доноров (2,0; 1,6–3,9, $p>0,05$). Диагностическая чувствительность anti-RA-33 составила 9%, диагностическая специфичность – 98,1%, отношение правдоподобия положительных и отрицательных результатов теста – 45 и 0,9 соответственно. Повышенный уровень anti-RA-33 регистрировался у 8 пациентов (8,9%). Среди больных, позитивных по anti-RA, 33 5 (62,5%) пациентов были также позитивны по АЦЦП и IgM РФ, 1 (12,5%) больной был позитивен по АЦЦП и негативен по IgM РФ и 2 (25%) больных были серонегативны по АЦЦП и IgM РФ. Корреляционной взаимосвязи уровня anti-RA-33 с активностью заболевания, а также уровнем острофазовых показателей выявлено не было ($p>0,05$), регистрировалась положительная корреляционная взаимосвязь уровня anti-RA-33 с числом сужений суставной щели ($r=0,26$, $p=0,02$), а также с суммарным счетом Sharp ($r=0,24$, $p=0,03$). Достоверно более высокий уровень anti-RA-33 регистрировался в группе пациентов, получавших РТМ (5,3; 2,1–12,1), что, вероятно, было связано с более высокой частотой системных проявлений РА в этой группе больных (1,9; 1,3–5,4 и 1,9; 1,4–5,6 в группах ТЦЗ и МТ, $p<0,05$). При использовании РТМ отмечалась тенденция к снижению уровня anti-RA-33, и его значения составили 5,3; 2,1–12,1 до начала терапии и 2,9; 1,9–10,9 и 3,3; 2–11,1 через 16 и 24 нед лечения, $p=0,062$. При использовании ТЦЗ наблюдалось повышение уровня anti-RA-33 к 24 нед лечения: 1,9; 1,4–5,5 до начала терапии; 1,8; 1,6–5,1 и 3,35; 1,6–9,3 через 8 и 24 нед применения препарата, $p<0,05$. В группе МТ исходный уровень anti-RA-33 составил 1,9; 1,3–5,4 и не изменялся на фоне терапии (1,9; 1,4–4,7 через 24 нед).

Определение уровня anti-RA-33 можно рекомендовать в качестве дополнительного диагностического маркера РА у серонегативных по РФ и АЦЦП пациентов. Использование

данных аутоантител в оценке активности заболевания и эффективности терапии требует дальнейшего уточнения.

Е.Н. Александрова, А.С. Авдеева, О.А. Румянцова, М.В. Черкасова, А.А. Новиков, Е.Л. Лучихина, Д.Е. Каратеев, Ш.Ф. Эрдес, Е.Л. Насонов. Лабораторный мониторинг иммуногенности ингибиторов фактора некроза опухоли – α (иФНО-α) при лечении воспалительных ревматических заболеваний. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва

Прогресс в лечении больных РЗ связан с применением генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), включающих моноклональные антитела и гибридные белковые молекулы, которые подавляют активность важнейших провоспалительных цитокинов (ФНО-α, интерлейкины 6, 1, 17, 12/23), а также кооперацию и патологическую активацию Т- и В-лимфоцитов. Однако ГИБП, в частности, иФНО-α, обладают потенциальной иммуногенностью, характеризующейся способностью индуцировать развитие нежелательного иммунного ответа с образованием антител к новым чужеродным эпитопам, что сопровождается потерей эффективности проводимого лечения.

Цель – оценить взаимосвязь клинической эффективности иФНО-α адалимумаба (АДА) и инфликсимаба (ИНФ) с уровнями данных ГИБП и антител (АТ) к ним в сыворотке крови у больных ревматоидным артритом (РА) и анкилозирующим спондилитом (АС).

Обследованы 25 больных РА, получавших АДА (до введения препарата и через 12, 24 нед лечения АДА в комбинации с метотрексатом), и 54 больных АС на фоне регулярной, длительной (более года, максимум 10 лет) терапии ИНФ (исходно и перед очередной инфузией препарата через 6–12 мес). Определение АДА, анти-АДА АТ, ИНФ и анти-ИНФ АТ в сыворотке крови проводилось методом ИФА с использованием коммерческих наборов реагентов.

К 24-й неделе лечения среди больных РА с низким уровнем АДА в крови (<2,85 мкг/мл, $n=7$) отмечена более высокая клинико-лабораторная активность болезни ((DAS28 4,5 (3,3–4,9); СОЭ – 44 (18–57) мм/ч, С-реактивный белок – СРБ–10,1 (4,9–34,5) мг/л)), чем у больных с концентрацией АДА $\geq 2,85$ мкг/мл ($n=13$) ((DAS28=3,5 (2,9–3,9), СОЭ 15,0 (6,0–17,0) мм/ч, СРБ 1,9 (0,75–6,7) мг/л; $p<0,05$). Анти-АДА АТ выявлялись у 3 (12,5%) пациентов через 12 нед и у 2 (10%) больных через 24 нед терапии. К 24-й нед лечения у всех больных РА с наличием анти-АДА АТ зарегистрировано отсутствие клинического эффекта (Δ DAS28=-1,36 (от -3,1 до -0,4). В зависимости от клинического ответа на ИНФ, больные АС были разделены на 2 группы: 1-я группа – 26 (48%) больных, у которых наблюдалась потеря эффекта ИНФ (обострение через 2–4 нед после инфузии), 2-я группа – 28 (52%) больных без потери эффекта ИНФ. В 1-й группе уровень АТ к ИНФ был достоверно выше, чем во 2-й (41,8 и 22,5 ЕД/мл, $p<0,02$). В обеих группах выявлена обратная корреляционная связь между концентрацией ИНФ и наличием АТ к ИНФ ($p<0,05$). При динамическом исследовании в группе из 13 больных АС с сохраняющимся клиническим эффектом ИНФ антилекарственные АТ выявлялись только у 1 пациентки (8%), имевшей низкую концентрацию ИНФ в крови. За период наблюдения у 3 (23%) больных данной группы уровень ИНФ повысился, у 3 (23%) снизился, у 7 (54%) оставался без изменений. В группе из 10 больных АС с потерей эффекта терапии анти-ИНФ АТ выявлялись у 6 (60%) пациентов, причем концентрация ИНФ у них была исходно низкой и не менялась в течение всего срока наблюдения. У 1 больного данной группы анти-ИНФ АТ появились в процессе наблюдения, что сопровождалось уменьшением концентрации ИНФ. У 2 из 3 больных с вторичной неэффективностью без анти-ИНФ АТ отмечено повышение уровня ИНФ на фоне терапии.

При РА и АС прослеживается тесная взаимосвязь между снижением клинического эффекта иФНО-α (адалимумаба, инфликсимаба), уменьшением их концентрации в сыворотке

крови и образованием антилекарственных АТ. Определение сывороточной концентрации иФНО-α и антител к ним позволяет более эффективно контролировать достижение хорошего ответа на проводимое лечение и активность болезни.

А.П. Александкин, Е.В. Супоницкая, А.А. Меснянкина, Т.А. Панафидина, Е.Н. Александрова, С.К. Соловьев, Е.Л. Насонов. Применение метода проточной цитометрии для определения фенотипа субпопуляций в-лимфоцитов у пациентов с активной формой системной красной волчанки. ФГБНУ «Научно-исследовательский Институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва

Цель: используя метод проточной цитометрии, исследовать различные субпопуляции В-лимфоцитов периферической крови у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и оценить взаимосвязь между субпопуляциями В-лимфоцитов и активностью СКВ до лечения ритуксимабом (РТМ).

У 23 пациентов (пцт) с СКВ (21Ж/2М); возраст – Ме (процентили) 36 лет (30–40), с продолжительностью болезни 6,7 года (2–8); индекс SLEDAI-2K 13,5 (8–19), (SLEDAI-2K ≥ 8 у 18 пцт, <8 у 5 пцт); общий индекс BILAG (посчитан с использованием программы i-BLIPS) 20,5 (14,5–24) оценены субпопуляции В-лимфоцитов и лабораторные показатели: скорость оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивный белок (СРБ), компонент комплемента С3 и С4, антинуклеарные антитела и антитела к двуспиральной ДНК (анти-дсДНК) до лечения РТМ. С помощью многоцветной проточной цитометрии на приборе BECKMAN COULTER® NAVIOS™ были оценены CD19+В-клетки: В-клетки памяти (CD19+CD27-), непереключенные (CD19+IgD+CD27+) и переключенные В-клетки памяти (CD19+IgD-CD27+), наивные В-клетки (CD19+IgD+CD27-), двойные негативные В-клетки (CD19+IgD-CD27-), транзиторные В-клетки (CD19+IgD+CD10+CD38++CD27-) и плазмобласты (CD19+CD38+++IgD-CD27+CD20-). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0, включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа.

У пациентов по сравнению с группой здоровых доноров ($n=27$) относительное количество В-клеток памяти – 1,3% (1–2,2) и 2,2% (1,6–3,3), непереключенных В-клеток – 2,1% (1,6–5,9) и 10% (6,4–12,7), наивных – 58,2% (40,2–66,9) и 65,8% (55,1–73,4), транзиторных В-клеток – 0,1% (0–0,1) и 0,1% (0,1–0,3) было ниже соответственно; $p<0,05$. Относительное количество двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) у пациентов было выше, чем у доноров, 29,6% (20,9–41,3) и 9,8% (8,4–12) соответственно, $p<0,0001$. Обнаружена отрицательная корреляция между относительным ($r=-0,59$) и абсолютным ($r=-0,59$) количеством В-клеток памяти (CD19+CD27+) и уровнем анти-дсДНК, $p<0,05$. Абсолютное количество двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) положительно коррелировало с индексом SLEDAI-2K ($r=0,55$), BILAG ($r=0,55$), СОЭ ($r=0,60$) и суточной дозой преднизолона ($r=0,50$), $p<0,05$. У 18 пациентов с активной СКВ (SLEDAI-2K ≥ 8) эта корреляция была выше: SLEDAI-2K $r=0,67$, BILAG $r=0,75$, СОЭ $r=0,79$. У 17 пациентов с высоким уровнем анти-дсДНК (>50 МЕ/мл) отмечалась выраженная обратная ассоциация относительного количества двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) с уровнем С3 и С4: $r=-0,80$ и $r=-0,59$ соответственно, $p<0,05$ для обоих случаев.

При активной СКВ по сравнению со здоровыми донорами выявлено снижение относительного количества В-клеток памяти, непереключенных, наивных, транзиторных и увеличение двойных негативных В-клеток. Прямая корреляция двойных негативных В-клеток с активностью СКВ (SLEDAI-2K, BILAG), СОЭ и обратная – с уровнем С3 и С4 может свидетельствовать о значении двойных негативных В-клеток (IgD-CD27-) в патогенезе СКВ.

Ж.Г. Верижникова¹, Е.Н. Александрова¹, А.А. Новиков¹, Т.А. Панафидина¹, Н.В. Середавкина¹, Л.В. Кондратьева, Т.В. Попкова¹, Н.Л. Айзина², Д. Роггенбук³, Е.Л. Насонов¹. Сравнительная характеристика клинической информа-

тивности трех автоматизированных методов скринингового определения антинуклеарных антител (АНА) с использованием непрямой реакции иммунофлюоресценции на HEp-2 клетках человека (НРИФ-HEp-2), иммуноферментного анализа (ИФА) и мультиплексного проточного иммуноанализа на основе магнитных микросфер для диагностики системной красной волчанки (СКВ).¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва; ²Клинико-диагностический центр ГУЗ г. Москвы ДПП № 121; ³Бранденбургский технический университет, г. Котбус-Сенфтенберг, Германия

АНА – гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра и цитоплазмы. АНА являются основным серологическим маркером СКВ и других системных аутоиммунных ревматических заболеваний (САРЗ).

Цель: сравнить диагностическую значимость трех автоматизированных методов определения АНА (НРИФ-HEp-2, ИФА и мультиплексного анализа (BioPlex)) при СКВ.

Исследованы сыворотки 94 больных с верифицированным диагнозом СКВ (80 женщин) в возрасте 35,9 [16; 65] года со средней длительностью заболевания 113,5 [2–576] месяцев; 50 больных др. САРЗ; 20 больных др. РЗ; 30 здоровых доноров. АНА определялись тремя различными методами: НРИФ-HEp-2 с помощью автоматизированной системы AKLIDES («Medipan GmbH», Германия), ИФА на анализаторе «Alegria» («Orgentec», Германия) и мультиплексным проточным иммуноанализом на основе магнитных микросфер (BioPlex® 2200 ANA Screen, Laboratories Inc.Hercules, CA, США). Позитивные результаты измерения АНА соответствовали следующим значениям: $\geq 1:160$ (НРИФ-HEp-2); $\geq 1,3$ у.е. (для скрининга АНА, ИФА); ≥ 25 МЕ/мл (для антигенспецифичных АНА, ИФА); ≥ 1 ЕД (Antibody Index) (BioPlex). Позитивные значения для анти-дсДНК были ≥ 20 МЕ/мл (ИФА) и ≥ 10 МЕ/мл (BioPlex).

При скрининговом определении АНА степень согласованности (коэффициент к Козна) между НРИФ-HEp-2 и ИФА, НРИФ-HEp-2 и BioPlex была ниже, чем у ИФА и BioPlex (0,438; 0,426 и 0,726). У больных СКВ определение АНА методом НРИФ-HEp-2 показало более высокую диагностическую чувствительность (ДЧ) по сравнению с ИФА и BioPlex (97 и 80%, 83%). При использовании НРИФ-HEp-2 ложноотрицательные результаты скринингового исследования АНА регистрировались у 3% больных СКВ, ИФА – у 20%, BioPlex – у 17%. Диагностическая специфичность (ДС) определения АНА методом НРИФ-HEp-2 была ниже таковой у ИФА и BioPlex (40 и 70%, 57%). В группе здоровых доноров скрининговый анализ АНА с помощью BioPlex имел более низкую ДС (80%) по сравнению с НРИФ-HEp-2 (93%) и ИФА (97%). По уровню отношения правдоподобия отрицательного результата (ОПОР) НРИФ-HEp-2 являлась более информативным тестом для исключения диагноза СКВ, чем методы ИФА и BioPlex (0,08 и 0,29; 0,30). Степень согласованности между тестами ИФА/BioPlex для определения антител к дсДНК, Sm, RNP-70, Ro/SS-A (52/60 кДа), La/SS-B была «хорошей» (кappa=0,567; 0,673; 0,775; 0,816; 0,777 соответственно). Оба метода обладали высокой ДС при выявлении анти-дсДНК (94%/95%), анти-Sm (97%/97%) и анти-RNP-70 (94%/95%) у больных СКВ. По уровню отношения правдоподобия положительного результата теста (ОППР), определение концентрации анти-дсДНК и анти-Sm с помощью ИФА/BioPlex (11,5/10,42 и 7,1/9,57) оказалось наиболее полезным для диагностики СКВ.

Определение АНА методом НРИФ-HEp-2 является более полезным скрининговым тестом для диагностики СКВ. ИФА и BioPlex должны использоваться как подтверждающие тесты для определения антигенспецифических АНА.

И.А. Гусева¹, Н.Е. Сорока², Н.В. Демидова¹, Е.Л. Лучихина¹, Е.Н. Александрова¹, А.А. Новиков¹, Е.Ю. Самаркина¹, Е.Ю. Панасюк¹, Е.А. Авдеева¹, Е.В. Федоренко¹, Е.С. Аронова¹, Г.В. Лукина¹, М.Н. Болдырева³, Д.Ю. Трофимов², Д.Е. Каратеев¹, Е.Л. Насонов¹. **Разработка оригинальных методов геноти-**

пирования аллелей гена *HLA-DRB1* и информативных генетических полиморфизмов при ревматоидном артрите. ¹ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН; ²ЗАО «НПФ ДНК-Технология»; ³ФГБНУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России

К настоящему времени идентифицировано значительное число генов, вовлеченных в предрасположенность к развитию РА и формирование определенных клинических субтипов заболевания. Также генетические маркеры могут служить предикторами эффективности и/или безопасности базисных противовоспалительных и генно-инженерных биологических препаратов. Таким образом, к настоящему времени назрела необходимость оптимизации имеющихся методов ПЦР-генотипирования для использования их как в научных исследованиях, так и в рутинной лабораторной практике.

В исследование включены 336 пациентов с РА (начало болезни 48,3±13,2 года, длительность 6,7±5,1 года), из них 123 пациента с длительностью симптомов до включения в исследование менее 2 лет (ранний РА, рРА), проспективно обследованных в течение 4 лет. Контрольную группу составили 303 здоровых донора крови. Используя методический подход «функциональный ген-кандидат», олиготипировали полиморфизмы генов *HLA-DRB1*, *PTPN22*(+1858 С/Т), *CTLA-4*(+49А/Г), *IL-6*(-174Г/С), *IL-6R*(+358А/С), *TNFA*(-308А/Г), *TNFAIP3*(rs675520, rs6920220), *MCP-1* /*CCL2* (+2581А/Г), *IL-1B*(3953 С/Т), *ICAM1*(G/A), *APCS*(G/A), *IL-10*(-592А/С, -819 Т/С), (-1082 А/Г), *MTHFR* (+677С/Т, +1298 А/С).

Полимеразная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в различных модификациях с использованием оригинальных сиквенс-специфических праймеров и проб, меченных различными флуоресцентными метками (НПФ «ДНК-Технология»), автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов проводились на отечественном инновационном детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология»). При проверке работоспособности созданных тест-систем в качестве референсного метода определения генотипа образцов использовали автоматическое секвенирование ДНК по Сэнгеру с применением автоматического секвенатора ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Кроме того, была разработана отечественная тест-система ПЦР-РВ для идентификации аллелей гена *HLA-DRB1* (*0101/*0102, *0103, *03, *0401, *0402, *0404/*0405/*0408, *0403/*0407/*0411, *07, *08, *0901, *1001, *1101/*1104, *1102/*1103, *12, *15, *16, *1301/*1302/*1304/*1323, *1303, *1305/*1306/*1325, *1401/*1404, *1402), пригодная для «рутинного» использования. Время от момента выделения ДНК и получения конечного результата генотипирования составляло 2,5–3 ч.

В результате проведенного исследования выявлен ряд полиморфизмов изученных генов, ассоциированных с предрасположенностью к развитию РА, клинико-лабораторными параметрами и эффективностью терапии ГИБП, которые могут быть использованы в практической медицине. Сравнение различных методов генотипирования аллелей гена *HLA-DRB1*, однонуклеотидных полиморфизмов позволило выбрать отечественные тест-системы и оборудование для использования в рутинной лабораторной практике в качестве оптимальных (в совокупности качество, стоимость, трудозатраты, минимальный риск контаминации).

А.А. Новиков¹, Е.Н. Александрова¹, А.Н. Герасимов², М.В. Черкасова¹, Д.Е. Каратеев¹, Т.В. Попова, Е.Л. Лучихина¹, Е.Л. Насонов¹. **Клинико-лабораторные особенности пациентов с ревматоидным артритом в зависимости от позитивности по антителам к цитруллинированным белкам.** ¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой»; ²Первый московский государственный университет им. И.М. Сеченова

Цель – сравнить профили протеомных маркеров у АЦБ-позитивных (АЦБ+) и АЦБ-негативных (АЦБ-) пациентов с ревматоидным артритом (РА).

Обследованы 118 больных: 37 ранним РА (длительность

заболевания Me (IP): 51 (41–62) мес, 76% женщин, «АЦБ+» 79%), 81 развернутым РА (49 (41–57); 88% женщин; «АЦБ+» 79%). «АЦБ» считались пациенты негативные по антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) и кератину (АКА). Концентрации 30 биомаркеров в сыворотке крови измеряли с использованием иммунонефелометрического метода (С-реактивный белок, IgM ревматоидный фактор (РФ)), иммуноферментного анализа (IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ), непрямой иммунофлюоресценции (АКА) и технологии «xMAP» (цитокины, хемокины, ростовые факторы).

При раннем РА у «АЦБ+» пациентов в отличие от «АЦБ» больных отмечено повышение уровней IgM РФ, IL-15, G-CSF, при развернутом РА – IgM/IgA РФ, TNF- α , IL-15, 1 α , 2, -5, -9, -10, -12, зотаксина, GM-CSF, MCP-1.

Позитивный по антителам к цитруллинированным белкам субтип ревматоидного артрита отличается от негативного более высокими уровнями аутоантител, провоспалительных, противовоспалительных цитокинов, колониестимулирующего фактора и хемокинов.

Ю.Б. Пушкарева, Л.М. Масыгутова. Значимость определения антител к циклическому цитруллинированному пептиду и ревматоидному фактору у больных с суставной патологией. ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», г. Уфа

В настоящее время наиболее информативным и специфичным маркером ревматоидного артрита (РА) считаются антитела к циклическому цитруллин-содержащему пептиду (АЦЦП), которые обнаруживаются в крови за 1–1,5 года до проявления первых признаков заболевания. Анти-ЦЦП-антитела накапливаются независимо от уровня ревматоидного фактора (РФ), причем их содержание зависит от активности воспалительного процесса в суставах.

Нами обследован 61 человек с поражением суставов (19 мужчин и 42 женщины), в том числе 37 жителей города и 24 – сельской местности; средний возраст пациентов составил 50,5 года (24–76). Обследованные были разделены на две клинические группы: без жалоб на боли в суставах – 11 (18%) человек; с жалобами на боли в суставах – 50 (82%) человек, из них с РА – 5 (8%) человек, с остеоартрозом – 33 (54%) человека, без установленного диагноза – 12 человек (20%). Для диагностики заболевания проводились гематологические (общий анализ крови, СОЭ), биохимические (С-РБ, мочевины, креатинин, АЛТ, АСТ, общий белок) и иммунологические исследования с определением состояния клеточного (фагоцитарная активность, НСТ спонтанный и стимулированный) и гуморального иммунитета (иммуноглобулины А, М, G, E, циркулирующие иммунные комплексы). Кроме того, у 48 человек проведено количественное определение суммарного ревматоидного фактора («Вектор-Бест»), у 61 человека – уровня IgG-антител к циклическому цитруллинсодержащему пептиду (АЦЦП, «Euroimmun») в сыворотке крови методом ИФА. Верхняя граница референтного интервала по АЦЦП составляет 5 ОЕ/мл, суммарного ревматоидного фактора – 25 Ед/мл (по инструкции фирм-производителей).

В результате проведенных исследований было выявлено, что в группе лиц, не предъявлявших жалоб, показатели АЦЦП, РФ и СОЭ не превышали нормы и составляли в среднем 0,9 ОЕ/мл, 6,9 Ед/мл и 4 мм/ч соответственно. Среди пациентов с жалобами на боли в суставах превышение референтных пределов по АЦЦП было отмечено у 9 человек (18%), показателей РФ – у 12 человек (24%), одновременно по АЦЦП и РФ – у 6 человек (12%). Среди лиц с остеоартрозом превышение границ нормы по АЦЦП отмечено у 3 человек (9%), по РФ – у 5 обследуемых (23,8%), по АЦЦП и РФ – также у 3 человек (9%). У 3 из 12 человек без установленного диагноза (5% от общего числа обследованных), предъявлявших жалобы на боли в суставах, было выявлено повышение уровня АЦЦП, что может свидетельствовать о ранней стадии ревматоидного артрита («серонегативного»). Повышение уровня РФ и АЦЦП отмечалось у 3 из 5 человек с установленным диагнозом РА.

Таким образом, определение АЦЦП является высокочувствительным и достаточно специфичным серологическим тестом, позволяющим проводить раннюю диагностику ревматоидного артрита и, соответственно, назначать раннюю активную противоревматическую терапию, способную эффективно затормозить прогрессирующее поражение суставов, а также дифференцировать РА от других заболеваний с суставной патологией.

В.В. Базарный, Н.В. Гаренских. Особенности кроветворения у доноров крови. ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России; ГУЗ СО Свердловская областная клиническая больница № 1, Екатеринбург

Донорство крови – универсальный социальный индикатор развития общества и значимости в нем человеческих ценностей, а сохранение здоровья донора является приоритетной задачей. Несмотря на то что вопросы донорства во всем мире регламентируются рядом нормативных документов, в литературе представлены данные о том, что соблюдение «донорского режима» не исключает возможность развития латентного дефицита железа (Booth A. et al., 2014; Goldman M. et al., 2014, и др.). Другие эффекты кроводачи также требуют расшифровки. Этим определена цель данного исследования – оценка гематологических показателей у различных категорий доноров.

Обследованы 100 доноров, допущенных к кроводачам в соответствии с национальными инструкциями. Они были разделены на две группы: первичные (сдающие кровь и ее компоненты впервые); активные («кадровые») – имеющие 3 и более кроводач в год при стаже более трех лет. Выделяли также доноров крови и тромбоцитарной массы. Для получения тромбоконцентрата использовали технологию автоматического афереза (Haemonetics, устройство MCS+). Повестьная структура в группах не различалась. Исследовали клинический анализ крови (Sysmex), содержание гемопоэтических факторов роста: эритропоэтина (ЭПО) и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), функциональную активность тромбоцитов методами оптической и импедансной агрегатометрии. Определяли содержание сывороточного железа и общую железосвязывающую способность сыворотки.

Основные параметры гематологического анализа (содержание лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов) были в пределах нормы. Эритроцитометрические показатели: MCH (среднее содержание гемоглобина) и MCV (средний объем эритроцита) у доноров изученных групп существенно не различались и находились в пределах референтных значений. Однако RDW (показатель анизоцитоза) у «кадровых» доноров (в том числе – и тромбоцитарной массы) находился за пределами верхнего значения референтного интервала у 50% доноров (в группе сравнения – у 10%). Указанные клинически значимые сдвиги могут быть выявлены у доноров только при использовании автоматических гематологических систем. Различий в показателях обмена железа между группами также не обнаружено, но у 10% добровольцев в контрольной группе и у 29% активных доноров тромбоцитов отмечалось снижение коэффициента насыщения трансферрина. Следовательно, у части доноров формируется умеренный латентный дефицит железа.

Концентрация ЭПО в контрольной группе составила в среднем 29,3 мМЕ/мл, у активных доноров она повышена в 1,8 раза ($p=0,01$), а содержание Г-КСФ у доноров разных групп не различалось. Число тромбоцитов колебалось в незначительных пределах, но их агрегационная способность изменялась в зависимости от количества кроводач и используемого *in vitro* индуктора.

Таким образом, мы пришли к заключению об адекватности существующих «донорских» режимов в целом, хотя у части «кадровых» доноров отмечены признаки активизации эритропоэза, латентного дефицита железа и нарушения агрегационной способности тромбоцитов. Мы полагаем, что эти

данные следует учитывать при совершенствовании алгоритма лабораторного мониторинга здоровья доноров.

А.И. Пьянзин¹, С.И. Жилин², Е.В. Ивченко³, А.В. Федоров¹, З.Ф. Акинина³. **Математические методы анализа данных современного гематологического анализатора в диагностике гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы у новорожденных.** ¹Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул; ²Алтайский государственный университет, г. Барнаул; ³Алтайская краевая клиническая детская больница, г. Барнаул

Современные информационные технологии значительно повышают точность диагностики и прогноз развития заболеваний. В настоящее время мало изучен вопрос использования компьютерных технологий в диагностике различных заболеваний у новорожденных при анализе данных параметров гемограммы современных гематологических анализаторов.

Цель и задачи исследования – оценить эффективность использования комбинации математических методов анализа данных общего анализа крови в диагностике перинатального гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы.

Обследовали 187 новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы и 47 без данной патологии (возраст 4–7-й день после рождения). Диагноз был поставлен в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10). С помощью гематологического анализатора SysmexХТ-2000i (SysmexCorporation, Япония) определяли 30 параметров общего анализа крови. Статистически значимые различия исследуемых параметров гемограммы устанавливались при помощи непараметрического метода критерия Вилкоксона–Манна–Уитни (уровень значимости $p \leq 0,05$). Для построения сложных нелинейных зависимостей и постановки компьютерного диагноза использовались автоматизированные искусственные нейронные сети, метод деревьев классификации, метод главных компонент.

По связям между параметрами крови метод главных компонент показал, что диагноз перинатального поражения центральной нервной системы связан с процентным содержанием лимфоцитов, нейтрофилов, фракцией зрелых ретикулоцитов и фракцией больших незрелых ретикулоцитов, количеством эритроцитов, концентрацией гемоглобина, гематокритом. При разделении на классы метод деревьев классификации определил значимыми следующие показатели гематологического анализатора: фракция незрелых ретикулоцитов, средняя концентрация и содержание гемоглобина в эритроците, коэффициент вариации размера эритроцитов, фракция незрелых тромбоцитов. Для прогнозирования диагноза перинатального поражения центральной нервной системы при обучении модели на 194 пациентах этот метод обеспечил ошибку 5%, а на независимой тестовой выборке из 34 человек ошибку 10%. Искусственные нейронные сети при постановке компьютерного диагноза перинатального поражения центральной нервной системы в процессе обучения показали 100-процентную точность, специфичность и чувствительность, а на тестовой выборке точность диагноза составила 87%, специфичность — 71%, чувствительность — 91%.

Использование различных математических методов и современных компьютерных технологий при анализе параметров гемограммы современного гематологического анализатора позволяет с высокой точностью проводить у новорожденных диагностику гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы.

О.В. Петрова, С.А. Шагин, Д.Г. Тарасов. **Значение определения автоматического параметра незрелые гранулоциты у больных, оперированных по поводу хронической ревматической болезни сердца.** ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», г. Астрахань

Цель работы – изучить динамику автоматического пара-

метра незрелые гранулоциты (IG) у больных, оперированных по поводу хронической ревматической болезни сердца (ХРБС), и оценить значение данного параметра в диагностике инфекционно-воспалительного процесса.

Исследуемую группу составили 100 пациентов (женщин) с диагнозом ХРБС, средний возраст пациентов составил $51,08 \pm 1,09$ года. Всем пациентам проводили операции клапанной коррекции (имплантировали клапаны) в условиях искусственного кровообращения (ИК), гипотермии, антеградной кардиоopleгии. Содержание IG в периферической крови определяли при поступлении в стационар и в послеоперационном периоде на автоматическом гематологическом анализаторе «SysmexХТ 2000i» («Sysmex Corporation», Япония).

При поступлении в стационар у пациентов с ХРБС содержание IG ($0,01 \pm 0,002\%$) не отличалось от значений контрольной группы ($0,01 \pm 0,002\%$), что указывало на отсутствие инфекционно-воспалительного процесса у больных ХРБС на момент поступления в стационар.

При благоприятном течении послеоперационного периода (отсутствии инфекционно-воспалительных процессов) содержание IG у больных с ХРБС изменяется в пределах $0,008–0,14\%$.

Увеличение содержания IG в периферической крови в послеоперационном периоде у больных ХРБС более 2% указывает на риск развития инфекционно-воспалительного процесса. В отношении таких пациентов должен реализовываться принцип «инфекционной настороженности»: тщательный клиничко-микробиологический мониторинг состояния пациентов. Увеличение содержания IG в периферической крови в послеоперационном периоде у больных ХРБС более 4% указывает на развитие инфекционно-воспалительного процесса – сепсиса.

Для уточнения значения IG в диагностике сепсиса у кардиохирургических больных мы провели корреляционный анализ между содержанием IG и традиционными маркерами сепсиса (количество лейкоцитов в периферической крови и концентрацией прокальцитонина). Корреляционный анализ показал следующее: умеренную положительную корреляцию между IG и количеством лейкоцитов в периферической крови ($r=+0,58$; $p<0,001$); умеренную положительную корреляцию между IG и концентрацией прокальцитонина ($r=+0,43$; $p<0,001$). Кроме того, провели корреляционный анализ между тяжестью состояния пациентов по шкале АРАСНЕ II и содержанием IG. Корреляционный анализ выявил сильную положительную зависимость между степенью оценки тяжести состояния пациентов по шкале АРАСНЕ II и содержанием IG в крови ($r=+0,82$; $p<0,001$).

Наличие корреляций между автоматическим параметром «незрелые гранулоциты» и маркерами инфекционно-воспалительного процесса указывает на то, что автоматический параметр «незрелые гранулоциты» может быть использован в качестве маркера инфекционно-воспалительного процесса (сепсиса) у кардиохирургических больных; данный параметр отражает тяжесть состояния больных с сепсисом, а значительное повышение количества IG в периферической крови у больных с сепсисом на фоне проводимой терапии указывает на очень высокую вероятность неблагоприятного исхода лечения.

Определение количества IG в периферической крови у кардиохирургических больных позволяет выявить пациентов с высоким риском развития инфекционно-воспалительного процесса, оценить эффективность проводимой терапии, течение послеоперационного периода и исход заболевания.

О.С. Плеханова¹, Е.В. Наумова², И.Ю. Бугров², М.Е. Почтарь², С.А. Луговская². **Новый подход в оценке ПНГ-клона среди ретикулоцитов с использованием многоцветной проточной цитометрии.** ¹ГБУЗ ГКБ № 1 ДЗМ; ²Кафедра клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО РМА-ПО, г. Москва

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) – приобретенное клональное заболевание, проявляющееся анемией

с эпизодами острого внутрисосудистого гемолиза, провоцирующего тромбозы различной локализации, а также тромбоцитопений и нейтропений. В основе данного заболевания лежит приобретенная соматическая мутация PIG A гена на X-хромосоме (Хр22.1), приводящая к дефекту якорного белка гликозил-фосфатидилинозитола (GPI), что в свою очередь сопровождается утратой защитных свойств мембраны клеток крови (эритроцитов, нейтрофилов, моноцитов и тромбоцитов) от действия комплемента. «Золотым стандартом» диагностики ПНГ является метод проточной цитометрии. Согласно международным рекомендациям 2010 г., диагностика ПНГ базируется на выявлении дефицита некоторых GPI-связанных молекул: FLAER и CD24 на гранулоцитах; FLAER и CD14 на моноцитах и CD59 на эритроцитах. Мембрана эритроцитов в наибольшей степени подвержена воздействию мембраноатакующего комплекса и в отсутствие белка CD59 эритроциты подвергаются гемолизу, в связи с этим интерес представляет популяция ретикулоцитов, не разрушающаяся в кровотоке, по-видимому, из-за присутствия РНК-содержащих структур.

Цель исследования – изучить возможность исследования ПНГ-клона среди ретикулоцитов и сопоставить полученные данные со стандартной методикой выявления ПНГ-клона.

Для оценки ПНГ-клона на ретикулоцитах методом проточной цитометрии был использован способ их выделения с использованием моноклональных антител к CD71 (рецептор к трансферрину) в комбинации CD235a-FITC/CD59-PE/CD71-APC. Помимо этого всем пациентам диагностика ПНГ проводилась согласно международному стандартизованному подходу на проточных цитометрах FC500 (Beckman Coulter) и BD FACSCANTOII (Becton Dickinson).

Были обследованы 572 пациента в возрасте от 12 до 82 лет, направленные с предварительным диагнозом или подозрением на пароксизмальную ночную гемоглобинурию, апластическую анемию, миелодиспластический синдром, аутоиммунную гемолитическую анемию. Из 572 обследованных ПНГ-клон был обнаружен у 175 пациентов (78 мужчин и 97 женщин), значения которого варьировали от 0,1 до 99,7% (медиана 41,6%).

Доказана высокая корреляция размера ПНГ-клона среди ретикулоцитов, гранулоцитов и моноцитов, определяемых двумя способами. Корреляция между значением ПНГ-клона среди ретикулоцитов и гранулоцитов составила 0,93, среди ретикулоцитов и моноцитов 0,95. Отсутствие ПНГ-клона в популяции ретикулоцитов полностью соответствовало такому же среди гранулоцитов, моноцитов и эритроцитов.

Таким образом, выявление ПНГ-клона среди ретикулоцитов отражает истинное его значение, сопоставимое с таковым в других популяциях лейкоцитов. Предложенная комбинация трех моноклональных антител (CD235a-FITC/CD59-PE/CD71-APC) позволяет проводить скрининг наличия ПНГ-клона, сократив время и стоимость одного исследования.

В.С. Медовый, А.М. Пятницкий, С.А. Панов, Б.З. Соколинский. Технологии сканирующей микроскопии в автоматизации медицинских морфологических анализов биоматериалов. Аналитический обзор. ООО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)», Москва

В последние годы на рынке появилась группа микроскопов-сканеров (МС) для автоматического производства цифровых копий («виртуальных слайдов», ВС) препаратов практически любых типов. Сканер освобождает врача от наиболее трудоемкой рутинной части анализа, создает рабочее место с современной информатикой. Производство ВС сопровождается автоматизацией загрузки, идентификации, картирования, определения областей интереса, сканирования областей интереса партии препаратов. Возможно применение проходящего света или люминесценции, любых сухих или иммерсионных объективов, тонких или толстых препаратов. Автоматический выбор области интереса в материале препарата осуществляется по макрострате по заданным диапазонам цветности и оптической плотности, возможен диа-

логовый выбор области интереса. Время изготовления ВС в современном МС обычно не превышает 1–2 мин. ВС в форме сплошной панорамы без искажений и потерь информации формируются в форматах, соответствующих стандартам телеморфологии (телемедицины). ВС хранятся в базе данных, к которой может быть организован удаленный интернет-доступ. Разработаны специализированные программные анализаторы (СПА), выполняющие количественный анализ ВС в соответствии с задачами конкретных методик анализа. Для анализа препаратов с низкой концентрацией объектов разработаны специализированные комплексы МС-СПА, в которых СПА участвуют в процессе сканирования. СПА в таких комплексах формируют вместо сплошной малоинформативной панорамы представительную модель препарата в форме компактных галерей портретов найденных объектов анализа. Применение МС, СПА, МС-СПА не только значительно повышает производительность труда, но и за счет увеличения объема и точности анализа исследуемого материала увеличивает чувствительность методики, создавая условия для более точной или ранней диагностики. В таблице отражены некоторые известные системы МС, СПА и МС-СПА.

Тип, название, производитель	Типы препаратов	Загрузка	Тип микроскопии	Тип модели препарата
МС Leica Aperio AT2, Leica Biosystems	цитология, гистология	до 400 стеклов	прох. свет	2D ВС
СПА IHC membrane/ nuclear analysis, Aperio	иммуногистохимия	-	прох. свет	2D ВС с выделением и статистикой маркеров
МС Panoramic 250 Flash II, 3DHISTECH	все типы	до 250 стеклов	прох. свет/люминесц.	2D или 3D ВС
МС-СПА DM96, Cellavision	мазки крови	до 96 стеклов	прох. свет	Галереи WBC, RBC, PT, кол. оценки
МСМЕКО-SCAN, МЕКОС	все типы	до 400 стеклов	прох. свет/люминесц.	2D или 3D ВС
МС-СПАМЕКО-HEMO, МЕКОС	мазки крови	до 200 стеклов	Прох. свет	Галереи WBC, RBC, PT, кол. оценки
СПА МЕКО-PARAS, МЕКОС	фекалии, смывы	-	Прох. свет	3DBC, галереи паразитарных объектов
СПА МЕКО-CHEM, МЕКОС	иммуногистохимия	-	Прох. свет	2D ВС с выделением и статистикой маркеров

Экономический аспект применения технологий сканирующей микроскопии связан с применением дешевых расходных материалов, с более эффективным использованием высококвалифицированного персонала, с возможностью коллективно дистанционно через Интернет обслуживать потоки анализов удаленных лабораторий, с экономикой более точной и ранней диагностики. Благодаря росту производства цены на МС, СПА, МС-СПА систематически снижаются, достигнув уровня цен массовых анализаторов других типов. Таким образом, применение систем сканирующей микро-

скопии является эффективным решением актуальных задач современной лаборатории.

В.Л. Эмануэль, С.Б. Ланда, А.В. Григорьев, Ю.В. Эмануэль, М.Ю. Севастьянова. Изучение диагностической информативности биофизических технологий (биокристалломика, динамическое светорассеивание) в лабораторной медицине. ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (СПбГМУ)» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Белок Тамма-Хорфалла является мажорным гликопротеином, в различных условиях может существовать в разных олигомерных формах с молекулярной массой от 1,5 до 28 МДа. Основная форма имеет молекулярный вес 7 МДа и представляет собой гибкую нить диаметром 4–5 нм и длиной 600 нм с гидродинамическим радиусом $102,4 \pm 3,56$ нм. При повышении ионной силы раствора эта форма образует полимерную форму из 4 нитей молекулярной массой 28 МДа, шириной 8–10 нм и длиной 1200 нм.

Целью настоящего исследования явилось изучение биофизических характеристик и особенностей количественных соотношений различных олигомерных форм БТХ при уролитиазе. Обследованы 80 человек клиники урологии Санкт-Петербургского университета им. И.П. Павлова с уролитиазом, верифицированного по совокупности клинико-инструментального и лабораторного обследования. Основным биофизическим методом исследования форм БТХ явился метод динамического светорассеивания на лазерном корреляционном спектрометре «ЛКС-03» (Россия).

После измерения нативной пробы проводили исследование изменений структурно-оптических характеристик при воздействии гуанидингидрохлорида в концентрации 6 М через 5, 30, 60, 120 и 240 мин. Изучение влияния рН, концентрации одновалентных катионов и мочевины на взаимные переходы форм БТХ.

Показано, что у здоровых людей в норме, когда концентрация солей в моче невысока и рН мочи находится в физиологическом интервале, БТХ существует в виде формы в 7 МДа. При повышении концентрации солей (т.е. ионной силы) или сильном закислении (снижении рН) в моче, происходит переход БТХ в полимерную форму 28 МДа. За счет повышенной жесткости форма этой формы БТХ существует в растворе в виде микрофибрил, которые образуют коллоидные структуры типа криогеля, препятствующие агрегации кристаллов оксалатов. Если концентрация катионов в моче снижается, происходит обратный переход к форме в 7 МДа, и система возвращается в исходное состояние. Таким образом, можно заключить, что биофизическая система здоровых людей, в основе которой находится БТХ, имеет некий «запас прочности», препятствующий образованию олигомерной формы в 28 МДа до пороговой концентрации соли в 250–300 мМ и рН, близкой к 4. Этот порог скорее всего обеспечивается сильным отрицательным зарядом на поверхности данной формы, который возникает из-за высокого содержания сиаловых кислот в молекуле нормального БТХ. При превышении порога начинается массовое образование формы в 28 МДа.

У больных уролитиазом данные «защитные механизмы», препятствующие агрегации формы БТХ (7 МДа), оказываются минимальными или исчерпанными, и образование формы БТХ в 28 МДа начинается уже в физиологическом интервале значений рН и ионной силы мочи. Скорее всего данный феномен связан с тем, что у больных уролитиазом имеется «биологический дефект» БТХ, возникающий на постгеномном уровне и связан с десиалированием БТХ и преобладанием форм, собранных из мономеров с низким поверхностным зарядом. Захват кристаллов оксалатов и уратов мицеллами БТХ в 28 МДа приводит к образованию устойчивых макрочастиц, выступающих центрами кристаллизации и образования конкрементов. По совокупности полученных данных предложен диагностический алгоритм (Роспатент 2504786).

М.Г. Залеский. Холодовая проба мочи – новый маркер патологических процессов в почках. ООО «Санаторий (курорт) «Краинка», Тульская область

При хранении мочи на холоде в ряде проб выпадает розово-красный осадок солей мочевой кислоты. Этот эффект носит название *sedimentum lateritium*. В известной литературе нет данных о частоте встречаемости данного эффекта среди исследуемых в клинико-диагностических лабораториях проб мочи и оценки его диагностической значимости в оценке патологических процессов в мочевыделительной системе.

Цель исследования – установить частоту встречаемости эффекта *sedimentum lateritium* среди исследуемых проб мочи и имеет ли он значение в диагностике заболеваний мочевыводящих путей.

Модель эффекта *sedimentum lateritium* в лабораторных условиях: утреннюю пробу мочи объемом 10 мл помещают в холодильник при температуре $+3-5^{\circ}\text{C}$ в течение 7 ч. Название модели «холодовая проба мочи» (ХПМ). Для проведения исследования методом ХПМ необходимы: пробирки, пипетки, штатив, термометр, часы, холодильник. В случае положительной пробы наблюдается помутнение мочи (образование кристаллов уратов) и образование гелеобразной субстанции – криогеля. Первым на дно опускается криогель, сверху на него опускаются образовавшиеся кристаллы – ХПМ положительная. В отрицательной пробе осадка не образуется.

Установлено, что криогель представляет собой высокомолекулярное соединение гликопротеид (уромукоид). Анализ физико-химических свойств растворенных в моче высокомолекулярных соединений позволяет сделать вывод, что выпадающий в осадок в результате охлаждения мочи криогель является тетрамерной формой белка Тамма-Хорсфалла. Результат сравнения данных, полученных в трех лабораториях разных регионов России, показывает, что процент выявляемых положительных ХПМ почти одинаков – 21,8–24% от всех исследуемых проб. Объем криогеля в положительных ХПМ в основном составляет 0,5–1,0 мл (5–10%) от общего объема охлаждаемой пробы мочи.

В 100 рандомизированных пробах мочи с положительными ХПМ белок был обнаружен в 40 пробах, повышенное количество лейкоцитов в 48, эритроциты в 54, гиалиновые цилиндры в 13, слизь в 55 пробах. В значительном количестве проб мочи с положительной ХПМ выявляются лабораторные признаки патологических процессов в почках.

Группе обследуемых с положительной ХПМ из 150 пациентов, состоящей из 83 женщин и 67 мужчин, было проведено ультразвуковое исследование почек. В результате исследования у 101 человека была выявлена МКБ, у 46 признаками воспалительных процессов в почках, 29 кист, 13 с признаками гидрокаликоза, у 4 – нефроптоз, у 3 – удвоение почки. У 36 пациентов наблюдались сочетанные заболевания.

При этом у 41 пациента с положительной ХПМ результаты лабораторных исследований мочи не превышают нормальных величин. Однако после исследований методом УЗИ у 30 из них установлена МКБ, у 17 человек признаки воспалительных процессов в почках, кисты у 7, у 3 гидрокаликоз и 1 нефроптоз, у 11 человек были сочетанные поражения почек. При отсутствии клинических проявлений эти пациенты не должны были бы быть включенными в группу урологических больных. У 9 пациентов с положительной ХПМ на УЗИ никаких патологических процессов в почках не выявлено. Возможно, что это доклиническая стадия, требующая дальнейшего наблюдения.

Между положительными ХПМ (криогелем в осадке) и результатами УЗИ почек прослеживается прямая зависимость. Осадок мочи, образующийся в результате ХПМ, состоит из студня (криогеля) и кристаллов мочевых солей и является маркером наличия патологических процессов в почках (патент № 2402769 «Способ формирования группы риска с заболеванием почек», приоритет от 27 апреля 2009 г.). Предлагаемый способ может быть использован в качестве скрининга заболеваний почек.

Неизвестный ранее эффект ХПМ после углубленных исследований и клинических испытаний может дополнить известные методы лабораторной диагностики почечных болезней.

О.В. Груздева, Ю.А. Дылева, Е.Г. Учасова, В.Н. Каретникова, Н.В. Федорова, В.В. Капиталап, О.Л. Барбараш. **Стимулирующий фактор роста ST2 – маркер раннего прогноза у пациентов с инфарктом миокарда.** ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово

Цель исследования: определить содержание ST2 и его взаимосвязь с клиническим течением инфаркта миокарда в динамике госпитального периода.

Обследованы 88 пациентов с инфарктом миокарда (ИМ), средний возраст которых составил $59 \pm 8,36$ года. На 1-е и 12-е сутки ИМ в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом содержание ST2 и NT-proBNP с помощью тест-систем фирм Criticaldiagnostics (США) и Biomedica (Словакия) соответственно. Контрольную группу составили 30 человек, сопоставимых по полу и возрасту. Статистический анализ данных проводился с помощью непараметрических критериев. Значение уровня $p < 0,05$ свидетельствовало о статистической значимости.

На 1-е сутки госпитального периода ИМ концентрация ST2 и NT-proBNP увеличивалась по сравнению с контролем в 2,4 и 4,5 раза соответственно. К 12-м суткам выявлено значимое снижение уровня ST2 в 2,5 раза, в то время как уровень NT-proBNP значимо не изменялся. В течение госпитального периода фиксировали осложнения ИМ (острую сердечную недостаточность, раннюю постинфарктную стенокардию, рецидив ИМ, жизнеопасные нарушения ритма сердца), по наличию которых пациенты были распределены на группы благоприятного ($n=58$) и неблагоприятного ($n=30$) течения ИМ. Содержание ST2 при неблагоприятном исходе госпитального периода на 1-е сутки было в 2 раза выше, чем у больных с благоприятным течением ИМ. У пациентов с неблагоприятным течением ИМ содержание ST2 было выше в 3,7 раза относительно показателей здоровых лиц. При этом неблагоприятное течение ассоциировалось с более высоким уровнем ST2 по сравнению с благоприятным течением. На 12-е сутки в обеих группах наблюдалось снижение уровня маркера (в 3,5 и 2 раза соответственно), однако группы между собой значимо не различались. На 1-е сутки ИМ уровень NT-proBNP был в 6,8 раза выше у пациентов с неблагоприятным прогнозом, чем в контрольной группе, и 1,8 раза, чем в группе благоприятного течения. На 12-е сутки уровень NT-proBNP оставался повышенным в обеих группах. В настоящее время концентрация ST2 выше 35 нг/мл свидетельствует о существовании повышенного риска осложнений при ИМ. Среди обследованных пациентов, уровень ST2 которых был < 35 нг/мл, было 32 человека, выше 35 нг/мл – 56. Индивидуальный анализ данных пациентов показал, что неблагоприятный исход ИМ был в обеих группах пациентов: у 5 человек с уровнем ST2 < 35 нг/мл и у 25 больных с содержанием ST2 > 35 нг/мл. С помощью логистического регрессионного анализа было выявлено, что увеличение концентрации ST2 повышало риск развития госпитальных осложнений в 1,7 раза (ОШ 1,7; 95% ДИ (1,6–2,8) AUG равно 0,78, $p=0,003$). В то время как увеличение NT-proBNP сопровождалось повышением развития неблагоприятного исхода лишь в 1,2 раза (ОШ 1,2; 95% ДИ (1,1–1,6) AUG равно 0,69, $p=0,034$). Определение ST2 в комбинации с NT-proBNP увеличивает их диагностическую значимость (ОШ 1,92; 95% ДИ (1,7–3,2) AUG равно 0,89, $p=0,004$).

Более чувствительным показателем течения госпитального периода ИМ является уровень ST2 по сравнению с NT-proBNP. Выявлена высокая диагностическая чувствительность и специфичность комбинированного использования ST2 и NT-proBNP. Наиболее неблагоприятное течение госпитального периода характерно для одновременного увеличения ST2 и NT-proBNP.

А.Н. Лебедева, В.А. Кубышкин, В.С. Демидова, О.В. Медова, В.В. Казенов. **Средний уровень глюкозы крови в раннем послеоперационном периоде как прогностический признак развития сахарного диабета в отдаленном послеоперационном периоде после резекций поджелудочной железы.** ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва

В исследование были включены 356 пациентов после проксимальных и дистальных резекций поджелудочной железы (ПЖ), страдающих хроническим панкреатитом, раком поджелудочной железы, раком большого сосочка двенадцатиперстной кишки, серозными и муцинозными цистаденомами.

Проводилась комплексная оценка состояния углеводного обмена по критериям ВОЗ (1999–2014 гг.) до операции, на протяжении 1–3 сут после операции и в отдаленном послеоперационном периоде до 1 года с последующим сравнительным анализом. Глюкозу определяли в плазме крови гексокиназным методом, гликированный гемоглобин HbA1c определяли на анализаторе NycocardReaderII.

Оценку ранних осложнений после проксимальных и дистальных резекций проводили по классификации Dindo-Claivien (1992 г.).

Обследованы 115 пациентов после дистальных резекций ПЖ и 241 пациент после проксимальных резекций ПЖ. Число пациентов до операции с сахарным диабетом (СД) до операции составило от 22 до 36%. После дистальных резекций возросло число пациентов с СД на 100%, после проксимальных резекций впервые выявленный СД составил 9–13%. Одинаковый характер нарушений углеводного обмена определялся после всех видов проксимальных резекций при разных исходных заболеваниях. Дистальные резекции вызывают наиболее выраженные изменения углеводного обмена. При раке ПЖ эти изменения наиболее значительны. В исследовании выявлено, что нормальный углеводный обмен имели 87% пациентов при среднем уровне глюкозы крови до 6 ммоль/л, при показателе 6–7,9 ммоль/л нормальный углеводный обмен до и после операции имели 72%, впервые выявленный СД имели 15% пациентов. При среднем уровне глюкозы крови 8–8,9 ммоль/л только у 48% больных определялся нормальный углеводный обмен как до, так и после операции; 40% имели впервые выявленный СД после операции. При среднем уровне более 9 ммоль/л у 60% пациентов, не имевших до операции СД, манифестировал СД, и только 18% остались в этой группе с нормальным углеводным обменом.

Число гнойных послеоперационных осложнений составило 30–85% в зависимости от исходного заболевания, вида операции и уровня гликемии в ближайшем послеоперационном периоде. В среднем уровень осложнений составил 39%. Наибольшее число осложнений (50–85%) выявлено в группе пациентов, которые до операции не имели СД, а после операции манифестировал СД.

Средний уровень глюкозы крови в раннем послеоперационном периоде после проксимальных и дистальных резекций ПЖ имеет прогностическое значение для оценки состояния углеводного обмена в отдаленном послеоперационном периоде.

Развитие гнойных осложнений в ближайшем послеоперационном периоде ассоциировано с уровнем гликемии в раннем послеоперационном периоде. Наибольшему риску развития гнойных послеоперационных осложнений подвергаются пациенты с хроническим панкреатитом, серозными и муцинозными цистаденомами, имеющие СД до операции, а также пациенты разных нозологических групп, у которых СД манифестировал после операции.

С.Н. Диденко^{1,2}, Л.Л. Михалева¹. **Исследование уровня стероидных гормонов в слюне у мальчиков 12–13 лет.** ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» г. Краснодар; ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма», г. Краснодар

В современном медико-биологическом мире определе-

ние уровня гормонов является необходимым элементом как в ежедневной практике, так и в научных целях. Особое значение гормонам отводится в период становления структурных и функциональных изменений систем организма, в том числе эндокринной. В качестве биологического материала многими исследователями в последнее время вместо сыворотки крови предлагается альтернативный биологический материал – слюна. Особое место в гормонотерапии слюноотделения заняли стероидные гормоны, что объясняется их липофильностью и освобождением от связи с транспортными белками, что повышает проницаемость гемасаливарного барьера для этих гормонов. Доступность протоков и особенности регуляции слюноотделения создают удобства для исследования секрета желез, не требующих специальных условий для сбора материала. Однако, несмотря на многочисленные научные публикации, подобные исследования не нашли достаточного применения в практических исследованиях у детей, что, видимо, сопряжено с рядом трудностей (физиологические особенности детского организма и др.), в том числе отсутствием референтных значений в зависимости от возрастной и половой принадлежности.

Цель исследования – изучение гормонального состава слюны на примере гормонов: тестостерона, кортизола, $17\alpha\text{ОН}$ – прогестерон у мальчиков 12–13 лет.

Первая группа ($n = 30$) состояла из практически здоровых (прошедшие медицинское обследование) мальчиков в возрасте 12–13 лет, не занимающихся спортом. Наблюдаемые второй группы этого же возраста – юные спортсмены ($n=23$). Наблюдение осуществлялось на базе МБОУ УДОД ГДЮСША г. Краснодар, исследования на базе ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» г. Краснодар.

Сбор слюны осуществляли утром до 10 ч утра. Для сбора слюны использовали SaliCap Set (система для сбора образцов слюны). Определение проводилось с помощью иммуноферментных наборов для количественного определения Diagnostics Biochem Canada Inc, основанных на иммуноферментном анализе с использованием конкурентного связывания (анализатор SANRAIS, TECAN, Швейцария).

Все расчеты проводились с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Как показали полученные данные, уровень концентраций кортизола в слюне составил у первой группы $23,2 \pm 1,4$ (M \pm m) и $27,3 \pm 2,5$ нг/мл у второй группы. Средние показатели групп по содержанию тестостерона: первая группа — $154 \pm 6,7$ пг/мл и $193 \pm 8,9$ пг/мл во второй группе. Содержание $17\alpha\text{ОНП}$ в обеих группах было на одном уровне и составило: $25,3 \pm 2,5$ и $25,2 \pm 5,2$ нг/дл в первой и второй группах соответственно. В результате проведенного исследования достоверно значимые межгрупповые отличия выявлены в среднем содержании тестостерона: у юных спортсменов данный показатель был выше, чем у не занимающихся спортом сверстников ($p < 0,05$). Это различие является результатом ответной реакции на систематическую физическую нагрузку, представляющую собой ежедневное действие стрессорного фактора. Среднее содержание кортизола и тестостерона превысило нормальные показатели, приведенные в инструкции производителем наборов. Это увеличение связано в первую очередь с выработкой половых стероидов, которые обеспечивают становление и функционирование репродуктивной системы в период полового созревания.

Полученные нами данные свидетельствуют о необходимости определения референтных интервалов содержания гормонов в слюне в зависимости возраста, пола, стадии полового созревания, региона пребывания, социальных аспектов и т.д.

Н.С. Николаев, Н.Ю. Добровольская, Л.В. Борисова, А.В. Орлова, Н.П. Прищепина. **Использование метода тромбодинамики для контроля эффективности антикоагулянтов.** ФБГУ «ФЦТОЭ» Минздрава России, г. Чебоксары

Наиболее опасными послеоперационными осложнениями при эндопротезировании крупных суставов являются

тромбозы глубоких вен нижних конечностей с последующей тромбоэмболией легочной артерии. Частота данного осложнения при отсутствии тромбопрофилактики в ортопедической практике варьирует от 3,4 до 60%.

Цель исследования – оценить роль метода тромбодинамики для разработки эффективной и безопасной схемы антикоагулянтной профилактики при эндопротезировании крупных суставов.

В зависимости от способа введения антикоагулянта было сформировано три группы пациентов по 50 человек в каждой с патологией тазобедренного сустава. Средний возраст исследуемых составил $55,8 \pm 12,7$ года. Первой группе пациентов назначался эноксапарин 40 мг подкожно за 10–12 ч до операции, далее через 10–12 ч однократно подкожно в такой же дозе, затем 1 раз в сутки по 40 мг подкожно в течение 5 дней. После этого пациент переводился на однократный прием дабигатрана этамзилата внутрь в дозе 220 мг ежедневно в течение 35 дней. Второй группе пациентов до операции эноксапарин не вводился, его вводили подкожно в дозе 40 мг через 10–12 ч после операции, далее в этой же дозе подкожно в течение 5 сут, затем дабигатран этамзилат по 220 мг внутрь в течение 35 дней. Третьей группе пациентов низкомолекулярный гепарин не вводился, через 1–4 ч после операции назначался дабигатран этамзилат внутрь по 110 мг, далее 1 раз в сутки по 220 мг в течение 35 дней.

Определялись следующие параметры: коагулограмма (фибриноген, Д-димер, АЧТВ, тромбиновое время в двух разведениях), тромбозластограмма (R-время начала свертывания, МА – показатель агрегации тромбоцитов), тромбодинамика (V – скорость роста сгустка, процент спонтанных сгустков). Исследования проводились при поступлении в стационар (до операции), на первые и пятые сутки после операции.

По данным тромбозластограммы выявлено, что наибольшая гипокоагуляция в послеоперационном периоде, как плазменная ($8,4$ против $6,9$ и $7,2$), так и тромбоцитарная ($72,5$ против $78,5$ и $77,2$), достигнута в третьей группе. По данным коагулограммы, на пятые сутки после операции в третьей группе на фоне приема дабигатрана этамзилата наблюдается выраженная гипокоагуляция: самый низкий уровень фибриногена ($5,1$ против $5,7$ и $5,9$ соответственно в 1-й и 2-й группах) и Д-димеров ($348,4$ против $377,2$ и 392), высокий уровень АЧТВ (35 против $30,7$ и 32). Несмотря на то что в третьей группе, по данным тромбодинамики, скорость роста сгустка максимальная, процент образования спонтанных сгустков в этой группе минимальный. В третьей группе перевод на лечебные дозы антикоагулянтов наблюдался в два раза реже, чем в других группах.

Тромбодинамика является наиболее чувствительным методом для оценки эффективности действия прямых пероральных антикоагулянтов, позволяет оценить скорость роста сгустка и процент его спонтанного образования, что дает возможность спрогнозировать развитие тромбоэмболических осложнений. При оценке динамики показателей гемостаза с помощью современных методов лабораторной диагностики у пациентов при эндопротезировании тазобедренного сустава выявлено, что наиболее эффективная и безопасная схема антикоагулянтной профилактики соответствует третьему режиму введения препаратов.

Т.Л. Замотаева, А.Н. Миненко, А.С. Коновалов, Е.А. Черкашин, Ю.Л. Лебедева. **Термолabileная урацил-ДНК-гликозилаза – эффективный способ борьбы с контаминацией.** ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

На сегодняшний день метод ПЦР является неотъемлемой частью современной лабораторной диагностики. Компании, производящие оборудование и реагенты для ПЦР, ведут постоянную работу по улучшению существующих и созданию новых приборов, увеличению специфичности и производительности работы ферментов. В то же время контаминация продуктами амплификации является одной из самых больших проблем для работы в ПЦР-лаборатории. Чаще всего это

происходит из-за так называемого человеческого фактора. В таком случае приходится останавливать работу лаборатории и проводить меры, направленные на сбор и удаление ампликонов.

Урацил-ДНК-гликозилаза (УДГ) представляет собой фермент, ген которого обнаружен в различных организмах от бактерий до человека. Основной функцией данного фермента является выщепление остатков урацилов из молекул ДНК. Идея использовать УДГ в качестве ферментативного способа борьбы с контаминацией впервые была описана в 1990 г., в дальнейшем зарубежные производители (например, RocheDiagnostic) начали вводить УДГ во все наборы реагентов для ПЦР-диагностики.

Техника использования УДГ в ПЦР требует прежде всего обязательной замены тиминов (dTTP) на урацилы (dUTP) при проведении амплификации. С помощью направленного мутагенеза удалось добиться того, что специфичность современных полимераз и обратных транскриптаз по встраиванию урацилов в цепь ДНК практически не отличается от специфичности к встраиванию тиминов. Полученные таким образом ампликоны содержат урацилы. В случае попадания такой молекулы в ПЦР повторно она амплифицироваться не будет, поскольку УДГ, содержащаяся в ПЦР, гидролизует связь между цепью ДНК и содержащимися в ней урацилами. Следует отметить, что для потери способности амплифицироваться достаточно выщепления лишь одного остатка урацила из каждой цепи ДНК ампликона. В то же время ДНК, выделенная из клинического материала, не содержит урацилов и, соответственно, не является субстратом для УДГ.

Сотрудниками ЦНИИ эпидемиологии проведен анализ баз данных по ферментам, на основании которого было принято решение произвести сборку гена из праймеров, клонировать и создать экспрессионную конструкцию для УДГ тл из трески. Данный фермент был выбран не случайно: он является термолабильным, высокопроцессивным и необратимо теряющим свою активность при нагревании. Эти свойства делают его потенциально хорошим объектом для применения в наборах реагентов для ПЦР. В результате был получен штамм продуцент УДГ тл в клетках *E. coli* с высоким уровнем экспрессии. Далее фермент был наработан, очищен и охарактеризован функционально. Разработанная методика измерения ферментативной активности УДГ тл с использованием флуоресцентных зондов позволила отказаться от классического способа измерения активности ферментов, основанного на применении радиоактивных меток.

Эксперименты по внедрению УДГ тл в наборы реагентов для выявления вируса гепатита В показали отсутствие влияния на аналитические характеристики набора. Вместе с тем фермент способен разрушить больше 10^4 молекул ампликонов, попавших в реакцию. Поскольку контаминация характеризуется попаданием в пробирку для амплификации в среднем 10^3 молекул ампликона и меньше, то на примере данного набора можно сделать вывод, что применение УДГ тл является эффективным средством для борьбы с контаминацией.

Е.А. Дунаева¹, Т.Н. Субботина^{2,3}, К.О. Миронов¹, И.А. Ольховский^{3,4}, Г.А. Шипулин¹. COLD-PCR – эффективный способ повышения чувствительности при выявлении мутации V617F в гене JAK2. ¹ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия; ²ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; ³Красноярский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Красноярск, Россия; ⁴ФГБУН «Красноярский научный центр» СО РАН, Красноярск, Россия

Среди Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний (ХМПЗ) наиболее часто встречается соматическая мутация V617F в гене JAK2. Определение мутации V617F необходимо для дифференциальной диагностики ХМПЗ и выбора оптимальной тактики лечения. Достаточно часто при обнаружении мутации аллельная нагрузка мутантной фракции составляет менее 10%. В связи с этим повы-

шение чувствительности методик, направленных на выявление мутации V617F, является важной задачей лабораторной диагностики ХМПЗ. При исследовании образцов с низкой нагрузкой мутантных фракций ДНК одним из эффективных подходов для повышения чувствительности является COLD-PCR.

Цель – апробация методики COLD-PCR с последующим пиросеквенированием для выявления мутации V617F в гене JAK2 и исследование клинических образцов, полученных от пациентов с подозрением на ХМПЗ.

Для выявления мутации V617F использована методика пиросеквенирования с применением наборов реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии») и «PyroMark®GoldReagents» («Qiagen», Германия). Для определения оптимальных параметров проведения COLD-PCR проведена многократная серия постановок амплификации контрольного образца, не содержащего мутацию, при которой в каждой серии постановок ПЦР температура денатурации снижалась на 0,1 °С до тех пор, пока продукт амплификации не переставал нарабатываться. Контроль образования ПЦР-продукта проводился методом электрофореза в 1,7% агарозном геле. Минимальная критическая температура (T_c) – температура, при которой может образовываться ПЦР-продукт, – составила 77 °С. После определения T_c проводилась COLD-PCR с клиническими образцами, полученными от пациентов с подозрением на ХМПЗ, которые ранее были охарактеризованы как отрицательные/сомнительные с использованием стандартного протокола. Амплификация проводилась по программе: 95 °С – 15 мин; 95 °С – 15 с, 60 °С – 15 с, 72 °С – 20 с (5 циклов); T_c – 15 с, 60 °С – 15 с, 72 °С – 20 с (40 циклов). Параллельно с клиническими образцами анализировались контрольные образцы, не содержащие мутацию, и контрольные образцы с долей мутантной фракции 0,5 и 1%.

В результате проведения «обогащения» мутантной фракции в пробах методом COLD-PCR значения нагрузки в контрольных образцах, содержащих 0,5% ДНК с мутацией, составили 18–25%, для образцов, содержащих 1% мутантной фракции, – 22–36%. Значения аллельной нагрузки в контрольных образцах, не содержащих мутацию, составили 0–4%, что соответствует значениям фоновых колебаний методики пиросеквенирования. При тестировании 54 клинических образцов было выявлено 9 образцов, которые содержали мутацию V617F, так как детектировались с высокими значениями аллельной нагрузки – от 16 до 75%. Один образец из 54 имел значения аллельной нагрузки 4–10% и был охарактеризован как сомнительный. Остальные 44 клинических образца не имели результатов, отличающихся от значений, полученных при пиросеквенировании контрольных образцов, не содержащих мутацию V617F.

Предложенный протокол проведения COLD-PCR позволил увеличить чувствительность выявления мутации V617F в гене JAK2, что дало возможность дополнительно выявить присутствие мутации в клинических образцах с низкой нагрузкой у 9 (17%) пациентов из 54 с подозрением на ХМПЗ.

Т.С. Киселева, Б.Ю. Гумилевский. Роль полиморфизма RHE-412 LEU гена TLR 3 в персистенции папилломавирусной инфекции шейки матки у женщин Волгоградской области. ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Волгоград

На протяжении нескольких лет ведется активное изучение функций врожденной иммунной системы против вируса папилломы человека (ВПЧ). При неадекватном или недостаточном иммунитете вирус не элиминируется, что обуславливает его персистенцию и возможное развитие предраковых и раковых заболеваний шейки матки. Первую линию защиты организма от проникновения чужеродного материала осуществляет врожденный иммунитет, опосредованный через паттерн-распознающие рецепторы, в частности Toll-рецепторы. Активация механизмов естественной резистентности потенцирует адаптивный иммунный ответ, что в ко-

нечном счете приводит к появлению стойкого и эффективно-го иммунитета. У человека всего было идентифицировано и охарактеризовано более 10 TLR. Среди них 3, 7, 8 и 9 играют решающую роль в противовирусном иммунитете, стимулируют продукцию интерферонов всех типов. TLR 1, 2, 4, 5 и 6-го типов распознают молекулярные структуры клеточной стенки и жгутиков бактерий.

Восприимчивость человека к инфекциям может определяться генетическими полиморфизмами генов рецепторов врожденного иммунитета, что играет важную роль в предрасположенности и тяжести инфекционных заболеваний. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в TLR приводят к нарушению распознавания патогенов и, следовательно, снижению восприимчивости организма к действию инфекционных агентов. В последние годы ведутся работы по поиску ассоциаций SNP в генах TLR с патологическими состояниями на уровне слизистых оболочек, в том числе при заболеваниях урогенитального тракта.

Цель – изучить роль полиморфизма Phe-412 Leu TLR 3 в формировании резистентности вируса папилломы человека к факторам врожденного иммунитета.

Задачи – охарактеризовать распределение полиморфизма Phe-412 Leu TLR 3 у женщин с персистирующей формой папилломавирусной инфекции высокого онкогенного типа (ВОТ) Волгоградской области. Оценить связь полиморфных вариантов Phe-412 Leu TLR 3 с персистенцией ВПЧ 16, 18 типов.

Обследованы 200 женщин в возрасте 18–62 лет, из анамнеза которых известно наличие ВПЧ ВОТ. Всем пациентам определяли наличие ВПЧ 16 и 18 типов методом ПЦР по конечной точке. В зависимости от присутствия вируса женщины были разделены на две группы: 1 – с персистенцией ВПЧ 16, 18 типов (ВПЧ +); 2 – отсутствие вируса (ВПЧ -). Статистическая обработка данных включала использование критериев непараметрической статистики.

Полученные в ходе исследования результаты позволили установить, что у пациенток с персистенцией ВПЧ частота встречаемости гомозиготы Phe/Phe была 4%, что значительно меньше, чем в группе женщин без ВПЧ (14%). В то же время гомозиготный фенотип Leu/Leu у пациенток с персистирующей папилломавирусной инфекцией встречался чаще, чем у женщин без ВПЧ (56 и 37% соответственно). Таким образом, полиморфизм Phe-412 Leu гена TLR 3 связан с персистенцией папилломавирусной инфекции и может быть точкой приложения как для диагностики, так и для фармакологической иммунокоррекции.

О.Г. Григорук, Т.А. Москвина, К.В. Шульц, А.Ф. Лазарев.
Цитологическая диагностика аденокарциномы по материалу с шейки матки. Алтайский филиал ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина; КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

Показатель онкогинекологической заболеваемости в Алтайском крае в 2014 г. составил 31,9 на 100 тыс. у женщин при раке эндометрия; 23,1 – раке шейки матки; 18,7 – раке яичников. В последние годы неуклонно растет частота возникновения рака эндометрия. Прирост «грубого» показателя за 10 лет в динамике наиболее отмечен при раке эндометрия, который составил 32,3% (18,1% – при раке шейки матки и 4,3% – при раке яичников). Данный факт получил свое отражение при диагностике онкологических заболеваний гениталий, при которых широко используется цитологический метод.

Преобладающим морфологическим вариантом рака эндометрия является аденокарцинома различной степени дифференцировки, в шейке матки аденокарцинома встречается редко. Однако за последние годы число аденокарцином шейки матки значительно выросло, в настоящее время они составляют до 20% (Ю.Ю. Андреева, Г.А. Франк, 2014). Аденокарцинома яичника в цитологическом материале преимущественно диагностируется в пунктатах через задний свод

влагалища и асцитической жидкости, в доступной литературе нами не обнаружено сведений о результатах цитологического исследования метастаза аденокарциномы яичника в шейке матки.

Цель исследования: оценить информативность цитологического метода при диагностике аденокарциномы шейки матки и провести сравнительный анализ с окончательным диагнозом с учетом клинических данных.

Проанализированы результаты цитологических исследований больных с аденокарциномой, диагностированной на шейке матки у 106 пациенток, проходивших лечение в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» в 2012–2014 гг. Полученный при гинекологическом осмотре женщин клеточный материал с шейки матки окрашивали по методу Паппенгейма. Результаты ретроспективно были сопоставлены с данными канцер-регистра краевого онкологического диспансера и гистологического изучения операционного материала.

Установленный диагноз аденокарциномы по материалу, взятому с шейки матки, соответствовал: 1) аденокарциноме эндометрия – 55 (51,9%) наблюдений; 2) шейки матки – 29 (27,4%) женщин; 3) метастазу рака яичника – 13 (12,3%) случаев; 4) других метастазов – аденокарциномы толстого кишечника 4 (3,8%) пациентки, прямой кишки у одной больной (0,9%), аденогенного и перстневидно-клеточного рака желудка у 3 женщин (2,8%), а также муцинозной аденокарциномы неустановленного органа – у одной (0,9%) больной.

Средний возраст пациенток с диагнозом аденокарциномы эндометрия и метастаза серозного рака яичника составил $60,68 \pm 6,21$ и $60,08 \pm 13,67$ года соответственно, при метастазе из не репродуктивных органов $62,25 \pm 13,86$ года. Пациентки с аденокарциномой шейки матки отличались более молодым возрастом – $48,13 \pm 14,35$ года.

Аденокарцинома, происходящая из клеток эндометрия, наблюдаемых нами в мазке с шейки матки, характеризовалась различием клеток опухоли в зависимости от степени дифференцировки. Ретроспективно установлено, что высокодифференцированные формы аденокарциномы эндометрия составили 21 (38,2%) наблюдение, 29 и 5 (52,7 и 9,1% соответственно) при умеренной и низкой дифференцировке. I и II стадии заболевания у данных женщин установлены в 16 и 12 наблюдениях, в III и IV стадии – у 16 и 11 женщин соответственно.

Аденокарцинома шейки матки диагностирована у женщин с I и II стадией заболевания в 5 и 10 наблюдениях, у 3 – в III стадии. В 11 наблюдениях при гистологическом исследовании аденокарцинома шейки матки соответствовала карциноме *in situ*. В цитологических препаратах клеточные скопления образовывали железистоподобные комплексы.

В метастазах аденокарциномы яичника в мазке с шейки матки отличительных признаков от аденокарцином эндометрия и шейки матки не отмечено. При изучении препаратов метастаза аденокарциномы кишечного типа установлено, что комплексы представлены высокими опухолевыми клетками с частокольным расположением ядер, подобно расположению клеток в кишечном эпителии. Метастаз перстневидно-клеточной карциномы желудка в препарате с шейки матки отличался присутствием перстневидных клеток опухоли среди клеток плоского и цилиндрического эпителия. Также единичные перстневидные клетки наблюдали при метастазе аденокарциномы у двух женщин, ранее оперированных по поводу рака желудка. Слизистых масс не отмечено при метастазе муцинозной аденокарциномы из неустановленного первичного органа.

Выводы: 1) цитологическая верификация аденокарциномы в материале, полученном с шейки матки, является высокоинформативным методом, позволяющим оценивать как первичные аденокарциномы шейки матки, так и метастатические поражения; 2) при аденокарциномах шейки матки, эндометрия и яичника специфических характеристик для каждого вида не отмечено; 3) метастатические аденокарциномы кишечного

типа имеют характерное «частокольное» расположение клеток в комплексах, что позволяет верифицировать опухоль так же, как и метастаз перстневидно-клеточного рака из желудка.

Е.В. Гладкова, Е.В. Карякина, И.А. Мамонова, А.С. Федоники, И.В. Бабушкина, Д.М. Пучиньян, Е.Е. Царева. **Особенности иммунного статуса у пациентов с остеодефицитом и заболеваниями крупных суставов.** ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава РФ, Саратов, Россия

Участие проостеокластогенных факторов в репарации костной ткани может быть реализовано посредством влияния на пролиферацию и активацию остеокластов, роль иммунокомпетентных клеток при этом требует дальнейших исследований.

Цель – изучение особенностей цитокинового профиля сыворотки крови и субпопуляционного состава лимфоцитов у пациентов с остеоартрозом (ОА) в зависимости от состояния метаболизма костной ткани.

В исследовании принимали участие 90 пациентов с ОА в возрасте 48–70 лет. 20 мужчин и 40 женщин с остеопорозом составили опытную группу, 30 человек без нарушений репарации костной ткани – группу сравнения. Всем пациентам определяли цитокиновый профиль сыворотки крови (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10), маркеры костной резорбции (фрагменты коллагена 1 типа – SerumCrossLaps) и костеобразования (ВАР – костно-специфическую щелочную фосфатазу) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием микропланшетного ридера «Epoch™» (Biotec, США). Исследования показателей клеточного иммунитета: типирование лимфоцитов периферической крови с определением числа Т-, В-, НК-клеток – проводилось методом лазерной проточной цитофлуориметрии на цитометре FACSCantoII (BD, США). Кроме того, обследование включало определение минеральной плотности костной ткани при проведении стандартной двуэнергетической абсорбциометрии (DXA) с использованием Hologic Discovery QDR (США).

У большинства пациентов с ОА (53 человек) снижение минеральной плотности костной ткани сопровождалось уменьшением на 8,1% ($p < 0,05$) содержания ВАР и повышением на 4,4% (SerumCrossLaps). Признаки остеодефицита характеризовались существенным ($p < 0,05$) увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в биологических средах организма. Содержание противовоспалительных цитокинов оставалось либо в пределах нормальных значений, либо даже несколько снижалось. У ряда пациентов с нормальной плотностью костной ткани выявили активизацию процессов резорбции костной ткани на 11,6%, которая также сопровождалась дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов. Нарушение ремоделирования костной ткани у пациентов с ОА с формированием отрицательного костного баланса характеризовалось уменьшением на 9,2% ($p < 0,05$) общего количества (CD3⁺) и на 8,6% (CD8⁺) при некотором возрастании относительного количества Т-хелперов при отсутствии каких-либо изменений со стороны общего содержания В-лимфоцитов.

У ряда пациентов с ОА и признаками остеопороза отмечают наряду с нарушением процессов репарации костной ткани наличие признаков дисбаланса в соотношении про- и противовоспалительных цитокинов сыворотки крови, и недостаточность Т-клеточного звена иммунитета, что усугубляет структурно-метаболические нарушения у данной категории пациентов.

Е.П. Трусова, Б.Ю. Гумилевский. **Оценка роли полиморфизма C-589T гена интерлейкина-4 в формировании предрасположенности к atopическому дерматиту.** ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», ГБУЗ НИИГТП ФМБА РФ, Волгоград, Россия

Многочисленные исследования показали наследственные основы atopических заболеваний, среди которых одним из социально значимых является atopический дерматит (АтД). АтД характеризуется хроническим воспалительным заболеванием кожи, которое проявляется кожным зудом и лихе-

низацией. Для заболевания характерно раннее развитие, хроническое рецидивирующее течение. В патогенетической основе развития болезни лежит гиперпродукция иммуноглобулина Е (IgE), уровень которого регулируется цитокинами, где интерлейкин-4 (ИЛ-4) отведена одна из важных ролей. Уровень ИЛ-4 может меняться при изменении степени экспрессии гена, что может привести к формированию патологического фенотипа. Поэтому изучение частоты встречаемости полиморфизма C-589T гена ИЛ-4 поможет оценить вклад данной мутации в понимание формирования АтД.

Цель – оценить роль SNP мутации C-589T промоторного участка гена ИЛ-4 в развитии АтД у людей, проживающих в Волгограде и Волгоградской области.

Задачи – определить распределение полиморфных вариантов C-589T гена ИЛ-4 у пациентов с АтД и оценить роль данного полиморфизма в патогенезе заболевания.

Сбор и исследование биологического материала проводились на базе МУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2» г. Волгограда, где пациенты с АтД получали консультацию, лечение и обследование у врача аллерголога-иммунолога. Для исследования частоты встречаемости полиморфизма C-589T гена ИЛ-4 были отобраны 110 человек в возрасте от 2 до 25 лет: 60 человек с АтД и 50 здоровых пациентов. Выборка проводилась по следующим критериям: наличие анамнеза, характерного для АтД, типичных клинических симптомов АтД, положительные аллергопробы, уровень общего IgE > 200 МЕ/мл. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма C-589T промоторного участка гена ИЛ-4 проводился с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В результате проведенного исследования полиморфизма C-589T гена ИЛ-4 было выявлено, что частота встречаемости мутантной аллели у пациентов с АтД значительно не различалась от здоровых ($\chi^2 = 1,5$, $p > 0,05$). Таким образом, полиморфизм C-589T гена ИЛ-4 не имеет большой значимости в патогенезе АтД.

Установлено отсутствие ассоциации полиморфизма C-589T промоторного участка гена ИЛ-4 с АтД у пациентов, проживающих в Волгограде и Волгоградской области. Необходимо изучение других генов-кандидатов для оценки их участия в патогенезе АтД. Это поможет в разработке ранней диагностики и оценке риска развития АтД, а при наличии уже имеющегося заболевания – прогнозированию тяжести течения болезни.

И.А. Жаркова¹, М.К. Гайнуллина¹, Э.А. Имельбаева², А.Ж. Гильманов². **Цитокиновый профиль сыворотки крови у работников конно-спортивного предприятия.** ¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»; ²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

Верховая езда традиционно считается оздоравливающим видом спорта. Катание верхом (иппотерапия) используется при лечении многих заболеваний, в том числе у детей; общение с животными оказывает благотворное воздействие на психическое здоровье, снижает стресс и нервное напряжение. Вместе с тем воздействие на организм профессиональных факторов в конном спорте практически не изучено.

В рамках периодических медицинских осмотров нами проведено обследование 113 работников конно-спортивного предприятия «Акбузат» (г. Уфа); его целью явилась оценка иммунной реактивности организма работающих. По характеру производственной деятельности и степени контакта с животными обследованные лица были разделены на две группы: 1-я (основная) – работники профессий, связанных с уходом за животными (коневоды, работники ветеринарной службы) или с конным спортом (наездники) – 66 человек (58,4%); 2-я (группа сравнения) – работники вспомогательных профессий (административно-хозяйственная часть, бухгалтерия) – 47 человек (41,6%). Средний возраст обследованных составлял 40±1,4 года, стаж работы на предприятии – 12±1,2 года. В зависимости от стажа работы и длительности контакта с произ-

водственными факторами (от 1 года до 20 лет и более) обследованные были дополнительно разделены на 5 подгрупп.

Были проведены исследования спонтанной продукции цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и молекул межклеточной адгезии sICAM-1 по их концентрации в сыворотке крови и слюне методом ИФА с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) и наборов «HumansICAMELI-SA» фирмы «BenderMedSystems» (Австрия). Наряду со спонтанной проводили определение митоген-индуцированной продукции цитокинов клетками крови. При анализе результатов использовалась описательная математическая статистика, достоверность различий ($p < 0,05$) оценивалась непараметрическими методами.

Согласно полученным результатам, уровень ИЛ-2 в сыворотке крови у лиц основной группы был в целом втрое выше, чем в группе сравнения, а митоген-индуцированный синтез ИЛ-2, напротив, ниже (в среднем в 28 раз). Уровень ИЛ-2 при малом стаже работы на предприятии (от 1 до 5 лет) превышал контрольные значения в 25 раз; от 6 до 10 лет – в 130 раз; от 11 до 15 лет – в 20 раз; от 16 до 20 лет – в 65 раз; более 20 лет – был в 15 раз ниже данных контроля. Как спонтанная, так и митоген-индуцированная продукция ИЛ-4 клетками крови у работников основной группы не отличалась от уровня в контроле, в то время как митоген-индуцированная продукция ИЛ-10 была повышена в среднем в 6 раз по сравнению с контролем у большинства рабочих основной группы (89,5%). Содержание sICAM-1 в сыворотке крови было повышено в сравнении с нормативными данными у 80% обследованных в обеих группах, в связи с чем средние показатели по группам не различались (1-я группа – $433,5 \pm 34,4$ нг/мл, 2-я – $425,4 \pm 23,6$ нг/мл), но показатель изменялся в зависимости от длительности контакта с производственными факторами, превышая референтные значения в 1,8–2,7 раза.

Уровень цитокинов в слюне обследуемых был существенно ниже, чем в сыворотке. ИЛ-2 и ИЛ-4 в ротовой жидкости не выявлялись, а концентрация ИЛ-10 составляла $1,5 \pm 1,5$ пг/мл. Уровень sICAM-1 в слюне в основной группе составлял $56,0 \pm 19,3$ нг/мл и зависел от производственного стажа, в группе сравнения – $26,7 \pm 9,8$ нг/мл ($p < 0,01$). Концентрация sICAM-1 служит косвенным показателем активации клеток эндотелия, исполняющего антиген-презентирующую роль и участвующего как в быстрых реакциях (гиперчувствительность немедленного типа, травма и др.), так и в регуляции относительно медленных процессов иммуногенеза, в которых он испытывает существенное влияние со стороны лимфоцитов.

Полученные данные позволяют сделать заключение о напряженности иммунитета у работников конно-спортивного предприятия, более выраженного у лиц, непосредственно контактирующих с животными и имеющих стаж работы на предприятии от 1 до 10 лет. Снижение митоген-индуцированной продукции ИЛ-2 клетками крови у работников основных профессий, возможно, компенсируется мобилизацией приспособительных реакций с гиперпродукцией молекул межклеточной адгезии sICAM-1. Поскольку одна из функций растворимых молекул адгезии состоит в ограничении мигрирующей способности клеток в очаг воспаления, то не исключено, что повышение их уровня в крови у работников конного спорта связано с торможением процессов клеточной миграции и адгезии.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы «Гигиеническое обоснование минимизации рисков для здоровья населения России» на 2011–2015 гг., утвержденной Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по теме «Оптимизация региональной профпатологической помощи работникам сельского хозяйства».

Л.Б. Маснашева, И.В. Кудалева, О.В. Попкова, О.А. Дьякович. Встречаемость повышенных уровней специфических аутоантител у здоровых детей сельской местности Восточной Сибири. ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Ангарск

Естественные процессы клиренса организма от клеток, подвергшихся апоптозу, обуславливают незначительные количества аутоантител (ауто-АТ) в крови здоровых людей. В норме содержание специфических ауто-АТ в сыворотке крови колеблется в узких диапазонах, но при развитии адаптационных или патологических процессов происходит изменение их продукции (Полетаев А.Б., 2011).

Целью исследования явилось изучение встречаемости повышенных уровней специфических аутоантител у здоровых детей сельской местности Восточной Сибири.

При скрининговом обследовании 79 детей, проживающих в сельской местности Восточной Сибири, методом иммуноферментного анализа при помощи тест-набора (ЭЛИ-Висцеро-Тест-24 «Иммункулюс») изучено содержание специфических ауто-АТ, характеризующих состояние основных органов и систем.

Установлено, что отклонение от референтных значений (-20 – +10%) содержания ауто-АТ к нативной ДНК, к β 2-гликопротеину I и к Fc-фрагменту IgG, которые характеризуют состояние иммунной системы, встречались в 10,1, 17,7 и 8,9% случаев соответственно. Выявлены случаи повышенных уровней ауто-АТ, отражающих состояние сердца (ауто-АТ к структурным антигенам миокарда (CoM) и к β 1-адренорецепторам (β 1-AR)) и сосудистой системы (ауто-АТ к антигенам мембран тромбоцитов (TgM) и цитоплазматическим антигенам нейтрофилов (ANCA)). Среди школьников 34,2% обследованных имели гипериммунореактивность ауто-АТ CoM. Повышенные уровни ANCA и β 1-AR встречались значительно реже – у 6,3 и 1,3% детей соответственно, высокие уровни TgM выявлено не было. Состояние нервной системы оценивали по уровню ауто-АТ к белку S100, основному белку миелина (ОБМ) и белку промежуточных филаментов астроцитов (GFAP). Их повышенная иммунореактивность отмечалась в 13,9, 3,8 и 8,8% случаев. Относительное содержание специфических ауто-АТ к мембранному и цитоплазматическому антигенам легочной ткани (LuM и LuS соответственно) выше референтных уровней выявлено у 29,1% и 17,7% обследованных соответственно. Гипериммунореактивность ауто-АТ к цитоплазматическим и мембранным антигенам почечной ткани (Kis и KiM соответственно) выявлена у 20,2 и 13,9% детей. Около половины (53,2%) обследованных имели повышенные уровни ауто-АТ к инсулину (Ins), при этом не установлено случаев превышения референтных значений в содержании ауто-АТ к рецепторам инсулина (Ins-R), что может указывать на развитие панкреатита. Отклонения в содержании ауто-АТ к цитоплазматическим антигенам ткани печени (Hes) и антигенам митохондрий (HMMR) выявлены у 17,7% и 15,2% соответственно. Повышенные уровни ауто-АТ к мембранным антигенам клеток слизистой оболочки желудка (GaM) и тонкого кишечника (ItM) выявлены у 11,4 и 12,7% детей.

Важно отметить, что в большинстве случаев повышенные уровни специфических ауто-АТ находились в пределах пограничных отклонений (+10 – +20%), в зону достоверных отклонений (более +20%) попадали от 1 до 4 случая. Исключение составили ауто-АТ Ins – 38,0% детей имели достоверные отклонения данного показателя.

Таким образом, в работе установлено, что до 53% детей сельской местности Восточной Сибири имеют отклонение специфических ауто-АТ в сыворотке крови от референтных значений. При этом данные изменения носят не патологический, а адаптивный характер, являются незначительными и обратимыми. Полученные в работе результаты указывают на необходимость мониторинга за здоровьем данных детей, проведения их углубленного обследования с целью своевременного выявления патологии.

М.И. Климова, О.А. Тихонова. Опыт лабораторной диагностики хромосомных и моногенных болезней в региональной медико-генетической консультации. Медико-генетическая консультация, Перинатальный Центр, БУЗ ВО ВОКБ № 1

Диагностика наследственных заболеваний осуществляется в России в рамках массовых профилактических программ (пренатального и неонатального скрининга), а также селективно, в случае манифестации наследственного заболевания в семье. Диагностика хромосомных нарушений в медико-генетической консультации проводится традиционно цитогенетическими методами. В последние десятилетия все более активно используются молекулярно-генетические методы (FISH), и с 2014 г. в практику МГК внедрены методы молекулярные как для диагностики моногенных болезней, так и хромосомных.

Цель данной работы – формирование оптимального диагностического алгоритма с учетом эффективности лабораторных методов диагностики наследственных болезней методами цитогенетическими (ЦГ), молекулярно-цитогенетическими (FISH) и молекулярными методами количественной ПЦР (MLPA, OF-PCR).

Исследования кариотипа выполнены в 2013–2015 гг. на метафазных GTG-окрашенных хромосомах, полученных из клеток ворсин хориона/плаценты или лимфоцитов крови стандартными цитогенетическими методами. Молекулярно-цитогенетические исследования проведены методом интерфазной FISH с зондами на X, Y, 13, 18, 21 хромосомы наборами Metasystems (Германия). ДНК исследования по выявлению анеуплоидий по X, Y, 13, 18 и 21 хромосомам, микроделеционных синдромов и моногенных болезней выполнены на геномной ДНК лимфоцитов крови, ворсин хориона/плаценты, сухого пятна крови методом MLPA на секвенаторе ABI PRISM 310 наборами фирмы MRC Holland (Голландия) и Aneufast (Испания) по протоколам фирм-производителей. Для верификации муковисцидоза, НМСН1А типа, спинальной мышечной амиотрофии использовался метод мультиплексной ПЦР с детекцией вертикальным гель-электрофорезом.

Для диагностики хромосомных нарушений проведено 827 ЦГ-исследований, 239 – методом FISH, 152 – методом MLPA, 53 методом OF-PCR (при низкой митотической активности хориона, хромосомном мозаицизме, для верификации хромосомного нарушения), 3 исследования микроделеционных синдромов. Для диагностики моногенных заболеваний выполнено 53 исследования методом MLPA, в том числе 43 исследования в гене *CFTR*, 5 исследований в гене *SMN*, 5 исследований в гене периферического миелина *PMP22*. Методом вертикального гель-электрофореза выполнено 141 исследование (117, 8, 16 исследований соответственно). Результат FISH соответствовал цитогенетическому заключению во всех случаях анеуплоидий (34 исследования), кроме мозаичных нарушений аутосом (4 случая) и носомии X-хромосомы (2 исследования), при которой интерфазный анализ позволил дифференцировать артефактную потерю хромосомы с синдромом 45,X. Трисомии по 13, 18 и 21-й хромосомам диагностированы MLPA в 18 случаях, что согласуется с результатами ПЦД и FISH. Однако триплоидии, выявленные в этой группе обследованных в 6 пренатальных цитогенетических исследованиях, методом MLPA диагностированы не были, что свидетельствует о неэффективности метода в диагностике синдрома триплоидии. Моногенные болезни диагностированы в 24 исследованиях, все случаи подтверждены методами количественной ПЦР.

Использование комплекса методов лабораторной диагностики наследственных болезней в региональной медико-генетической консультации позволяет проводить точную диагностику хромосомных и моногенных заболеваний и верификацию диагноза.

Т.Е. Скачкова², Н.С. Сергеева³, В.Г. Гитис³, Е.Ф. Юрков³, С.А. Пирогов³, Б.Я. Алексеев¹, Н.В. Маршуткина¹, А.Д. Каприн¹. Подходы к совершенствованию стадирования рака предстательной железы с использованием нового мульти-модального лабораторного алгоритма. ¹МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава РФ, г. Москва; ²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, г. Москва; ³ФГБОУ ИППИ им. А.А. Харкевича РАН, г. Москва

При выборе тактики лечения больных РПЖ учитывают распространенность опухолевого процесса, гистологический тип опухоли, включая степень дифференцировки по шкале Глисона, сывороточный уровень общПСА и свПСА. В ряде клиник используется и тест, выявляющий одну из изоформ белков-предшественников ПСА – [-2]проПСА, а также индекс здоровья простаты (ИЗП), объединяющий общПСА, свПСА и [-2]проПСА. Однако в 30–40% случаев уточненная после операции стадия опухолевого процесса (pTNM) отличается от выставленной до операции. Таким образом, проблема дооперационного стадирования РПЖ остается актуальной.

Цель исследования – сравнить диагностическую значимость в стадировании РПЖ общПСА, %свПСА, [-2]проПСА, %[-2]проПСА, ИЗП и нового разработанного нами расчетного параметра – лабораторного индекса клинического стадирования (ЛИКС).

Объект исследования – сыворотки крови 333 первичных больных с верифицированным диагнозом РПЖ и с уровнями общПСА <30 нг/мл по калибровке WHO (Abbott, ARCHITECT Immunoassay Analyzer), которым была выполнена радикальная простатэктомия. Средний возраст пациентов – 62,7±0,4 года (41–85 лет). Все пациенты были охарактеризованы по pTNM (pT2a-b – 4,2%; pT2c – 58%; pT3a – 18,9%; pT3b – 18,6% пациентов), а также по шкале Глисона в соответствии с патоморфологическим заключением после простатэктомии (индекс Глисона 5–6 – 46,2%; 7 (3+4) – 26,1%; 7 (4+3) – 14,7%; 8–10 – 7,2% пациентов). При анализе данных также выделяли локализованный РПЖ (pT2N0) – 61,9 %, местнораспространенный РПЖ (pT3N0) – 24,6%, РПЖ с регионарными метастазами (pT₁₋₃N+) – 13,2%. К индолентным ракам относили случаи со стадиями опухолевого процесса ≤pT2 и индексом Глисона ≤6 (38,1%), а к агрессивным – случаи, которые не соответствовали хотя бы одному из этих критериев (59,8%).

Сывороточные уровни общПСА (нг/мл), свПСА (нг/мл), [-2]проПСА (пг/мл) оценили хемилуминесцентным методом (Beckman Coulter Access 2) по калибровке Hybritech. На их основе были рассчитаны показатели %свПСА, %[-2]проПСА и ИЗП. На основании анализа совокупности полученных данных с использованием метода линейной логистической регрессии в логарифмической шкале концентрации маркеров и возраста пациентов был рассчитан новый показатель, обозначенный как лабораторный индекс клинического стадирования (ЛИКС):

$$\text{ЛИКС} = [- 2] \text{ п р о П С А } ^{3/2} * \text{ о б щ П С А } ^{4/3} / (100 * \text{свПСА}^2) + 1,5 * \text{Возраст}$$

Для разных клинических групп больных осуществлен ROC-анализ и высчитаны площади под кривой (AUC). Выявлено, что ЛИКС имеет преимущество перед остальными параметрами в дискриминации местно распространенного vs локализованного РПЖ (AUC ИЗП 0,752 vs. ЛИКС 0,773), агрессивного РПЖ vs индолентного РПЖ (AUC ИЗП 0,727 vs. ЛИКС 0,744), локализованного агрессивного vs локализованного индолентного РПЖ (AUC ИЗП 0,628 vs. ЛИКС 0,644), местнораспространенного vs локализованного агрессивного РПЖ (AUC ИЗП 0,704 vs. ЛИКС 0,716), РПЖ с индексом Глисона 7 (4+3) vs РПЖ с индексом Глисона 7 (3+4) (AUC ИЗП 0,645 vs. ЛИКС 0,687), РПЖ pT3a vs pT2c (AUC ИЗП 0,715 vs. ЛИКС 0,758).

Полученные результаты открывают перспективы улучшения алгоритма дооперационного стадирования РПЖ с использованием разработанного индекса ЛИКС.

К.В. Фаткуллин, А.Е. Ряховский, Р.М. Салыхова, Ю.А. Ахмадуллина, А.Ж. Гильманов. **Современные возможности определения уровня карбокси- и метгемоглобина в крови.** ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа

Значительное накопление в крови производных гемоглобина, не способных переносить кислород – карбокси-гемоглобина (COHb) и метгемоглобина, или гемиглобина (MetHb, Hi), – ведет к существенному ухудшению состоя-

ния больных и даже к смерти. Необходимость определения объема лечебных и реабилитационных мер у пациентов, подвергшихся воздействию токсических факторов с образованием дисгемоглобинов, требует измерения их уровня в крови; это требование закреплено в Приказе Минздравсоцразвития РФ от 12.04.2011 № 302н и в Порядках диагностики и лечения ряда заболеваний. Среди большого количества методов определения концентрации СОНб и МетНб в крови наиболее распространены спектрофотометрические – классические двухволновые и многоволновые с применением мультикомпонентного анализа.

Целью нашего исследования являлось сравнение аналитических характеристик методов определения уровня дисгемоглобинов на анализаторе неотложных состояний AVL-825 и отечественном ко-оксиметре ПолиГЕМ-Экспресс (многоволновая спектрофотометрия лизированной крови в кювете или в одноразовом картридже), а также «ручных» двухволновых спектрофотометрических методов с изобеситической точкой: для определения СОНб и для определения МетНб (по Evelyn-Malloy). В исследовании использовались контрольные материалы фирмы Instrumentation Laboratory на основе человеческого гемоглобина с аттестованными значениями СОНб и МетНб, а также специально приготовленные в лабораторных условиях образцы крови, содержащие разные количества СОНб и МетНб и позволяющие оценить рабочие характеристики методов и приборов, взаимную интерференцию показателей и их связь с уровнем общего гемоглобина.

Результаты измерений показали, что уровни дисгемоглобинов в исследуемом диапазоне значений (Hb 70–250 г/л, СОНб до 80%, МетНб до 80%) при определении различными методами в основном соответствуют друг другу, разница не превышает нескольких процентов. При физиологиче-

ской концентрации дисгемоглобинов (до 2–3%) показатели точности весьма условны, но это не имеет клинического значения. Вместе с тем измерения образцов с одинаковым уровнем Hb и разной долей дисгемоглобинов на гемоглобинометрах HemoCue 201 (азидметгемоглобиновый метод с измерением при $\lambda=570$ и 880 нм), МиниГЕМ-Экспресс (фотометрия лизата крови без трансформации Hb при $\lambda=530$ и 880 нм) и МиниГЕМ 540 (цианидный метод, $\lambda=540$ нм) показали, что в образцах с высоким содержанием СОНб (>20%) наблюдается существенное завышение значения общего гемоглобина (до +20% на МиниГЕМ-Экспресс и до +30% на HemoCue 201) по сравнению с референтным гемиглобинцианидным методом. Это влияние, связанное со спектральными особенностями аналитов, необходимо учитывать при исследовании крови пациентов с отравлением угарным газом. Кроме того, в ходе экспериментов был выявлен небольшой, в пределах 1–1,5%, эффект взаимной интерференции дисгемоглобинов.

Следует отметить конструкцию одноразовых картриджей ГЕМОЛАЙН Hb в отечественных приборах, позволяющих быстро и удобно определить уровни Hb, СОНб и МетНб в образце крови. Измерения в картриджах показали очень близкие результаты с определением в кюветах.

Клинически значимые сдвиги уровня карбокси- и метгемоглобина могут с достаточной точностью быть определены ко-оксиметрией образцов цельной крови, подвергающейся гемолизу в аппарате (в кювете или в картридже). Метод обладает значительными преимуществами перед спектрофотометрией, выполняющейся в «ручном» режиме, и может быть рекомендован к широкому использованию в клинической практике, особенно с учетом появления на рынке приборов отечественной разработки с хорошими аналитическими характеристиками.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

Н.К. Гуськова, И.Б. Лысенко, Л.Я. Розенко, Е.А. Гуськова, А.С. Ноздричева. Интегральные лейкоцитарные индексы – факторы прогноза эффективности лечения солидных новообразований. ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Цель исследования – изучение VCS-параметров лейкоцитов периферической крови, анализ значимости их различных соотношений, т.е. интегральных показателей, в оценке эффективности лечения больных с солидными новообразованиями.

Используемый подход определяется тем, что количественная оценка изменений структурно-функциональных характеристик отдельных клеточных популяций может по совокупности полученной информации существенно расширить диагностический и прогностический потенциал общеклинического анализа крови.

Исследования проведены у пациентов с рецидивами и метастазами рака шейки матки (РШМ) – 35 человек, рака носоглотки (РН) – 37 человек, неходжкинскими лимфомами (НХЛ) с поражением костного мозга – 40 человек в возрасте 48–79 лет. Больные РШМ и РН получили 3–6 курсов специфического лечения, больные НХЛ – 4 курса ПХТ в режиме СНОР с применением аутомиелохимиотерапии. В крови всех больных до начала лечения и перед каждым последующим курсом исследовали VCS-показатели клеток крови: V-объем, S-электрическая проводимость, S-светорассеяние (BeckmanCoulterLH500, США). Расчетным путем определяли интегральные показатели для рака носоглотки – $MVNe/\#Ne$, $MVLy/\#Ly$ (отношение объема нейтрофилов и лимфоцитов к их абсолютному количеству); рака шейки матки – $MVNe/MSNe$ (отношение объема нейтрофилов к величине светорассеяния) и $SDVNe \times SDVly/100$,

$SDVNe \times SDVmo/100$, $SDVly \times SDVmo/100$ ($SDVNe$, Ly и Mo – стандартное отклонение объема нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов); HXL – $MVLy$ и VLy/CLy (отношение объема лимфоцитов к их электрической проводимости). Полученные данные по комбинации анализируемых параметров сопоставляли со значениями индексов у больных до начала лечения и у лиц контрольной группы (60 женщин и мужчин аналогичного возраста без онкологической патологии). Было установлено, что значения индексов у больных достоверно превышают аналогичные показатели у лиц контрольной группы. Частота повышения – 100%. Отмечено изменение значений индексов в зависимости от результатов лечения. Эффективность лечения оценивали по степени регрессии опухоли, которая варьировала в пределах от 0 до 100%. Так, у больных при достижении значимого клинического эффекта (частичная или полная регрессия) отмечалось снижение изученных показателей до уровня значений в контрольной группе либо еще ниже. При неблагоприятном течении заболевания (стабилизация или прогрессирование) – оставались на исходном уровне или увеличивались. Взаимосвязь показателей регрессии опухоли с изменениями лейкоцитарных индексов подтверждена результатами дисперсионного анализа, который показал, что из всех организованных факторов наибольшее влияние на выраженность изменений интегральных показателей оказало состояние больных. В этой связи нами были установлены «пороговые» («критические») значения индексов, не превышающие $M \pm 2m$ по результатам обследования лиц контрольной группы:

- при РН: для $MVNe/\#Ne$ и $MVLy/\#Ly$ - 45 (в контроле <45);
- при РШМ: для $MVNe/MSNe$ – 1 (в контроле <1);
- для $SDVNe \times SDVly/100$, $SDVNe \times SDVmo/100$ и $SDVly \times SDVmo/100$ – 3,5 (в контроле <3,5);