

ОАО «ИЗДАТЕЛЬСТВО  
"МЕДИЦИНА"»

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

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

# Д КЛИНИЧЕСКАЯ Том 62 ЛАБОРАТОРНАЯ 11 • 2017 ДИАГНОСТИКА

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

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

НОЯБРЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

**Почтовый адрес**

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

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

**Зав. редакцией Л. А. Шанкина**

**ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ**

Тел. 8-495-678-64-84

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

Художественный редактор

*Е. М. Архипова*

Переводчик *В. С. Нечаев*

Корректор *В. С. Смирнова*

Технический редактор *Л. В. Зюкина*

Сдано в набор 19.10.2017.

Подписано в печать 27.11.2017.

Формат 60 × 88<sup>1</sup>/<sub>8</sub>.

Печать офсетная.

Печ. л. 8,00

Усл. печ. л. 8,33.

Уч.-изд. л. 9,67.

Заказ 171003.

**E-mail: oao-meditsina@mail.ru**

**WWW страница: www.medlit.ru**

ЛР N 010215 от 29.04.97 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

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

Отпечатано в ООО "Подольская  
Периодика", 142110, г. Подольск,  
ул. Кирова, 15

**Индекс 71442 — для подписчиков**

**Подписка через Интернет: [www.aks.ru](http://www.aks.ru),**

**[www.pressa-ef.ru](http://www.pressa-ef.ru)**

**Подписка на электронную версию:**

**[elibrary.ru](http://elibrary.ru)**

ISSN 0869-2084. Клин. лаб. диагностика.  
2017. № 11. 641—704.

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

**Главный редактор В. Н. ТИТОВ**

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

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:**

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



«Издательство "МЕДИЦИНА"»

OAO IZDATEL'STVO  
"MEDITSINA"

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

# D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA diagnostika

Volume 62  
11 • 2017

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

NOVEMBER

The Journal is founded in 1955.

**Mailing address:  
Izdatelstvo "MEDITSINA"**

115088, Moscow  
Novoostapovskaya str., 5, building 14

Editorial office phone:  
8-495-430-03-63,

E-mail: [clin.lab@yandex.ru](mailto:clin.lab@yandex.ru)

**Managing editor L.A. Shankina**

**ADVERTISING DEPARTMENT**

Phone: 8-495-678-64-84

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

Art editor *E.M. Arkhipova*

Translator *V.S. Nechaev*

Proof-reader *V.S. Smirnova*

Layout editor *L.V. Zyukina*

**E-mail: [oao-medsina@mail.ru](mailto:oao-medsina@mail.ru)**

**WWW page: [www.medlit.ru](http://www.medlit.ru)**

LR № 010215 of 29.04.1997

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

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

ISSN 0869-2084.

**EDITOR BOARD:**

**Editor-in-Chief V. N. TITOV**

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

**EDITORIAL COUNCIL:**

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



IZDATEL'STVO "MEDITSINA"

## БИОХИМИЯ

- Титов В.Н.* Никотиновая кислота — ингибитор липолиза в филогенетически ранних висцеральных жировых клетках; инсулин же блокирует гидролиз триглицеридов в филогенетически поздних адипоцитах. . . . . 644
- Рожкова Т.А., Ариповский А.В., Яровая Е.Б., Каминная В.И., Кухарчук В.В., Титов В.Н.* Индивидуальные жирные кислоты плазмы крови: биологическая роль субстратов, параметры количества и качества, диагностика атеросклероза и атероматоза . . . . . 655
- Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Ушакова Н.Д., Филатова Е.В., Немашкалова Л.А., Дурицкий М.Н.* Оценка эндогенной интоксикации и уровня белков острой фазы у онкоурологических больных в зависимости от течения заболевания . . . . . 666
- Шулькина С.Г.* Биомаркеры системного воспаления и полиморфизм генов *TNF $\alpha$ -308GA* (rs 1800629) и *IL6-174CG* (rs 1800795) в оценке функционального состояния почек у больных с ожирением . . . . . 671
- Дерюгина А.В., Малышева Е.С., Иващенко М.Н., Самodelкин А.Г.* Оценка адаптационных возможностей организма при терапии сахарного диабета 1-го и 2-го типа . . . . . 678
- Щёкотова А.П., Булатова И.А., Титов В.Н.* Неинвазивная доступная информативная лабораторная панель определения фиброза печени — индекс ТФА. . . . . 682

## КОАГУЛОЛОГИЯ

- Базарин К.П., Савченко А.А.* Изменения показателей коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у квалифицированных спортсменов в динамике годового макроцикла. . . . . 686

## ИММУНОЛОГИЯ

- Агарков Н.М., Агаркова В.Н., Аксёнов В.В., Кича Д.И., Шульга Л.В., Будник И.В., Афанасова Е.П.* Рационализация лабораторной диагностики острого сальпингоофорита по информативным параметрам гуморального иммунитета . . . . . 690
- Ахунув В.М., Сизова Ж.М., Ахунова А.М., Лаврентьева Т.П., Айзина Н.Л.* Клинико-иммунологическая характеристика и лабораторная диагностика бронхиальной астмы при пецилломикозе . . . . . 693

## МИКРОБИОЛОГИЯ

- Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф., Солнцева Л.А., Гординская Н.А.* Молекулярное типирование клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия. . . . . 699

## BIOCHEMISTRY

- Titov V.N.* The nicotine acid as an inhibitor of lipolysis in the phylogenetically early visceral cells; insulin also blocks hydrolysis of triglycerides in the phylogenetically late adipocytes
- Rozhkova T.A., Aripovsky A.V., Yarovaya E.B., Kaminnaya V.I., Kukharchuk V.V., Titov V.N.* The individual fatty acids of blood plasma: biological role of substrates, parameters of quantity and quality, diagnostic of atherosclerosis and atheromotosis
- Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Ushakova N.D., Filatova E.V., Nemashkalova L.A., Duritsky M.N.* The evaluation of endogenous intoxication and level of proteins of acute phase in onco-urological patients depending on course of disease
- Shulkina S.G.* The biomarkers of systemic inflammation and polymorphism of genes *TNF $\alpha$ -308GA* (rs 1800629) and *IL6-174CG* (rs 1800795) in evaluation of functional condition of kidneys in patients with obesity
- Deryugina A.V., Malysheva E.S., Ivashchenko M.N., Samodelkin A.G.* The evaluation of adaptive possibilities of organism under therapy of diabetes mellitus type I and II
- Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Titov V.N.* The non-invasive accessible informative laboratory panel for detection of liver fibrosis — TEA index

## COAGUOLOGY

- Bazarin K.P., Savchenko A.A.* The alterations of indices of collagen-induced aggregation of thrombocytes in qualified sportsmen in the dynamics of annual macro-cycle

## IMMUNOLOGY

- Agarkov N.M., Agarkova V.N., Aksyonov V.V., Kicha D.I., Shulga L.V., Budnik I.V., Afanasova E.P.* The rationalization of laboratory diagnostic of acute salpingoophoritis according informative parameters of humoral immunity
- Akhunov V.M., Sizova ZH.M., Akhunova A.M., Lavrenteva T.P., Aizina N.L.* The clinical immunologic characteristic and laboratory diagnostic of bronchial asthma under pecilomy-cosis

## MICROBIOLOGY

- Alekseeva A.E., Brusnigina N.F., Solntsev L.A., Gordinskaya N.A.* The molecular typing of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* producing beta-lactamases of extended specter of action

## БИОХИМИЯ

© ТИТОВ В.Н., 2017

УДК 612.015.6.018.2

Титов В.Н.

### НИКОТИНОВАЯ КИСЛОТА — ИНГИБИТОР ЛИПОЛИЗА В ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАННИХ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ КЛЕТКАХ; ИНСУЛИН ЖЕ БЛОКИРУЕТ ГИДРОЛИЗ ТРИГЛИЦЕРИДОВ В ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ ПОЗДНИХ АДИПОЦИТАХ

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, Москва

*Действие никотиновой кислоты (НК) in vivo обоснованно рассматривать как инсулиномиметическое. Единообразие биологического действия экзогенной НК и эндогенного инсулина позволяет осознать, что: а) основой гипогликемического действия инсулина служит его гиполитидемическая активность, ингибирование липолиза в филогенетически поздних, инсулинозависимых адипоцитах и понижение в плазме крови содержания неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК); б) НК, как и инсулин, блокирует липолиз, но в независимых от гормона висцеральных жировых клетках. Контринсулярное действие in vivo проявляет экзогенная и эндогенная пальмитиновая насыщенная ЖК (НЖК) в силу физико-химических свойств. Биологическая роль инсулина состоит в регуляции метаболизма ЖК, главным образом НЭЖК, и поглощении глюкозы всеми зависимыми от инсулина клетками. Полагаем, сократительные клетки (скелетные миоциты, кардиомиоциты) накапливают гликоген для реализации глюкозы как субстрата в синтезе in situ de novo  $\omega$ -9 олеиновой мононенасыщенной ЖК (МЖК). Инсулин инициирует синтез, потому что митохондрии эту МЖК подвергают  $\beta$ -окислению с наиболее высокой константой скорости реакции. Это обусловлено физико-химическими свойствами  $\omega$ -9 олеиновой МЖК, расположением двойной связи в цепи ЖК; это обеспечивает максимальную эффективность наработки АТФ. Наиболее рано в филогенезе сформирован низкоэффективный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК. На более поздних ступенях филогенеза при становлении функции движения клетки отработали более производительный вариант синтеза АТФ из экзогенной  $\omega$ -6 олеиновой МЖК. На поздних ступенях филогенеза при становлении биологической функции локомоции (движение за счет сокращения поперечнополосатых, скелетных миоцитов) инсулин стал активировать поглощение клетками глюкозы и синтез из нее эндогенной  $\omega$ -9 олеиновой МЖК. Афизиологичное воздействие факторов внешней среды в форме нарушения биологической функции трофологии (питания), избыток в пище пальмитиновой НЖК служит основной причиной столь высокой частоты функционального нарушения — синдрома резистентности к инсулину в популяциях, и нет оснований называть его сахарным диабетом 2-го типа.*

**Ключевые слова:** неэтерифицированные жирные кислоты; никотиновая кислота; инсулин; глюкоза; олеиновая жирная кислота.

**Для цитирования:** Титов В.Н. Никотиновая кислота — ингибитор липолиза в филогенетически ранних висцеральных жировых клетках; инсулин же блокирует гидролиз триглицеридов в филогенетически поздних адипоцитах. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 644-654. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-644-654>  
Titov V.N.

THE NICOTINIC ACID AS AN INHIBITOR OF LIPOLYSIS IN THE PHYLOGENETICALLY EARLY VISCERAL CELLS; INSULIN ALSO BLOCKS HYDROLYSIS OF TRIGLYCERIDES IN THE PHYLOGENETICALLY LATE ADIPOCYTES

The Federal state budget scientific institution "The Russian cardiologic R&D production complex" of Minzdrav of Russia, 121552 Moscow, Russia

*It is valid to consider effect of nicotinic acid as an insulin-mimetic one. The uniformity of biologic effect of exogenous nicotinic acid and endogenous insulin permits to become aware that a) the hypo-lipidemic activity of insulin, inhibition of lipolysis in phylogenetically late insulin-dependent adipocytes and decreasing of content of unesterified fatty acids in blood plasma are considered as a basis of hypoglycemic effect of insulin; b) nicotinic acid similar to insulin blocks lipolysis too but in hormone-independent visceral fatty cells. The counter-insular effect is manifested in vivo by exogenous and endogenous palmitic saturated fatty acid by force of physical chemical characteristics. The biological role of insulin consists in regulation of metabolism of fatty acids mainly unesterified fatty acids and in absorption of glucose by all insulin-dependent cells. It is supposed that contractile cells (myocytes and cardiomyocytes) cumulate glycogen for implementing glucose as a substrate in synthesis in situ de novo of  $\omega$ -9 oleic mono-saturated fatty acid. The insulin initiates synthesis because mitochondria process this mono-saturated fatty to  $\beta$ -oxidation with the highest constant of reaction velocity. This is conditioned by physical chemical characteristics of oleic mono-saturated fatty acid, positioning of double bond in the chain of fatty acid; this ensures maximal efficiency of ATP gaining. In phylogenesis, the low efficient palmitic alternative of metabolism of fatty acids is formed the earliest. At the later stages of phylogenesis the cells, under becoming of motion function, worked out more efficient alternative of ATP synthesis from exogenous  $\omega$ -9 oleic mono-saturated fatty acid. At the late stages of phylogenesis, under becoming of biological function of locomotion (motion at the expense of contraction of cross-striated skeletal myocytes) insulin began to activate absorption of glucose by cells with subsequent synthesis of endogenous  $\omega$ -9 oleic mono-saturated fatty acid out of it. The aphysiological effect of environment factors in the form*

*of derangement of biological function of trophology (feeding), surplus of palmitic unesterified fatty acids in food serve as a main cause of such a high rate of functional derangement - insulin resistance syndrome in populations. Hence, there is no reason to call it diabetes mellitus type II.*

**Key words:** *unesterified fatty acids; nicotinic acid; insulin; glucose; oleic fatty acid nicotinic acid.*

**For citation:** Titov V.N. *The nicotinic acid as an inhibitor of lipolysis in the phylogenetically early visceral cells; insulin also blocks hydrolysis of triglycerides in the phylogenetically late adipocytes. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (11): 644-654. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-644-654>*

**For correspondence:** Titov V.N., doctor of medical sciences, professor, the head of laboratory of clinical biochemistry of lipoproteins of the Federal state budget scientific institution "The Russian cardiologic R&D production complex". e-mail: [vn\\_titov@mail.ru](mailto:vn_titov@mail.ru)

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 01.12.2016  
Accepted 29.12.2016

Предложенная нами филогенетическая теория общей патологии [1] в отличие от методологического подхода, именуемого «редукционизм» [2] (разложение сложного на простые составляющие) позволяет обсуждать, сопоставлять, моделировать биологические функции и биологические реакции, которые последовательно формировались *in vivo* на разных ступенях филогенеза. Единая технология становления в филогенезе функциональных систем позволяет по-иному рассмотреть взаимодействие регуляции филогенетически ранних и более поздних биологических функций, биологических реакций. Это дает новые возможности: а) понять взаимодействие *in vivo* функциональных систем, формирование которых произошло на ранних и поздних ступенях филогенеза с интервалом в миллионы лет; б) сопоставить особенности (преимущества и недостатки) сформированных систем; в) выявить неустранимые в филогенезе «несогласованности регуляции» метаболизма на фоне «относительного биологического совершенства» организмов. «Несогласованности регуляции» метаболизма формируются на трех филогенетически последовательных уровнях: а) на аутокринном (клеточном) уровне; б) в паракринно регулируемых сообществах функционально разных клеток, в органах и в) на уровне организма. «Несогласованности регуляции» метаболизма, по нашему мнению, и являются этиологическими факторами всех метаболических пандемий на фоне «относительного биологического совершенства» организмов, формируя единый алгоритм становления, общность патогенеза [3].

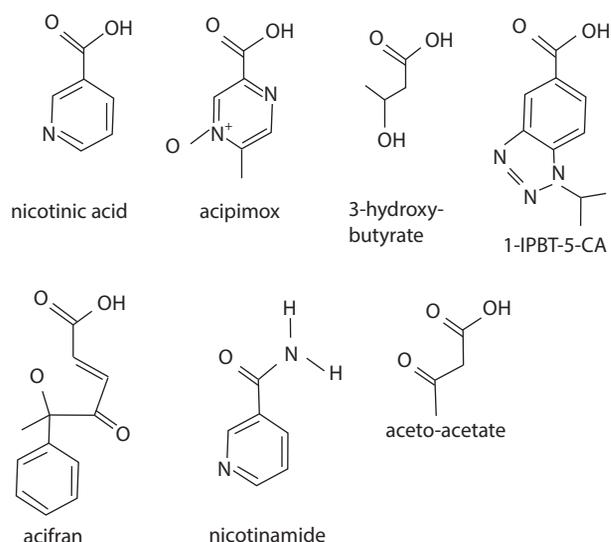
*Функциональные различия ранних в филогенезе висцеральных жировых клеток и подкожных адипоцитов.* На ступенях филогенеза между формированием пула висцеральных жировых клеток сальника и забрюшинной клетчатки (ВЖК) и пулом подкожных адипоцитов прошли многие миллионы лет. И хотя оба пула специализированных жировых клеток предназначены для реализации одной биологической реакции, депонирования субстратов — жирных кислот (ЖК) для наработки энергии, для синтеза биотрансформируемого АТФ, функциональная роль и регуляция активности жировых клеток являются, по существу, разными [4]. Филогенетически ранний пул ВЖК функционально сформирован для снабжения всех клеток *in vivo* субстратами для наработки энергии при реализации шести биологических функций: 1 — биологическая функция трофологии (питания); 2 — биологическая функция гомеостаза (для каждой из клеток в межклеточной среде всегда достаточно); 3 — биологическая функция эндоэкологии («чистота» межклеточной среды) с биологическими ре-

акциями экскреции и воспаления; 4 — биологическая функция адаптации с биологическими реакциями стресса и компенсации; 5 — биологическая функция продолжения вида, функция размножения и 6 — когнитивная биологическая функция, функция интеллекта.

Поздний в филогенезе специализированный пул жировых клеток, адипоцитов, функционально предназначен для обеспечения субстратами для наработки энергии (насыщенными и мононенасыщенными ЖК, НЖК и МЖК) только инсулинозависимых клеток. Все они реализуют одну биологическую функцию локомоции, движение за счет сокращения скелетных миоцитов. Инсулинозависимые клетки: 1) скелетные, поперечно-полосатые миоциты; 2) синцитий кардиомиоцитов; 3) подкожные адипоциты; 4) перипортальные гепатоциты; 5) оседлые макрофаги Купфера и 6)  $\beta$ -клетки островков поджелудочной железы. При филогенетически позднем, но гуморальном действии инсулина все они претерпели определенные функциональные изменения [5]. Кроме того, неблагоприятное воздействие факторов внешней среды *in vivo* в большей мере испытывают наиболее поздно в филогенезе сформированные системы; они менее устойчивы, и их легче вывести из состояния функционального равновесия. В течение многих миллионов лет инсулину предшествовало действие инсулиноподобного фактора роста; регуляторным действием инсулина как гормона он не обладал.

*Никотиновая ЖК — гиполлипидемическое вещество.* Никотиновую кислоту (НК) (пиридин-3-карбоновая кислота) в клинике используют более 50 лет как гиполлипидемическое средство (см. рисунок). НК понижает содержание в плазме крови триглицеридов (ТГ) — эфиров НЖК, МЖК с трехатомным спиртом глицерином и концентрацию неэтерифицированных ЖК (НЭЖК). В межклеточной среде их переносит альбумин, который функционально является в первую очередь НЭЖК связывающим и переносящим белок. В то же время механизмы действия НК и клофибрата существенно разные. НК, она же витамин РР, витамин В<sub>3</sub>, задействована в окислительно-восстановительных реакциях на клеточном уровне. Умеренные количества НК содержит ржаной хлеб, свёкла, гречневая крупа, фасоль, мясо, грибы, ткань печени и почек [6].

Гиповитаминоз РР (алиментарный дефицит НК) — причина развития пеллагры, нозологической формы заболевания, основные симптомы которой: дерматит, диарея и деменция. Гиполлипидемическое действие НК если и не предотвращает формирование инфаркта миокарда (ИМ), активно препятствует развитию его осложнений.



Структурная формула НК и ее производных с активностью ингибиторов липолиза в жировых клетках.

НК быстро и выражено понижает в плазме крови содержание НЭЖК, которые в межклеточной среде переносит альбумин. НК оказывает влияние на течение острого коронарного синдрома и на состояние нестабильной стенокардии.

Как и инсулин, НК активно ингибирует липолиз в жировых клетках; происходит это путем связывания НК со специфичными рецепторами на мембране. НК ингибирует липолиз (гидролиз ТГ) в ВЖК *in vivo*, понижая в крови содержание НЭЖК. При ИМ никотиновая кислота способствует благоприятному течению патологического процесса, снижая летальность в ранние его сроки. НК, как и ее производные, понижают содержание в крови: а) наиболее поздних в филогенезе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП); б) более ранних и менее специализированных ЛП низкой плотности (ЛПНП) и в) повышает концентрацию филогенетически самых ранних многофункциональных ЛП высокой плотности (ЛПВП).

Несмотря на длительное применение в клинике, фармакокинетика и фармакодинамика НК выяснены не в полной мере. В процессе лечения НК изменение концентрации НЭЖК в плазме крови двухфазно; за периодом ингибирования липолиза в ВЖК и понижения содержания НЭЖК в плазме крови следует повышение НЭЖК до значений выше исходного уровня. При этом величина функционального ответа зависит от снижения НЭЖК, вызванного действием НК. Следует уточнить: сколь длительно гиполлипидемическое действие НК продолжается до компенсаторного повышения уровня НЭЖК и существуют ли антагонисты рецепторов, которые могут изменить взаимодействие НК лиганд ↔ рецептор.

Предложены разные модели действия НК: авторы пытаются объяснить: а) толерантность *in vivo* к длительно сниженному содержанию НЭЖК в межклеточной среде; б) механизмы формирования феномена компенсации и в) модель кругооборота субстратов глюкоза ↔ ЖК для наработки клетками энергии, для синтеза АТФ. Содержание НЭЖК и глюкозы, как двух субстратов для наработки клетками энергии, компенсировано по меха-

низму обратной связи при реализации на аутокринном (клеточном) уровне [7]. Филогенетическая теория общей патологии дает возможность понять, реализовано ли метаболическое взаимоотношение НЭЖК ↔ глюкоза *in vivo* на: а) аутокринном (клеточном уровне); б) в паракринно регулируемых сообществах функционально разных клеток, органах, системах органов или в) на уровне организма. Динамичное наблюдение за содержанием НЭЖК в плазме крови выявило: минимальную; максимальную реакцию *in vivo* на действие НК и возвращение к исходному содержанию НЭЖК при продолжении действия НК [8].

Клинические наблюдения показали, что введение НК пациентам с ОКС понижает частоту ИМ с инверсией зубца S-T на электрокардиограмме, кроме того выражено понижается содержание НЭЖК в плазме крови одновременно с уровнем инсулина и ТГ [9]. Несмотря на благоприятное действие НК при ИМ, препарат применяют нечасто; в клинике опасаются, что снижение содержания НЭЖК ниже физиологичного уровня и дефицит ацетил-КоА, понижение интенсивности β-окисления ЖК и синтеза АТФ могут привести к углублению ишемии кардиомиоцитов и гибели клеток по типу некроза [10].

В крови НК связывают G-протеин сочтенные рецепторы (G-рецепторы) на мембране жировых клеток; это «орфанные» рецепторы, для которых перечень всех лигандов точно не определен. Это семейство рецепторов обеспечивает поглощение клетками ЖК в форме полярных НЭЖК, моно- и дисахариды, аминокислоты и промежуточные метаболиты, включая кетоновые тела, лактат, метилглиоксаль и желчные кислоты. Рецепторы для метаболитов расположены на мембране специализированных жировых клеток, эпителиальных клетках эндокринных желез, клетках иммунной системы и эпителии нефрона. Рецепторы задействованы и в гуморальной, нейрогуморальной, нейрогормональной регуляции биологической реакции «метаболизм ↔ микроциркуляция».

Лигандами для G-рецепторов служат промежуточные продукты метаболизма; они задействованы в патогенезе многих нозологических форм заболеваний, включая «метаболические пандемии». Действие лекарственных препаратов реально реализовано на уровне G-рецепторов при регуляции метаболизма. Для многих экспрессированных на мембране G-рецепторов синтезированы специфичные агонисты и антагонисты. На плазматической мембране *in vivo* имеются G-рецепторы, лигандами для которых являются среднецепочечные ЖК (C10—C14), короткоцепочечные ЖК (C4—C8): уксусная кислота — ацетат (C2), пропионовая кислота (C3), масляная ЖК, бутират (C4) и продукты анаэробной, бактериальной ферментации. НК ингибирует гидролиз ТГ и понижает в плазме крови содержание НЭЖК и глицерина, концентрацию ТГ, ЛПОНП и ЛПНП при повышении содержания ЛПВП [11].

Важно разобраться в особенностях ингибирования липолиза в жировых клетках, которое реализует эссенциальная НК с ранних ступеней филогенеза и осуществляет поздний в филогенезе эндогенный, гормональный медиатор инсулин [12]. Эксперименты с НК, которые проведены на животных с генетически обусловленными нарушениями метаболизма или при выбивании (knockout) генов, дают возможность понять сходство и различия в действии экзогенного витамина РР (НК) и эндогенного ингибитора липолиза инсулина. В экспериментах часто используют генетически обусловленную

линию крыс со спонтанным ожирением, линию Zucker. В механизмах фармакологического влияния поможет разобраться и применение в экспериментах на животных не самой НК, а ее производных [13].

Для крыс с ожирением и ИР (Zucker diabetic fatty rats) характерно повышение в плазме крови концентрации НЭЖК и ТГ; а также накопление ЖК в форме пальмитиновых ТГ в  $\beta$ -клетках островков поджелудочной железы. Эти нарушения формируются у животных в возрасте 9—11 нед. Генетическую линию крыс Zucker можно характеризовать как «тучные крысы с синдромом ИР». Эта линия крыс — результат нескольких мутаций. Для животных характерно ожирение, уменьшение мышечной массы, ИР, повышенный уровень глюкозы в крови, усиленная секреция инсулина и С-пептида, липоидоз инсулинозависимых клеток.

Введение НК в вену в фармакологических дозах (1, 5 и 20 мкмоль/кг массы тела) выражено в течение 30 мин понижает содержание НЭЖК в плазме крови до 10% исходного уровня. После прекращения инфузии содержание НЭЖК повышается у животных от 18 до 260% по сравнению с его содержанием до введения НК. При инфузии изотонического хлорида натрия содержание НЭЖК в контрольной группе остается стабильным; индивидуальные же различия в интервале даже физиологических значений 0,4—0,8 ммоль/л в плазме крови выражены. При инфузии НК в течение 300 мин и дозе 50 мкмоль/кг массы тела по окончании инъекции изменения были столь же выражены и количественно разнообразны, как и через 30 мин вливания. Однако и при продолжении введения НК содержание НЭЖК у крыс после снижения медленно, но возрастало. Это дает основание говорить об активации компенсаторных механизмов, которые препятствуют снижению содержания НЭЖК в плазме крови, в межклеточной среде ниже физиологического уровня.

НК выражено понижает содержание в плазме крови НЭЖК путем ингибирования гидролиза (липолиза) ТГ в ВЖК и снижения выхода во внутрисосудистую межклеточную среду НЭЖК. Заметим, что постгепариновая липопротеинлипаза (ЛПЛ) в крови в составе ЛПОНП гидролизует в неполярных ТГ одну, первичную эфирную связь ЖК с трехатомным спиртом глицерином с образованием одной полярной НЭЖК и полярного диглицерина. В отличие от постгепариновой ЛПЛ в крови гормонзависимая липаза (ГЗЛ) в цитоплазме жировых клеток в составе липидных капель ТГ гидролизует три (две первичные и одну вторичную эфирную связь с трехатомным спиртом глицерином), освобождая в кровотоке три полярные НЭЖК и глицерин [15].

Когда при действии НК содержание НЭЖК в плазме крови снижается до уровня нарушения биологической функции гомеостаза, поддержание физиологического содержания НЭЖК в крови может происходить за счет: а) активации гидролиза ТГ в кровотоке в составе ЛПОНП при действии постгепариновой ЛПЛ; б) усиления активности печеночной глицеролигидролазы и активации липолиза ТГ в ЛПНП; в) повышения секреции перипортальными гепатоцитами НЖК и МЖК синтезированных *in situ de novo* из глюкозы в процессе биологической реакции глюконеогенеза и г) компенсаторной активации адреналином ГЗЛ и гидролиза ТГ в ВЖК и адипоцитах. Происходит это при активации биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации. Это различие определено тем, что филогенетически ранние

ВЖК рецепторов к инсулину не имеют и филогенетически поздний гормон не может блокировать липолиз в жировых клетках сальника и забрюшинной клетчатке. ВЖК имеют рецепторы к филогенетически раннему предшественнику инсулина — инсулиноподобному фактору роста; он активирует реакции метаболизма, биологической же потребности ингибировать гидролиз ТГ просто не было.

Единственный эндогенный ингибитор липолиза *in vivo* в филогенетически поздних адипоцитах — инсулин. Гормон ингибирует гидролиз ТГ в адипоцитах и блокирует освобождение в кровотоке как НЭЖК, так и глицерина [16, 17]. Понижая содержание НЭЖК, инсулин активирует поглощение глюкозы всеми инсулинозависимыми клетками. Повышение содержания НЭЖК при внутривенной инфузии НК определено активацией механизмов обратной связи, биологической реакции компенсации, биологической функции адаптации. Они препятствуют понижению содержания НЭЖК в плазме крови, нормализуют биологическую функцию гомеостаза путем активации биологической функции адаптации и биологической реакции компенсации [18]. Мы полагаем, что ингибирование липолиза в филогенетически ранних клетках рыхлой соединительной ткани, в ВЖК и в филогенетически поздних, зависимых от инсулина адипоцитах, регулировано разными механизмами.

Мы полагаем, что запасание НЖК и МЖК в ВЖК и в адипоцитах сформировано на разных ступенях филогенеза при реализации разных биологических функций. ВЖК обеспечивают субстратами для наработки энергии (МЖК + НЖК) все филогенетически ранние биологические функции. В то же время поздний в филогенезе пул адипоцитов призван реализовать снабжение субстратами для наработки энергии (синтеза АТФ) только одну биологическую функцию — функцию локомоции, движение за счет сокращения скелетных миоцитов. Поэтому, регуляция метаболизма в двух функционально разных путях жировых клеток, в ВЖК и адипоцитах, происходит по-разному.

*Регуляция липолиза в жировых клетках in vivo в биологической реакции эндотрофии.*

Гормонзависимая липаза — ключевой фермент освобождения полярных ЖК из функционально специализированных пулов жировых клеток, из ВЖК и из адипоцитов. В филогенетически ранних и поздних в филогенезе жировых клетках для активации продукции энергии катехоловые амины (адреналин) активируют протеинкиназу и усиливают фосфорилирование ГЗЛ и белков — членов семейства специфических перилипинов. Эти протеины в жировых клетках покрывают всю поверхность «капель» липидов, определяя их размеры и, что важно, отношение объем/площадь поверхности капель ТГ. Они реализуют превращение метаболически высокоактивных малых «капель» ТГ в неактивные, более крупные «капли», а порой и в афизиологичную «каплю», которая одна занимает всю цитоплазму жировой клетки (ВЖК и адипоцитов) или гепатоцита, инициируя афизиологичное состояние эндоплазматического стресса. Это определено тем, что ГЗЛ, в ассоциации с протеинами перилипинами, активирует гидролиз ТГ только на поверхности «капель» липидов, на границе гидрофобная: гидрофильная среды [19].

Ингибирование липолиза в подкожных адипоцитах инсулин осуществляет путем снижения содержания в цитоплазме циклического аденозинмонофосфата

( $\alpha$ -АМФ), активатора ГЗЛ и липолиза, активность которого зависима от G-рецепторов. Инсулин ингибирует фосфорилирование протеинкиназы по аминокислотным остаткам серина; после этого активированная ГЗЛ в цитоплазме перемещается на поверхность липидных «капель» ТГ [20]. Адипоциты крыс с гомозиготной мутацией ГЗЛ-нуль не активируют гидролиз ТГ и не освобождают в кровотоке глицерин и НЭЖК при действии катехоловых аминов. Базальная гиперинсулинемия и активированная секреция инсулина в условиях нагрузки глюкозой показывает, что у крыс с мутацией ГЗЛ-нуль развивается резистентность к инсулину (ИР). Гепатоциты, адипоциты, скелетные миоциты, кардиомиоциты, макрофаги Купфера и  $\beta$ -клетки островков — это те клетки, в которых при нарушении *in vivo* действия инсулина при ИР происходят выраженные нарушения регуляции метаболизма [21].

*Рецепторы, сопряженные с G-белками, и действие НК.* Рецепторы, сопряженные с G-белком, (G protein-coupled receptors, G-рецепторы), составляют большое семейство трансмембранных, интегральных протеинов плазматической мембраны клеток. G-рецепторы реализуют активную передачу в клетки сигналов; в итоге клетку модулируют ответ на воздействие физиологических гуморальных медиаторов, в том числе и неблагоприятных факторов внешней среды. G-рецепторы локализованы на плазматической мембране только поздних в филогенезе ядерных клеток (эукариот). Лигандами для G-рецепторов служат гуморальные медиаторы, синтезированные в паракринно регулируемых сообществах функционально разных клеток гормоны эндокринных желез и нейромедиаторы синапсов вегетативных нервов. Нарушение функции G-рецепторов задействовано в патогенезе многих заболеваний; они не всегда специфично связывают до 40% используемых лекарственных препаратов; это их агонисты и антагонисты.

Семейство G-рецепторов включают 6 классов на основании гомологичности первичной структуры (последовательность остатков аминокислот в полипептидах) и сходства их функции. Наибольший интерес в связи с НК представляет 5-й класс —  $\alpha$ -АМФ зависимых рецепторов. Геном человека кодирует синтез 350 G-рецепторов, которые связывают, вероятно, и инсулин-зависимый факторы роста. G-рецепторы вовлечены в регуляцию физиологических процессов; это — рецепторы нейронов мозга к нейромедиаторам каксеротонин, дофамин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота, глутамат; регуляция иммунной системы, биологической реакции воспаления и биологической функции адаптации. Хемокиновые рецепторы связывают лиганды, которые реализуют межклеточные взаимодействия; гистаминовые рецепторы связывают гуморальные медиаторы биологической функции эндозкологии, биологической реакции воспаления и вовлекают во взаимодействие функционально специализированные клетки [22].

В функции вегетативной нервной системы (как симпатической, так и парасимпатической) G-рецепторы задействованы в регуляции биологических функций и биологических реакций. Рано в филогенезе они участвуют в регуляции гидродинамического давления в дистальном отделе артериального русла, в регуляции филогенетически позднего артериального давления в проксимальном отделе артериального русла, в регуляции системы пищеварения. НК — агонист G-рецепторов семейства  $\alpha$ -АМФ, инициирует гиполлипидемическое действие.

При приеме НК отмечены краткие периоды афизиологического снижения содержания НЭЖК ниже нижней границы физиологического интервала [23]. Во избежание этого при лечении препаратом НК стали делать регулярные перерывы [24].

Как только в плазме крови повышается содержание НЭЖК, клетки усиленно их поглощают, используя для этого: а) пассивное физико-химическое поглощение ЖК по градиенту концентрации путем диффузии полярных, незаряженных НЭЖК, через бислой полярных ФЛ плазматической мембраны; б) активированное, физико-химическое взаимодействие альбумина с клатрином в кавеолах на мембране клеток и в) активное поглощение клетками НЭЖК при действии филогенетически раннего транспортера — CD36 транслоказы ЖК.

Пассивное поглощение клетками глюкозы по градиенту концентрации физиологично медленное. Градиент концентрации моносахарида между внеклеточной средой и цитоплазмой клеток *in vivo* в биологической реакции эндотрофии (вне приема пищи) низок; содержание глюкозы в цитоплазме только несколько ниже ее концентрации в межклеточной среде. В то же время градиент концентрации межклеточная среда  $\rightarrow$  цитоплазма для НЭЖК всегда высок. Физиологично в цитоплазме содержатся только следовые количества ЖК в ассоциации с членами семейства белков, связывающих жирные кислоты (БСЖК). Индивидуальные БСЖК быстро переносят ЖК к разным органеллам: митохондри, пероксисомы, эндоплазматическая сеть и «капли» ТГ. В последних клетки депонируют НЭЖК + МЭЖК в форме гидрофобных ТГ. При каждом повышении в плазме крови НЭЖК клетки быстро поглощают их в форме полярных НЭЖК при действии главным образом CD36 транслоказы ЖК. Сформировали ее, как и сами митохондрии, еще древние экзотрофы археи.

Археи поглощали уксусную кислоту неорганического (минерального) происхождения, ацетат  $\rightarrow$  циклической диацетат  $\rightarrow$  тиозфир ацетил-КоА за миллионы лет до того, как бактериальные клетки — аутотрофы — стали синтезировать глюкозу. Из глюкозы, как и из кетонных тел при  $\beta$ -окислении, можно последовательно образовать лактат  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow$  ацетил-КоА и использовать его: а) в цикле Кребса; б) в физико-химических реакциях «дыхательной цепи» для синтеза биологически трансформируемого, макроэргического АТФ.

В силу становления биологических реакций в филогенезе клетки *in vivo* физиологично не поглощают глюкозу, пока есть возможность поглощать из межклеточной среды кетонные тела, коротко-, средне- и длинноцепочечные ЖК в форме НЭЖК из ассоциатов с альбумином. Кратковременное введение НК быстро понижает в плазме крови содержание НЭЖК, порой почти на порядок. При более длительном действии НК происходит формирование биологической реакции компенсации и концентрация НЭЖК постепенно возвращается к физиологичному уровню даже в условиях повышенного содержания в плазме крови НК. ИР всегда развивается столь продолжительно, сколь долго содержание НЭЖК в плазме крови остается повышенным, независимо от патогенетических факторов, которые ее вызвали [12].

Длительное снижение содержания НЭЖК смоделировано у контрольной линии крыс и у животных с ожирением линии Zucker; сделано это путем внутривенного введения НК непрерывно течение 5 сут при использовании имплантированной мини-помпы. При столь длительном

введении динамика содержания НЭЖК в плазме крови не была сходной с однократным введением НК. Через 5 ч от начала инфузии содержание НЭЖК максимально снижалось и оставалось таковым у части животных вплоть до прекращения инфузии НК. У большей части крыс в течение инфузии НК, не дожидаясь ее окончания, содержание НЭЖК повышалось до исходного уровня. Механизмы снижения НЭЖК определены у крыс с ожирением при постановке гиперинсулинемического-изогликемического кламп-теста (clamp-test), теста «зажатой скобы». Снижение содержания НЭЖК, увеличение чувствительности тканей к инсулину, понижение уровня гормона при действии НК в кламп-тесте проявляется в течение первых 5 ч. Далее содержание НЭЖК начинает повышаться и, не ожидая окончания инфузии НК, возвращается к исходному уровню.

Общепризнано, что снижение в плазме крови содержания НЭЖК: а) повышает чувствительность клеток к инсулину; б) нормализует уровень глюкозы в плазме крови; в) активизирует поглощение клетками глюкозы; г) накопление гликогена в цитоплазме скелетных миоцитов и кардиомиоцитов; д) понижает содержание инсулина и С-пептида у крыс с ожирением линии Zucker и е) уменьшает накопление капель ТР в цитозоле инсулинозависимых клеток [25]. Действие НК, афизиологичное снижение содержания НЭЖК, расценивается клетками *in vivo* как нарушение биологической функции гомеостаза. Следствием этого становится активация биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации. Происходит усиление мобилизации НЭЖК, более вероятно, из филогенетически ранних, независимых от инсулина ВЖК; менее вероятно, из поздних в филогенезе инсулинозависимых адипоцитов.

У контрольной линии крыс через 5 ч внутривенного введения НК содержание ТГ в ткани печени достоверно уменьшилось с 1,3 до 0,83 г/100 г влажной ткани. У крыс же линии Zucker, при исходном содержании ТГ в печени — 6,72 г/100 г, снижение можно охарактеризовать только как тенденцию [25]. Динамика же содержания НК в плазме крови у крыс обеих линий практически одинакова. Исходное содержание НЭЖК у крыс с ожирением достоверно выше, чем в группе контроля, однако степень снижения, минимальный уровень НЭЖК практически одинаков.

Эти данные означают, что формирование синдрома ИР физиологично и НК может нивелировать (устранить) факторы гуморальной регуляции, которые определяют резистентность клеток к инсулину. ИР в подавляющем числе клинических наблюдений — чисто функциональное нарушение регуляции метаболизма. Основные нарушения, которые в клинике инициируют синдром ИР: а) перегрузка вначале пула ВЖК и далее пула адипоцитов даже физиологичными олеиновыми ТГ, не говоря уже о кинетически менее активных в реакции липолиза пальмитиновых ТГ; б) формирование эндоплазматического стресса и гибель жировых клеток по типу апоптоза в рамках паракринно регулируемых сообществ ВЖК и адипоцитов; в) активация на уровне организма синтеза ядрами гипоталамуса лептина и адипонектина; оба гуморальных медиатора компенсаторно активизируют липолиз в ВЖК и адипоцитах и г) формирование в пуле ВЖК и/или адипоцитах биологической реакции воспаления.

Иницирует биологическую реакцию воспаления гибель клеток по типу апоптоза, образование телец апоптоза и нарушение биологической функции эндозоло-

гии, «замусоривание» межклеточной среды большими эндогенными флогенами, инициаторами биологической реакции воспаления, в том числе и в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы [26]. В большинстве случаев при нормализации в первую очередь биологической функции трофологии функциональные нарушения у многих пациентов можно устранить. И нет никаких оснований именовать ИР сахарным диабетом 2-го типа; патогенез его обусловлен нарушением структуры рецептора к инсулину, а не является функциональным. К тому же, при длительном, многолетнем синдроме ИР, при гиперинсулинемии, истощении функции  $\beta$ -клеток островков формируется сахарный диабет 1-го, а не 2-го типа.

*Основное и возможное дополнительное, позитивное действие никотиновой кислоты.* НК обладает коротким полупериодом жизни *in vivo*, примерно 2 мин пребывания в плазме крови при однократном введении в концентрации  $\approx 1$  мкМ НК/кг массы тела. НК, как агонист G-рецепторов на плазматической мембране жировых клеток, вызывает: а) ц-АМФ зависимое ингибирование активности ГЗЛ; б) ингибирование гидролиза ТГ в жировых клетках; в) уменьшение освобождения НЭЖК из жировых клеток; г) максимальное понижение содержания НЭЖК в плазме крови; д) активацию поглощения клетками глюкозы; е) повышение чувствительности к гормону в зависимых от инсулина клетках и ж) снижение секреции инсулина  $\beta$ -клетками островков. Увеличение при приеме НК действия инсулина, снижение гиперинсулинемии определено: а) действием НК; б) блокадой липолиза в ВЖК и в) снижением содержания НЭЖК в плазме крови. Каждое понижение содержания НЭЖК при действии всех факторов уменьшает: а) гиперинсулинемию; б) гипертриглицеридемию и в) гипергликемию. Последнее происходит в результате активации поглощения глюкозы инсулинозависимыми клетками и в меньшей мере филогенетически ранними ВЖК.

Реально полагать, что действие НК может быть сопряжено и с влиянием G-рецепторов на иные функции *in vivo*, функцию Толл-подобных рецепторов филогенетически ранних макрофагов [27]. При действии НК макрофаги жировой ткани понижают секрецию провоспалительных цитокинов (интерлейкин-1 и -6, фактор некроза опухоли, факторы роста, хемокины). Одновременно НК ингибируют в циркулирующих нейтрофилах НАДФ-зависимое образование и секрецию активных форм  $O_2$  [28] и биологическую реакцию метаболизм  $\leftrightarrow$  микроциркуляция. Вероятно, и непрямым действием НК *in vivo* может предотвратить формирование ИР.

Активация поглощения клетками глюкозы сопряжена с повышением потребления  $O_2$ . Происходит это при фосфорилировании поглощенной глюкозы при действии гексокиназы (глюкокиназы), при превращении глюкозы в глюкозо-6-фосфат; для реакции требуется молекула  $O_2$ . Через глюкозные транспортеры (ГЛЮТ1 — ГЛЮТ4) глюкозо-6-фосфат покинуть клетки уже не может. При необходимости дополнительного количества  $O_2$  инсулин активизирует микроциркуляцию и перфузию инсулинозависимых тканей, регулируя биологическую реакцию «метаболизм  $\leftrightarrow$  микроциркуляция» [29]. Гормон активирует раннюю биологическую реакцию эндотелийзависимой вазодилатации, синтез монослоем эндотелия артериол вазодилататора оксида азота (NO). При этом НК, изменяя гидродинамическое давление в дистальном отделе артериального русла, увеличивает перфузию тканевой кислородом.

НК может ингибировать активность диацилглицерол-О-ацилтрансферазы-2 в печени [30]; это понижает синтез ТГ и секрецию олеиновых и пальмитиновых ЛПОНП в кровотоке. НК может ингибировать и активность постгепариновой ЛПЛ в плазме крови и синтез кофактора апоС-II. Разделение ТГ на пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые, а также и иные ТГ, мы провели на основании той ЖК, которая этерифицирована с вторичной спиртовой группой трехатомного спирта глицерина в sn-2. Вторичную спиртовую связь в sn-2 в ТГ не гидролизует панкреатическая липаза в тонком кишечнике; ее не может гидролизовать и постгепариновая ЛПЛ в крови в составе пальмитиновых и олеиновых лигандных ЛПОНП. Не гидролизует эфирную связь в sn-2 и печеночная глицеролгидролаза в составе линолевых и линоленовых ЛПОНП и ЛПНП. Физиологично в крови натошак не бывает ни пальмитиновых, ни олеиновых ЛПНП; их все в форме лигандных, одноименных ЛПОНП, поглощают зависимые от инсулина клетки путем апоЕ/В-100-эндоцитоза [31]. Активируют ГЗЛ в жировых клетках, в первую очередь в ВЖК, секретированные в межклеточную среду гормоны с липолитическим действием: адреналин, кортизол, соматотропный гормон, эстрогены. Секреция их эндокринными железами небыстро, но возрастает и после инфузии НК [32, 33].

Действие НК — результат экспрессии в жировых клетках генов, которые регулируют синтез ГЗЛ, гидролиз ТГ и обеспечивают ЖК (субстратами для выработки энергии) все клетки во время реализации *in vivo* биологической реакции эндотрофии. В частности, НК ингибирует экспрессию гена, который активирует синтез ц-АМФ и липолиз. Одновременно НК снижает экспрессию генов, которые усиливают синтез ферментов этерификации ЖК спиртом глицерином с образованием ТГ. Окончание введения НК и компенсаторное регуляторное действие *in vivo* нейрогуморальных медиаторов вначале выражено усиливает, а позже компенсаторным путем возвращает на физиологичный уровень содержание в плазме крови НЭЖК [23].

В экспериментах на крысах сочетание гипопизектомии и билатеральной адреналэктомии предотвращает активацию липолиза при действии НК. В регуляции биологической реакции компенсации задействованы аденогипофиз, надпочечники с корковым и мозговым слоями эпителиальных клеток. НК экспрессирует синтез клетками рецепторов активности пролиферации пероксином (РАПП) на мембране ядра и окисление ЖК, в частности в макрофагах. Специфичные места связывания (G-рецепторы) выявлены на мембране адипоцитов. Поглощение клетками кетоновых тел,  $\beta$ -гидроксипутирата инициировано теми же рецепторами, которые связывает НК [14]. При приеме *per os*, энтероциты всасывают НК медленно; максимальное содержание в плазме крови достижимо за 30—60 мин. НК частично метаболизируют клетки печени с образованием N-метилникотинамида; часть НК нефроны экскретируют в окончательную мочу в свободном виде. НК вызывает выраженную вазодилатацию артериол в самом большом органе *in vivo* в коже; гиперемия кожных покровов наиболее выражена на лице. Вызывает афизиологичную реакцию в коже — образование эфиров НК: пропил-, этил-, бензил- эфиры НК; время жизни их составляет несколько часов. Вызывает ее, мы полагаем, блокада синтеза и секреции клетками эндотелия вазоконстриктора эндотелина.

*Никотиновая кислота и афизиологичный липоидоз инсулинозависимых клеток.* Функционально важное действие НК — уменьшение в клетках афизиологично депонированных МЖК + НЖК в форме пальмитиновых ТГ в цитоплазме поперечнополосатых, скелетных миоцитов, кардиомиоцитов и  $\beta$ -клеток островков, предотвращая формирование афизиологичного липоидоза — накопление в цитоплазме ЖК в форме пальмитиновых ТГ [34]. Важно понять, почему филогенетически поздние инсулинозависимые скелетные миоциты депонируют в цитоплазме столь большое количество глюкозы в форме гидрофильного гликогена и физиологично не запасают (перестают запасать) гидрофобные НЖК + МЖК в форме неполярных ТГ.

Мы полагаем, что инсулин, совершенствуя биологическую функцию локомоции, на ступенях филогенеза разобщает два функциональных процесса: а) депонирование субстратов — НЖК и МЖК для окисления в митохондриях скелетных миоцитов инсулин инициирует в адипоцитах; б)  $\beta$ -окисление же запасенных адипоцитами ЖК инсулин реализует в скелетных миоцитах в биологической функции сокращения; сами же миоциты и кардиомиоциты депонирования ЖК в форме ТГ не осуществляют [35].

По окончании биологической реакции экзотрофии, биологической функции трофологии (приема пищи) накопленный в скелетных миоцитах гликоген занимает на микропрепарате до 40% площади кардиомиоцита. После интенсивной физической нагрузки гликогена в миоцитах остается на порядок меньше  $\approx$  3%. Можно полагать, что накопление в кардиомиоцитах гидрофильного гликогена не мешает исполнению функции миоцитов — реципрокному сокращению миофибрилл. Формирование же липоидоза кардиомиоцитов, накопление в цитоплазме гидрофобных МЖК + НЖК в форме «капель» ТГ, вероятно, нарушает сокращение кардиомиоцитов вплоть до формирования афизиологичных явлений кардиомиопатии. Накопление ТГ в цитоплазме кардиомиоцитов, поперечнополосатых миоцитов, в  $\beta$ -клетках островков *pancreas* и, вероятно, в макрофагах Купфера, расценивают как проявление синдрома ИР. НК способствует регрессии стенозирующих, атеротромботических, мягких «бляшек» в интима артерий эластического типа. Результат — низкий уровень секреции в кровотоке и межклеточную среду НЖК + МЖК в форме полярных НЭЖК.

На плазматической мембране жировых клеток НК связывают G-белок-опосредованные рецепторы, действующим фактором которых является ц-АМФ. При реализации биологической функции трофологии (питания), биологической реакции эндотрофии (вне приема пищи) НЭЖК, которые секретируют жировые клетки и активно поглощают гепатоциты, и служат субстратом для этерификации глицерином, для синтеза олеиновых и пальмитиновых ТГ, формирования при действии апоВ-100 одноименных пальмитиновых, олеиновых ЛПОНП и секреции их в кровотоке.

*Избыток в пище пальмитиновой НЖК и афизиологичный липоидоз инсулинозависимых клеток.* Липоидоз — накопление (афизиологичное депонирование) ЖК в форме ТГ в специализированных, инсулинозависимых клетках, сформированных на поздних ступенях филогенеза при становлении биологической функции локомоции. Инсулин сосредоточил депонирование субстратов для  $\beta$ -окисления только в адипоцитах и ограничил запа-

сание МЖК + НЖК в сократительных клетках. Скелетные миоциты и кардиомиоциты запасают в цитоплазме глюкозу в форме гликогена и практически не депонируют ЖК как ТГ. Возможно, гидрофобные капли ТГ в какой-то мере сдерживают (мешают) функции сокращения миофибрилл? Тем не менее, при незначительном депонировании ЖК в форме ТГ в сократительных клетках, активность реакций липолиза стала ниже. И если в пище и *in vivo* повышено содержание пальмитиновой НЖК, формируемые в зависимых от инсулина клетках, пальмитиновые ТГ длительно (навсегда) остаются в цитоплазме сократительных клеток, формируя афизиологичный липоидоз.

Основу низкой реакционной способности пальмитиновой НЖК составляет: а) высокая гидрофобность длинноцепочечной С16: 0 пальмитиновой НЖК и низкое проведение митохондриями пальмитиновой НЖК через наружную мембрану митохондрий и при функции специфичного транспортера (карнитинпальмитоил ацил-трансфераза) и медленного вхождения в матрикс митохондрий [36]. Высокая гидрофобность служит основой и низкой константы скорости  $\beta$ -окисления пальмитиновой НЖК в матриксе митохондрий, основой малоэффективного образования ацетил-КоА, который оксалацетат вводит в цикл Кребса. В итоге происходит низкоэффективная наработка митохондриями АТФ.

При жизни многие миллионы лет в водах мировых океанов содержание в пище экзогенной пальмитиновой НЖК не превышает 15% всего количества ЖК. Этот физиологичный уровень продиктован условиями внешней среды, характером питания, особенностями индукции субстратом в биологической функции трофологии. Если эндогенно синтезированной пальмитиновой НЖК + ее содержание в пище выше, чем содержание олеиновой МЖК, *in vivo* формируется малоэффективный, пальмитиновый вариант метаболизма ЖК. Для него характерен постоянный дефицит энергии (низкое образование АТФ в митохондриях); АТФ постоянно не хватает для реализации биохимических реакций метаболизма. К тому же, пальмитиновые триглицериды среди всех ТГ — наиболее неоптимальный субстрат для ферментов липолиза как в составе ЛП в плазме крови, так и в цитоплазме клеток.

Пальмитиновую НЖК медленно поглощают митохондрии из цитоплазмы клеток; происходит это и в скелетных миоцитах; окислению пальмитиновой НЖК далее в матриксе митохондрий происходит с низкой константой скорости реакции. Можно полагать, что второе качество определяет первое: неэффективное окисление пальмитиновой НЖК в матриксе митохондрий и становится причиной малоэффективного, даже активированного поглощения ее митохондриями по градиенту концентрации. Можно обоснованно говорить, что физико-химические свойства С16: 0 пальмитиновой насыщенной, тугоплавкой (точка плавления +63°C) — основа того, что ее с низкой активностью поглощают митохондрии и столь же медленно реализуют ее  $\beta$ -окисление. Пальмитиновая НЖК неэффективно обеспечивает наработку ацетил-КоА; он медленно вступает в цикл Кребса, формируя постоянный дефицит субстрата для наработки АТФ.

Неэффективным поглощением пальмитиновой НЖК митохондриями и медленной скоростью окисления ее в матриксе не исчерпывают все нежелательные физико-химические параметры. Если мы расставим пальмити-

новые и олеиновые ТГ в порядке возрастания константы скорости гидролиза их при действии постгепариновой ЛПЛ крови и ее кофактора апоС-II, получится последовательность:

ППП — ППО — ПОП — ОПП — ООП — ООО

(пальмитоил-пальмитоил-пальмитат глицерол, пальмитоил-пальмитоил-олеат, пальмитоил-олеил-пальмитат, олеил-пальмитоил-пальмитат, олеил-олеил-пальмитат, олеил-олеил-олеат глицерол). Эта последовательность включает в количественном отношении все большие индивидуальные ТГ; к ним надо добавить небольшие количества стеариновых, линолевых и линоленовых ТГ. Однако ЛПОИП не содержат линолевые и линоленовые ТГ, стеариновые же — это отчасти экзогенные, но и промежуточный метаболит при синтезе эндогенной  $\phi$ -9 С18:1 олеиновой МЖК.

На основании наших исследований и данных литературы мы предлагаем рассматривать изменения в спектре ТГ. При нежелательном сдвиге влево в ЛПОИП возрастает количество пальмитиновых ТГ вплоть до крайне афизиологичного ППП. При функционально позитивном сдвиге влево в ЛПОИП возрастает содержание олеиновых ТГ вплоть до наиболее физиологичного ТГ как ООО. Используя современные методы флуидной, жидкостной хроматографии, в плазме крови здоровых людей натошак можно определить около 45 индивидуальных ТГ.

Характеризуя физико-химические свойства ППП, укажем на температуру плавления, равную +49°C; это позволяет понять сколь трудно *in vivo* осуществить гидролиз этого ТГ. В противоположность этому, температура плавления ООО составляет -15°C; скорость гидролиза его в ЛПОИП, в крови при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II наиболее высока. Заметим, что разница между температурой плавления ППП и ООО составляет более 60°C; этот физико-химический параметр и определяет кинетику гидролиза индивидуальных ТГ. В приведенной последовательности температура плавления двух соседних ТГ изменяется  $\approx 10^\circ\text{C}$ ; в такой же мере, можно полагать, понижается и константа скорости гидролиза ТГ в крови, в апоВ-100 ЛП при действии постгепариновой ЛПЛ. Данных о константе скорости гидролиза индивидуальных ТГ в литературе нет [37]. В такой же физико-химической зависимости происходит и гидролиз ТГ при действии гормонозависимой липазы в ВЖК и инсулинозависимой липазы в подкожных адипоцитах. Можно полагать, что инсулин одновременно со специфичным, функциональным ингибированием липолиза в адипоцитах отчасти ингибирует липолиз и в иных инсулинозависимых клетках. Это, мы полагаем, можно рассматривать как еще одну «несогласованность регуляции» метаболизма на фоне «относительного биологического совершенства» организмов.

Чем выше отношение: а) олеиновая МЖК/пальмитиновая НЖК, б) олеиновые/пальмитиновые ТГ и в) олеиновые/пальмитиновые ЛПОИП в плазме крови, тем ниже ХС-ЛПНП, а гипертриглицеридемия менее выражена и менее продолжительна. Из последовательности индивидуальных пальмитиновых и олеиновых ТГ, которая приведена выше, можно понять, чем больше «сдвиг влево», в сторону более насыщенных ТГ вплоть до ППП, тем выше уровень ХС-ЛПНП. И наоборот, чем более выражен сдвиг вправо, с преобладанием олеиновых ТГ вплоть до ООО, тем менее значительным и длительным будет по-

вышение ХС-ЛПНП и выражена гипертриглицеридемия [35]. Короче говоря, чем выше содержание пальмитиновой НЖК в пище, тем более высоким будет ХС-ЛПНП. Когда в лаборатории определяют содержание ХС-ЛПНП при повышенном уровне ТГ в плазме крови, происходит измерение не физиологично высокого уровня спирта ХС в составе линолевых и линоленовых ЛПНП; это высокое содержание ХС в афизиологичных пальмитиновых, безлигандных ЛПНП. Пальмитиновых ЛПНП физиологично в крови не бывает.

*Действие инсулина и инсулиномиметическая активность никотиновой кислоты.* Говоря об общности регуляторного, гормонального действия инсулина и о инсулиномиметическом действии НК, важно сопоставить не только факты, которые указывают на их схожесть, но и то, что определяет различие действия гормона и витамина. Объединяет их одно — оба они ингибиторы гидролиза ТГ в жировых клетках *in vivo*, однако имеются и существенные отличия, и не только в том, что пулы жировых клеток, в которых они ингибируют липолиз, разделены в филогенезе миллионами лет.

Ранняя на ступенях филогенеза никотиновая кислота, витамин РР, связывается с G-рецепторами ц-АМФ на мембране ВЖК и ингибирует липолиз; филогенетически ВЖК — более ранние, чем адипоциты, и рецепторов к инсулину на мембране не имеют. НК, более вероятно, служит ингибитором липолиза в пуле ВЖК сальника и забрюшинной клетчатки. На ступенях филогенеза гидролиз ТГ в инсулинозависимых клетках ингибирует инсулин, а в пуле филогенетически ранних ВЖК — никотиновая кислота.

Все гиполлипидемические препараты в биологической функции трофологии (функции питания) воздействуют на метаболизм ЖК и глюкозы, как и инсулин в биологической реакции экзотрофии, после еды. НК реализует свое действие во время иной биологической реакции — эндотрофии, в период отсутствия приема пищи, когда все НЭЖК для реализации в первую очередь биологической функции гомеостаза, освобождаются только из ВЖК.

Все гиполлипидемические препараты нормализуют превращения в кровотоке главным образом пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП, которые образованы в биологической реакции экзотрофии из ТГ при этерификации ЖК пищи. Происходит это путем усиления гидролиз ТГ в ЛПОНП, активации формирования апоЕ/В-100-лиганда и поглощения только инсулинозависимыми клетками лигандных ЛПОНП путем апоЕ/В-100-эндоцитоза. НК же ингибирует формирование в гепатоцитах ЛПОНП, которые образуются из ЖК, освобождаемых из ВЖК в ходе реализации биологической реакции эндотрофии. Таким образом, все гиполлипидемические препараты активируют гидролиз ТГ в составе ЛП в крови, формирование лигандных ЛПОНП и ЛПНП и поглощение их клетками. В отличие от них НК уменьшает число формируемых гепатоцитами ЛПОНП из тех ЖК, которые освобождены из ВЖК в реализации биологической функции гомеостаза.

Действие ни одного из гиполлипидемических препаратов не приводит к снижению содержания НЭЖК в плазме крови, ниже нижней физиологичной границы гомеостаза. Только НК столь выраженно блокирует липолиз в ВЖК, что *in vivo* происходит активация биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации с целью повысить содержание

НЭЖК. Физиологично это происходит путем активации гидролиза ТГ в ВЖК при действии филогенетически более ранних гормонов, в первую очередь катехоловых аминов.

Секреция инсулина и блокирование гормоном липолиза в зависимых от инсулина клетках происходит только во время реализации биологической реакции экзотрофии, после еды. НК же ингибирует липолиз в жировых клетках, в первую очередь в биологической реакции эндотрофии.

В биологической реакции экзотрофии инсулин ингибирует липолиз в адипоцитах и переключает обеспечение всех клеток субстратами для наработки энергии за счет метаболизмэкзогенных ЖК и глюкозы пищи. При избытке в пище пальмитиновой НЖК и транс-форм МЖК, при формировании малоэффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК *in vivo*, при низком уровне наработки митохондриями АТФ все клетки в биологической реакции экзотрофии испытывают дефицит энергии. В этих условиях, при активации ранней в филогенезе биологической функции адаптации, катехоловые амины активируют гидролиз ТГ в ВЖК. Никотиновая кислота физиологично ингибирует гидролиз ТГ в ВЖК. Действие НК *in vivo* обоснованно считать инсулиномиметическим. Единообразие биологического действия экзогенной НК и эндогенного инсулина позволяет осознать, что основой гипогликемического действия инсулина является его гиполлипидемическая активность, ингибирование липолиза в филогенетически поздних, инсулинозависимых адипоцитах и понижение в крови содержания НЭЖК. Никотиновая кислота проявляет инсулиномиметическое действие, блокируя, как и инсулин, липолиз в жировых клетках. Основное же контринсулярное действие *in vivo* проявляет экзогенная + эндогенная насыщенная пальмитиновая ЖК. Биологическая роль инсулина состоит в первую очередь в регуляции метаболизма ЖК, главным образом НЭЖК, и только во вторую очередь — в активации поглощения зависимыми от инсулина клетками глюкозы через глюкозные транспортеры 4 (ГЛЮТ4).

Для какой же цели сократительные скелетные миоциты и кардиомиоциты при действии инсулина активно поглощают глюкозу через ГЛЮТ4 и накапливают гликоген в цитоплазме филогенетически поздних клеток? Мы полагаем, что сократительные клетки накапливают гликоген с целью использования глюкозы как субстрата в новом в филогенезе синтезе *in situ de novo* — в синтезе  $\omega$ -9 олеиновой МЖК. Иницировано это действие инсулином исходя из того, что митохондрии подвергают эту МЖК  $\beta$ -окислению в матриксе с наиболее высокой константой скорости реакции. Это обусловлено специфичными физико-химическими свойствами  $\omega$ -9 олеиновой МЖК, расположением в цепи ЖК двойной связи, что обеспечивает максимальную эффективность наработки АТФ и позволяет преодолеть пиковые физические нагрузки.

Имеются все основания основным контринсулярным воздействием факторов внешней среды *in vivo* в рамках метаболических пандемий считать избыточное количество в пище НЖК + транс-форм МЖК, главным образом избыток в пище С16: 0 пальмитиновой НЖК; содержание ее превышает физиологичное, сформированное на ступенях филогенеза при жизни в водах мировых океанов. Миллионы лет при жизни в океане и после выхода на сушу система ЛП может физиоло-

гично переносить к клеткам в гидрофильной межклеточной среде не более 15% выражено гидрофобной пальмитиновой НЖК от всего количества получаемых с пищей ЖК. Это определено физико-химическими, индивидуальными особенностями пальмитиновой НЖК, в частности высокой ее гидрофобностью и высокой температурой плавления +63°C.

Мы полагаем, что на ступенях филогенеза последовательно отработано три варианта метаболизма ЖК каждый раз: а) с большей «кинетической эффективностью» биологической функции локомоции [38]; б) с большей наработкой митохондриями АТФ в единицу времени; в) со все большей эффективностью функциональной активности митохондрий.

Наиболее рано на ступенях филогенеза сформирован низкоэффективный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК; обусловлено это действием факторов внешней среды — жизни в условиях первичного магниевого океана с температурой изоволюметрического интервала воды +36—42°C. При доминировании *in vivo* пальмитиновой НЖК на ранних ступенях филогенеза у древних архей иных ЖК было мало. В «наследство» от архей приматам и *Homo sapiens* досталась способность каждой из клеток *in vivo*, из ацетил-КоА, без освобождения промежуточных метаболитов в цикле Линнена при действии синтазы ЖК образовывать только пальмитиновую НЖК.

На более поздних ступенях филогенеза, при жизни во втором (калиевом) и в третьем (натриевом, существующим и поныне) мировом океане, при становлении функции движения, при больших затратах энергии клетки отработали более производительный вариант синтазы АТФ при окислении митохондриями, главным образом, экзогенной  $\omega$ -6 олеиновой МЖК.

На поздних ступенях филогенеза, при становлении биологической функции локомоции (движение за счет сокращения поперечнополосатых, скелетных миоцитов) и действия инсулина, гормон стал активировать поглощение клетками глюкозы и синтез из нее эндогенной  $\omega$ -9 олеиновой МЖК. В силу индивидуальных физико-химических параметров митохондрии окисляют ее, мы обоснованно полагаем, с наиболее высокой константой скорости  $\beta$ -окисления. Нарушение биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии, избыток в пище пальмитиновой НЖК — основная причина столь высокой частоты функционального нарушения — синдрома ИР. При этом нет никаких оснований называть функциональный синдром резистентности к инсулину — сахарным диабетом 2-го типа.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 4—11, 13—30, 32—36 см. REFERENCES)

1. Титов В.Н. Биологические функции (экзотрофия, гомеостаз, эндоэкология), биологические реакции (экскреция, воспаление, транзитоз) и патогенез артериальной гипертензии. М.—Тверь: Изд-во «Триада»; 2009.
2. Сverdlov E.D. Системная биология и персонализированная медицина. Быть или не быть? *Российский физиологический журнал*. 2014; 100(5): 505—23.
3. Титов В.Н., Рожкова Т.А., Амелюшкина В.А. *Жирные кислоты,*

*триглицериды, гипертриглицеридемия, гипергликемия и инсулин (патогенез, диагностика, профилактика, основы лечения)*. М.: ИНФРА-М; 2015.

12. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий. Сахарный диабет. М.: ИНФРА-М; 2014.
31. Титов В.Н. *Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз*. М.: ИНФРА-М; 2014.
37. Брокерхоф Ч., Дженсен Р. *Липолитические ферменты*. М.: Мир; 1978.
38. Шноль С.Э. *Физико-химические факторы биологической эволюции*. М.:Издательство «Наука»; 1979.

#### REFERENCES

1. Titov V.N. *Biological functions (exotrophy, homeostasis, endoecology), biological response (urinary, inflammation, transcytosis) and pathogenesis of hypertension*. [Biologicheskie funktsii (ekzotrofiya, gomeostaz, endoekologiya), biologicheskie reaktsii (ekskreziy, vospaleniye, transzitoz) i patogenez arterial'noy gipertonii.] Moscow—Tver': Izdatel'stvo «Triada»; 2009. (in Russian)
2. Sverdlov E.D. Systems biology and personalized medicine. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal*. 2014; 100(5): 505—23. (in Russian)
3. Titov V.N., Rozhkova T.A., Amelushkina V.A. Fatty acids, triglycerides, hypertriglyceridemia, hyperglycemia, and insulin (pathogenesis, diagnosis, prevention, treatment foundations). [Girnyie kisloty, triglitseridy, gipertriglitseridemiya, giperglikemiya i insulin (patogenez, diagnostika, profilaktika, osnovy lecheniya).] Moscow: INFRA-M; 2015. (in Russian)
4. Lee M.J., Wu Y., Fried S.K. Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Mol. Aspects. Med.* 2013; 34(1): 1—11.
5. Walch L., Čopič A., Jackson C.L. Fatty acid metabolism meets organelle dynamics. *Dev. Cell*. 2015; 32(6): 657—8.
6. Gille A., Frik T., Bodor F.T., Ahmed K., Offermanns S. Nicotinic acid: pharmacological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2008; 48: 79—106.
7. Hellmuth C., Demmelmair H., Schmitt I., Peissner W., Blüher M., Koletzko B. Association between plasma nonesterified fatty acids species and adipose tissue fatty acid composition. *PLoS One*. 2013; 8(10): e74927.
8. Ahlstrom C., Peletier L.A., Jansson-Löfmark R., Gabrielsson J. Feedback modeling of non-esterified fatty acids in rats after nicotinic acid infusions. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 2011; 38(1): 1—24.
9. Carlson L.A. Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *J. Intern. Med.* 2005; 258(2): 94—114.
10. Ruparelina N., Digby J.E., Choudhury R.P. Effects of niacin on atherosclerosis and vascular function. *Curr. Opin. Cardiol.* 2011; 26(1): 66—70.
11. Offermanns S. The nicotinic acid receptor GPR109A (HM74A or PUMA-G) as a new therapeutic target. *Trends. Pharmacol. Sci.* 2006; 27(7): 384—90.
12. Titov V.N. *Phylogenetic theory of general pathology. The pathogenesis of metabolic pandemics*. *Diabetes*. [Filogeneticheskaya teoriya obschey patologii. Patogenez metabolicheskikh pandemiy. Sakharniy diabet.] Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
13. Levy G. *Integration of pharmacokinetics, pharmacodynamics and toxicokinetics in rational drug development, the case for preclinical pharmacodynamics*. New York: Plenum Press. 1993.
14. Bodor E.T., Offermanns S. Nicotinic acid: an old drug with a promising future. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 153 (Suppl. 1): S68—75.
15. Tapani S., Almquist J., Leander J., Ahlström C., Peletier L.A., Jirstrand M., Gabrielsson J. Joint feedback analysis modeling of non-esterified fatty acids in obese Zucker rats and normal Sprague-Dawley rats after different routes of administration of nicotinic acid. *J. Pharm. Sci.* 2014; 103(8): 2571—84.
16. Tunaru S., Kero J., Schaub A., Wufka C., Blaukat A., Pfeffer K. et al.

- PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. *Nat. Med.* 2003; 9(3): 352—5.
17. Wise A., Foord S.M., Fraser N.J., Barnes A.A., Elshourbagy N., Eilert M. et al. Molecular identification of high and low affinity receptors for nicotinic acid. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(11): 9869—74.
  18. Frayn K.N., Shadid S., Hamrani R., Humphreys S.M., Clark M.L., Fielding B.A. et al. Regulation of fatty acid movement in human adipose tissue in the postabsorptive-to-postprandial transition. *Am. J. Physiol.* 1994; 266(3Pt1): E308—17.
  19. Koutsari C., Ali A.H., Mundi M.S., Jensen M.D. Storage of circulating free fatty acid in adipose tissue of postabsorptive humans: quantitative measures and implications for body fat distribution. *Diabetes.* 2011; 60(8): 2032—40.
  20. Holm C. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem. Soc. Trans.* 2003; 31(6): 1120—4.
  21. Ferramosca A., Zara V. Dietary fat and hepatic lipogenesis: mitochondrial citrate carrier as a sensor of metabolic changes. *Adv. Nutr.* 2014; 5(3): 217—25.
  22. Mas S., Martinez-Pinna R., Martín-Ventura J.L., Pérez R., Gomez-Garre D., Ortiz A. et al. Local non-esterified fatty acids correlate with inflammation in atheroma plaques of patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2010; 59(6): 1292—301.
  23. Oh Y.T., Oh K.S., Choi Y.M., Jokiaho A., Donovan C., Choi S. et al. Continuous 24-h nicotinic acid infusion in rats causes FFA rebound and insulin resistance by altering gene expression and basal lipolysis in adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011; 300(6): E1012—21.
  24. Poynten A.M., Gan S.K., Kriketos A.D., O'Sullivan A., Kelly J.J., Ellis B.A. et al. Nicotinic acid-induced insulin resistance is related to increased circulating fatty acids and fat oxidation but not muscle lipid content. *Metabolism.* 2003; 52(6): 699—704.
  25. Kroon T., Kiellstedt A., Gabrielsson J., Oakes N.D. Dosing profile profoundly influences nicotinic acid's ability to improve metabolic control in rats. *J. Lipid. Res.* 2015; 56(9): 1679—90.
  26. Wang Y., Wang P.Y., Takashi K. Chronic effects of different non-esterified fatty acids on pancreatic islets of rats. *Endocrine.* 2006; 29(1): 169—73.
  27. Hara N., Yamada T., Shibata T., Osago H., Hashimoto T., Tsuchiya M. Elevation of cellular NAD levels by nicotinic acid and involvement of nicotinic acid phosphoribosyltransferase in human cells. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(34): 24574—82.
  28. Digby J.E., Martinez F., Jefferson A., Ruparelina N., Chai J., Wamil M. et al. Anti-inflammatory effects of nicotinic acid in human monocytes are mediated by GPR109A dependent mechanisms. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; 32(3): 669—76.
  29. Florian J.P., Pawelczyk J.A. Non-esterified fatty acids increase arterial pressure via central sympathetic activation in humans. *Clin. Sci. (Lond).* 2009; 118(1): 61—9.
  30. Kamanna V.S., Kashyap M.L. Mechanism of action of niacin. *Am. J. Cardiol.* 2008; 101(8A): 20B—26B.
  31. Titov V.N. *Phylogenetic theory of general pathology. The pathogenesis of the diseases of civilization. Atherosclerosis. [Filogeneticheskaia teoriya obschey patologii. Patogenez bolezney tsivilizatsii. Aterosklero].* Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
  32. O'Neill M., Watt M.J., Heigenhauser G.J., Spriet L.L. Effects of reduced free fatty acid availability on hormone-sensitive lipase activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. *J. Appl. Physiol.* (1985). 2004; 97(5): 1938—45.
  33. Watt M.J., Holmes A.G., Steinberg G.R., Mesa J.L., Kemp B.E., Febbraio M.A. Reduced plasma FFA availability increases net triacylglycerol degradation, but not GPAT or HSL activity, in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004; 287(1): E120—7.
  34. Daniele G., Eldor R., Merovci A., Clarke G.D., Xiong J., Tripathy D. et al. Chronic reduction of plasma free fatty acid improves mitochondrial function and whole-body insulin sensitivity in obese and type 2 diabetic individuals. *Diabetes.* 2014; 63(8): 2812—20.
  35. Lim J.H., Lim J.H., Gerhart-Hines Z., Dominy J.E., Lee Y., Kim S., Tabata M. et al. Oleic acid stimulates complete oxidation of fatty acids through protein kinase A-dependent activation of SIRT1-PGC1 $\alpha$  complex. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(10): 7117—26.
  36. Hirabara S.M., Silveira L.R., Abdulkader F., Carvalho C.R., Procopio J., Curi R. Time-dependent effects of fatty acids on skeletal muscle metabolism. *J. Cell. Physiol.* 2007; 210(1): 7—15.
  37. Brokerkhof Ch., Dgensen R. *Lipoliticheskiye fermenty.* Moscow: Mir. 1978; 219—40. (in Russian)
  38. Schnol S.E. *Physical and chemical factors of biological evolution. [Fiziko-khimicheskie faktory biologicheskoy evolyutsii].* Moscow: Izdatel'stvo «Nauka»; 1979. (in Russian)

Поступила 01.12.16  
Принята к печати 29.12.16

### Уважаемые авторы и читатели журнала!

Обращаем ваше внимание на то, что мы обновили сайт нашего журнала, новый адрес сайта: [www.medlit.ru/journalsview/lab](http://www.medlit.ru/journalsview/lab)

Теперь вы можете подписаться через наш сайт на электронную версию журнала или купить отдельные статьи по издательской цене. Для этого нужно пройти регистрацию на сайте.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.13-004.6-092:612.123

Рожкова Т.А.<sup>1</sup>, Ариповский А.В.<sup>2</sup>, Яровая Е.Б.<sup>3</sup>, Каминная В.И.<sup>1</sup>, Кухарчук В.В.<sup>1</sup>, Титов В.Н.<sup>1</sup>

## ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СУБСТРАТОВ, ПАРАМЕТРЫ КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА, ДИАГНОСТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА И АТЕРОМАТОЗА

<sup>1</sup>ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Госсанэпиднадзора РФ, Оболенск Московской области, Россия;

<sup>3</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра теории вероятностей механико-математического факультета. Москва, Россия

*С позиций филогенетической теории общей патологии, атеросклероз и атероматоз, мы полагаем, — два разных по этиологии афизиологических процесса; объединяет их общность патогенеза. Атеросклероз — нарушение биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии (внешнего питания) и биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации в ответ на дефицит в клетках  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 полиеновых жирных кислот (ПНЖК). При дефиците в клетках ПНЖК, при синтезе эйкозаноидов 1-й группы из ненасыщенной эндогенной  $\omega$ -6 C20: 3 дигомо- $\gamma$ -линоленовой ПНЖК, формируется атеросклероз, комплексное нарушение метаболизма in vivo. Атероматоз — нарушение биологической функции эндоэкологии, биологических реакций воспаления и врожденного иммунитета. Это неполная утилизация в интима артерий безлигандных, пальмитиновых липопротеинов очень низкой → низкой плотности (ЛПОНП → ЛПНП) при действии не полифункциональных оседлых макрофагов интимы, а моноцитов гематогенного происхождения, у которых не экспрессирована кислая гидролаза полиеновых эфиров холестерина (поли-ЭХС). В интима, в месте сбора эндогенных флогенов (инициаторов воспаления) из пула внутрисосудистой среды, накапливаются ПНЖК, которые не поглотили клетки в составе лигандных ЛПНП путем apoB-100-эндоцитоза. Патогенетический фактор атеросклероза — нарушение биологической функции трофологии, биологической функции экзотрофии при алиментарном дефиците in vivo  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 ПНЖК при физиологических параметрах питания. Патогенетический фактор атероматоза — злоупотребление филогенетически травоядного (плодоядного) человека животной (мясной) пищей, пальмитиновой ПНЖК, формирование гепатоцитами большого количества пальмитиновых ТГ и одноименных ЛПОНП. Поздние в филогенезе инсулинозависимые ЛПОНП переносят к клеткам пальмитиновые ЛПОНП медленно, а клетки столь же медленно их поглощают. Накопление в крови безлигандных пальмитиновых ЛПОНП → ЛПНП конкурентно блокирует физиологичное поглощение клетками ПНЖК в составе физиологичных ЛПНП. Атеросклероз происходит в кровотоке, атероматоз — в интима артерий эластического типа.*

**Ключевые слова:** атеросклероз; атероматоз; интима; полиеновые; насыщенные жирные кислоты.

**Для цитирования:** Рожкова Т.А., Ариповский А.В., Яровая Е.Б., Каминная В.И., Кухарчук В.В., Титов В.Н. Индивидуальные жирные кислоты плазмы крови: биологическая роль субстратов, параметры количества и качества, диагностика атеросклероза и атероматоза. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 655-665. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-655-665>

Rozhkova T.A.<sup>1</sup>, Aripovsky A.V.<sup>2</sup>, Yarovaya E.B.<sup>3</sup>, Kaminnaya V.I.<sup>1</sup>, Kukharchuk V.V.<sup>1</sup>, Titov V.N.<sup>1</sup>

THE INDIVIDUAL FATTY ACIDS OF BLOOD PLASMA: BIOLOGICAL ROLE OF SUBSTRATES, PARAMETERS OF QUANTITY AND QUALITY, DIAGNOSTIC OF ATHEROSCLEROSIS AND ATHEROMOTOSIS

<sup>1</sup>The Federal state budget scientific institution "The Russian cardiologic R&D production complex" of Minzdrav of Russia, 121552 Moscow, Russia

<sup>2</sup>The Federal Budget Institution of Science "The state research center of applied microbiology and biotechnology" of Gossanepidnadzor of Russia, Obolensk, Russia

<sup>3</sup>The Lomonosov Moscow state university, Moscow, Russia

*The atherosclerosis and atheromotosis are supposed to be, according to phylogenetic theory of general pathology, two etiologically different aphysiological processes, unified by community of pathogenesis. The atherosclerosis is a derangement of biological function of trophology (feeding), biological reaction of exotrophy (external feeding) and biological function of adaptation, biological reaction of compensation in response to deficiency of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyenoic fatty acids. In case of deficiency of polyenoic fatty acids in cells and during synthesis of eicosanoids of group I from unsaturated endogenous  $\omega$ -6 C20: 3 digomo- $\gamma$ -linoleic unsaturated fatty acid, atherosclerosis is developed, a complex metabolism disorder in vivo. The atheromotosis is a derangement of biological function of endoecology, biological reactions of inflammation and inherent immunity. This incomplete utilization in intima of arteries of non-ligand palmitic lipoproteins of very low → low density under effect not of polyfunctional resident macrophage but monocytes of hematogenic origin without expression of acid hydrolase of polyenoic ethers of cholesterol. In intima, in area of cumulation of endogenous phlogogens (initiator of inflammation) from the pool of intra-vascular medium, polyenoic unsaturated fatty acids are cumulated that were not absorbed by cells in structure of ligand low density palmitic lipoproteins using apoB-100- endocytosis. The pathogenic factor of atherosclerosis - derangement of biological function of trophology. biological function of exotrophy under alimentary deficiency of in vivo of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyenoic fatty acids with physiological parameters of feeding. The pathogenic factor of atheromotosis - phylogenetically herbivorous (carnivorous) human misusing of animal (meat) food, palmitic unsaturated fatty acids, development by hepatocytes of a large number of palmitic*

*triglycerides and lipoproteins of very low density of the same name. The late in phylogenesis insulin-dependent lipoproteins of very low density transfer palmitic lipoproteins of very low density to cells slowly. The cells absorb them also slowly. The cumulation of non-ligand palmitic lipoproteins of very low density → low density in blood competitively blocks physiological absorption of polyenoic unsaturated fatty acids by cells in structure of physiological palmitic lipoproteins of low density. The atherosclerosis occurs blood flow and atheromotosis in intima of arteries of elastic type.*

**Key words:** atherosclerosis; atheromotosis; intima; polyenoic; saturated fatty acids.

**For citation:** Rozhkova T.A., Aripovsky A.V., Yarovaya E.B., Kaminnaya V.I., Kukharchuk V.V., Titov V.N. The individual fatty acids of blood plasma: biological role of substrates, parameters of quantity and quality, diagnostic of atherosclerosis and atheromotosis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (11): 655-665. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-655-665>*

**For correspondence:** Rozhkova T.A., candidate of medical sciences, researcher of the Federal state budget scientific institution "The Russian cardiologic R&D production complex". e-mail: rozhkova.ta@mail.ru

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 18.04.2017  
Accepted 11.05.2017

Новые времена, новые теории, иные воззрения специалистов разных профессий на медицину как на часть общей биологии, на этиологию и патогенез заболеваний, нередко сопровождают предложения использовать в диагностике новые методические способы, биохимические методы определения концентрации аналитов, активность новых энзимов, кинетические параметры реакций. В большей мере это относится к метаболическим пандемиям, болезням цивилизации, которые столь широко распространены в популяции развитых стран мира. Авторы предлагают выделять 7 метаболических пандемий: 1) атеросклероз и атероматоз; 2) метаболическая артериальная гипертензия; 3) резистентность к инсулину (ИР); 4) метаболический синдром [1]; 5) ожирение; 6) неалкогольная жировая болезнь печени [2] и 7) эндогенная гиперурикемия [3]. Принципиальные различия их определены спецификой этиологических факторов, которые сформировались на разных ступенях филогенеза при общности патогенеза афизиологичных процессов.

Клиническая биохимия, как специальность клиническая, часто доминирует в диагностике, достоверно объективизируя процесс лечения, выздоровления; она достаточно консервативна. Если два органоспецифичных диагностических теста между собой позитивно, высокозначимо коррелируют и методы определения их являются кинетическими, один из тестов в диагностике не нужен. Поэтому клинические биохимики нередко критично относятся к предложениям, которые обоснованно исходят от химиков, биохимиков и биофизиков.

Практика показывает, что не все большие ожидания прогресса в диагностике оказываются оправданными. Так произошло с определением генома, диагностическое значение которого не вышло за пределы врожденной патологии, а в соматической патологии — выражено зависимо от условий эпигенетического воздействия в онтогенезе [4]. То же произошло и с диагностическим значением полиморфизма генов; объективным методом диагностики соматической патологии они так и не стали. Сомнительно ожидать больших возможностей и от применения метода протеомики: такое определение трудноосуществимо, дорого и пока в диагностике неопределенно. В то же время выяснения биологической роли органоспецифичных протеинов (субстратов, ферментов, транспортных белков) с позиций диагностики может быть реально значимыми.

Цель работы — у пациентов с ИБС, вне зависимо-

сти от пола, возраста, выраженности атеросклероза и атероматоза, проследить физико-химические, биологические коррелятивные взаимоотношения между индивидуальными ЖК в плазме крови в составе неполярных липидов, разных классов ЛП и в форме полярных неэтерифицированных ЖК (НЭЖК). Прояснить: а) особенности превращений ЖК в процессах их метаболизма; б) диагностические аспекты количественного содержания в плазме крови; в) коррелятивные взаимоотношения между количеством ЖК; г) диагностическую роль индивидуальных ЖК.

**Материал и методы.** Содержание спирта ХС, ТГ и спектр индивидуальных ЖК в плазме крови методом газовой хроматографии определены у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), мужчин и женщин; ( $n = 871$ , возраст  $57,2 \pm 7,4$  года). При диагностике ИБС у пациентов придерживались критериев ВОЗ. В исследование включены пациенты со стенокардией функционального класса 1-2. Определение ЖК провели на аналитическом газовом хроматографе Varian, модель 3900 (фирма Varian, США) с кварцевой капиллярной колонкой ( $15 \text{ м} \times 0,25 \text{ мм} \times 0,3 \text{ мкм}$ ) и неподвижной фазой Supelcowax10, (фирма Supelco, США) [5]. Температурная программа анализа — от  $90^\circ\text{C}$  (0,5 мин) до  $240^\circ\text{C}$  (5 мин) со скоростью  $6^\circ\text{C}$  в мин. Детектор — пламенно-ионизационный ( $260^\circ\text{C}$ , регистрация сигнала компьютерная при использовании программы Мультихром-1,5х (ЗАО Амперсенд, РФ). Для количественного определения ЖК применён внутренний стандартный образец — С15: 0 пентадекановая насыщенная ЖК (НЖК). Построение калибровочного графика проводили для каждой ЖК по результатам газовой хроматографии официальной смеси стандартных образцов индивидуальных ЖК (фирма Supelco, США). Статистический анализ проведён для всех ЖК, которые содержал газохроматографический спектр; значимы для диагностики, естественно, не все ЖК плазмы крови.

**Результаты и обсуждение.** Химики, биофизики и часть клинических биохимиков разделяют ЖК плазмы крови на: а) НЖК — ДС не имеют (НЖК), моноеновые — имеют одну ДС в цепи атомов углерода (МЖК) и полиеновые ЖК (ПНЖК) — содержат более одной ДС. Мы же, согласно филогенетической теории общей патологии [6], классифицируем ЖК на основании их функциональных свойств и того, с какими целями клетки используют ЖК *in vivo*. Мы также выделяем НЖК и МЖК,

но ЖК с 2—3 ДС рассматриваем как ненасыщенные ЖК (ННЖК), а с 4—6 ДС — как ПНЖК. Это обусловлено функциональными различиями ННЖК и ПНЖК: из ННЖК, в отличие от ПНЖК, клетки не синтезируют биологически активные гуморальные медиаторы - эйкозаноиды; ННЖК, как правило, этерифицированы в фосфатидилхолинах; ПНЖК же — компоненты аминокислотных фосфолипидов. Короткоцепочечными считают ЖК, которые имеют длину равную С4—С8 атомам углерода; среднецепочечные — С10—С14; длинноцепочечные С16—С22 и очень длинноцепочечные — С22—С26 [7].

**Количественные различия содержания ЖК в плазме крови.** Обращает на себя внимание большое различие количества индивидуальных ЖК. Наибольшее диагностическое, прогностическое значение имеет содержание в плазме крови С16: 0 пальмитиновой и  $\omega$ -9 С18: 1 олеиновой МЖК; это основные субстраты *in vivo* для построения мембран, окисления в митохондриях и синтеза макроэргического аденозинтрифосфата (АТФ) клетками *in vivo*. Если мы определяем концентрацию ЖК в плазме крови после химического гидролиза всех липидов, мы измеряем суммарное содержание ЖК в составе: а) полярных неэтерифицированных ЖК (НЭЖК) ассоциированных с белком переносчиком альбумином и б) в составе всех классов ЛП в форме эфиров с трехатомным спиртом глицерином (неполярные ТГ, полярные фосфолипиды, ФЛ, ди- и моноглицериды) и в) эфиров со спиртом ХС (моно- и полиеновые эфиры ХС, моно-ЭХС и поли-ЭХС).

**С16: 0 пальмитиновая НЖК.** Среди НЖК, которые не имеют ДС, в плазме крови доминирует С16: 0 пальмитиновая НЖК; содержание её может превысить 3000 мг/л, составляя в среднем более 700 мг/л (см. таблицу).

Пальмитиновую НЖК синтезирует *in situ de novo* каждая животная клетка; синтез пальмитиновой НЖК происходит *in situ de novo* из С2 уксусной кислоты (ацетата) без образования промежуточных по длине ЖК. Пальмитиновая НЖК первая на ступенях филогенеза стала исполнять структурную функцию; она при температуре первого мирового океана (36—42°C) сформировала раннюю, термостабильную клеточную мембрану. И в настоящее время в каждой молекуле фосфатидилхолинов (ФХ), из которых сформированы бислоиные мембраны, в позиции sn-1 этерифицирована пальмитиновая НЖК.

Когда мировой океан начал остывать и тугоплавкой С16: 0 пальмитиновой НЖК в мембране стало избыточно, а синтез продолжался в прежнем количестве, клетки принялись использовать НЖК и как субстрат для наработки энергии при окислении пальмитиновой НЖК в митохондриях. Однако при физико-химических параметрах, свойственных структурной пальмитиновой НЖК, она так и не стала оптимальным субстратом для митохондрий, для наработки энергии. В цикле Кноппа—Линена одномоментно происходит синтез С2 (ацетил-КоА)→С16: 0; образования промежуточных ЖК (С12 лауриновой НЖК и С14 миристиновой НЖК) при синтезе пальмитиновой НЖК не происходит. Эти НЖК образуются в ходе  $\beta$ -окисления, укорочения пальмитиновой НЖК на одну и две молекулы С2 ацетата; образуется они в количестве на порядок ниже, чем клетки синтезируют пальмитиновую НЖК. ЖК короче С16, в силу физико-химических условий ДС не имеют.

Особенность пальмитиновой, структурной НЖК: а) в составе пальмитиновых ЛПОНП постгепариновая липопротеинлипаза (ЛПЛ) с низкой скоростью гидролизует ТГ, в которых этерифицированы две пальмити-

Статистические данные определения жирных кислот (среднее значение, медиана, квартили 25 и 75%, максимум и минимум) у пациентов с ИБС (n = 871)

Жирные кислоты	Значения показателей (мг/дл)					
	Среднее	Медиана	25%	75%	Минимум	Максимум
С14:0	32,3	28	18	40	1,1	253
С15:0	7,99	7,7	5,4	9,8	1,8	32
С16:0	728,3	690	538	885	29	3159
Сумма (ПНЖК): С14:0, С15:0, С16:0, С18:0	939,2	897,7	43	88	107	4533
С16:1	70,9	61	150	238	1	407
С18:0	202,9	193	478	721	5,2	1089
Сумма: С16:1, 18:1	701,3	662	697	1118	17	3229
С18:1	609,9	596	4,4	11	16	1084
С18:2 *	910,4	904	6,8	16	12	2815
С18:3 ( $\alpha$ ) **	9,1	7,85	22	48	0,62	56
С18:3 ( $\gamma$ ) **	11,6	10	122	239	0,6	84
С20:3 **	37,3	35	11	35	2,6	245
Сумма: С18:3, С20:3	61,6	60,5	9,9	19	6,3	219
С20:4 **	184,4	178	41,5	93	0,5	656
20:5	26,5	19			1,3	211
22:5*	15,6	14			1,6	76
22:6*	72,4	67			4,1	252

Примечание. ЖК: С14: 0 — миристиновая; С15: 0 — пентадекановая; С16: 0 — пальмитиновая; С16: 1 — пальмитолеиновая; С18: 0 — стеариновая; С18: 1 — олеиновая; С18: 2 — линолевая; С18: 3 —  $\alpha$ - и  $\gamma$ -линоленовая; С20: 3 — дигомо- $\gamma$ -линоленовая (эйкозатриеновая); С20: 4 — арахидоновая (эйкозатетраеновая); С20: 5 — эйкозопентаеновая; С22: 6 — докозагексаеновая. \* — омега-3; \*\* — омега-6.

новые НЖК; б) пальмитиновые ЛПОИП, длительно циркулируя в крови, не формируют лиганд; клетки же не могут поглотить безлигандные ЛПОИП→ЛПИИ; в) при афизиологично длительной циркуляции в кровотоке ЛП обуславливают гиперлипопротеинемию (ГЛП) и высокое содержание ХС в полярном монослое липидов в пальмитиновых ЛПИИ. Высокий уровень ХС-ЛПИИ обусловлен присутствием в крови пальмитиновой НЖК, пальмитиновыми ТГ и одноименными ЛПОИП→ЛПИИ; поступление происходит из: а) съеденной плотоядной пищи или синтезированной эндогенно НЖК в условиях синдрома ИР. При этом заблокировано превращение пальмитиновой НЖК по позднему в филогенезе, наиболее эффективному пути метаболизма: пальмитиновая НЖК→стеариновая НЖК→олеиновая МЖК.

Пальмитиновую НЖК медленно поглощают митохондрии; при окислении её органеллы не могут реализовать все потенциальные возможности синтеза макроэргического АТФ. При доминировании в гепатоцитах пальмитиновой НЖК, пальмитиновых ТГ и одноименных ЛПОИП→ЛПИИ *in vivo* формируется физиологичный, но неоптимальный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК и обеспечения клеток АТФ. Он много ниже потенциально возможностей митохондрий нарабатывать АТФ из оптимального субстрата, из олеиновой МЖК.

**Омега-9 С18: 1 олеиновая МЖК.** В отличие от ранней в филогенезе первоначальной структурной по функции С16: 0 пальмитиновой НЖК, поздняя в филогенезе олеиновая МЖК изначально, при действии инсулина, синтезирована *in vivo* как: а) субстрат для депонирования в инсулинозависимых подкожных адипоцитах и для б) окисления в митохондриях с целью выработки энергии, синтеза АТФ. Для олеиновой МЖК характерно следующее: а) в олеиновых ЛПОИП постгепариновая ЛПИ с высокой скоростью гидролизует олеиновые ТГ; б) все олеиновые ЛПОИП быстро формируют ароЕ/В-100-лиганд; далее их в) поглощают зависимые от инсулина клетки, не формируя г) ГЛП, сохраняя физиологичным уровень ХС-ЛПИИ. Олеиновую МЖК активно поглощают митохондрии, формируя при этом олеиновый вариант обеспечения клеток энергией; митохондрии при этом нарабатывают максимальное количество АТФ.

Обращает на себя внимание большой разброс содержания в липидах плазмы крови как пальмитиновой НЖК, так и олеиновой МЖК; и всё-таки содержание пальмитиновой НЖК в плазме крови в мг/л выше, чем олеиновой. При этом концентрация в плазме крови пальмитиновой и олеиновой МЖК позитивно коррелируют. Вне сомнения, концентрация, отношение в плазме крови пальмитиновая НЖК/олеиновая МЖК, определены субъективными и объективными факторами; они действуют как *in vivo*, так и *in vitro*. Это: а) субъективный фактор — поступления НЖК с пищей, «с тарелки» при поедании пациентами преимущественно «мясной», С16: 0 пальмитиновой НЖК, ННЖК и олеиновой МЖК при преобладании растительной пищи и растительных масел; б) объективный фактор — синтез гепатоцитами из глюкозы только пальмитиновой НЖК вне действия инсулина и только олеиновой МЖК при действии гормона; при синдроме ИР не происходит физиологичное превращение ЖК по пути С16: 0 пальмитиновая НЖК→С18: 0 стеариновая НЖК→С18: 1 олеиновая МЖК; митохондрии клеток нарабатывают количество АТФ меньше оптимального; в) объективный фактор — эндогенный синтез гепатоцитами из глюкозы только

олеиновой НЖК при физиологичном действии инсулина, реализация олеинового варианта метаболизма ЖК и высокоэффективная выработка митохондриями всех клеток энергии — АТФ.

Согласно филогенетической теории общей патологии, биологическая роль инсулина в первую очередь состоит в регуляции *in vivo* синтеза и метаболизма ЖК олеиновой С18: 1 и только во вторую очередь ЖК регулируют метаболизм глюкозы. Мы полагаем, что синдром ИР, во-первых, является патологией ЖК; проблемой при синдроме ИР служит постоянный дефицит *in vivo* энергии. Сниженная (неоптимальная) выработка митохондриями АТФ в условиях пальмитинового варианта метаболизма НЖК при синдроме ИР определена главным образом тем, что митохондрии вынуждены поглощать и окислять С16: 0 пальмитиновую НЖК вместо оптимальной С18: 1 олеиновой МЖК.

**С18: 0 стеариновая НЖК.** С концентрацией более чем в 3 раза ниже, чем С16: 0 пальмитиновая НЖК, циркулирует в плазме крови более длинноцепочечная С18: 0 стеариновая НЖК. Стеариновая НЖК может быть экзогенной и эндогенной; её много в бараньем жире; температура плавления +73°C. Вместе с тем уже энтероциты тонкого кишечника превращают экзогенную стеариновую НЖК в оптимальную *in vivo* олеиновую МЖК. Большая же часть стеариновой НЖК образуется из пальмитиновой НЖК при увеличении длины её при присоединении С2 ацетил-КоА. С15: 0 — афизиологичная ЖК; синтезирует её микробиота (анаэробные бактерии) толстого кишечника *in vivo* [8].

Среди МЖК в плазме крови высоко содержание С18: 1 олеиновой НЖК; оно выше концентрации стеариновой НЖК, но ниже содержания пальмитиновой НЖК. Заметим, что параметры метаболизма олеиновой МЖК много выше, чем стеариновой и пальмитиновой НЖК. Высокий уровень катаболизма постоянно сопровождается большим расходом олеиновой НЖК; митохондрии всех клеток окисляют МЖК наиболее эффективно, нарабатывая оптимальное количество АТФ.

**С18: 1 пальмитолеиновая МЖК.** Примерно 10% синтезированной клетками С16: 0 пальмитиновой НЖК превращается в ω-9 С16: 1 пальмитолеиновую МЖК; ω-9 означает, что ДС расположена в цепи у девятого атома С, считая от метильного конца молекулы. В обеспечении клеток *in vivo* энергией пальмитолеиновая МЖК участия не принимает [9]. Более вероятно, что синтез С16: 1 МЖК — это «следы времен, давно минувших» в филогенезе; возможно, это активность бактерий микробиоты *in vivo*. Метаболизм пальмитолеиновой МЖК, происходит при α-, β- и ω-окислении в пероксисомах всех клеток, в цитоплазме оседлых макрофагов интимы при реализации ими биологической функции эндозоологии, биологической реакции воспаления.

**С18: 2 линолевая ННЖК.** Все ННЖК, которые имеют в цепи атомов углерода 2—3 ДС, исполняют *in vivo* структурные функции; как субстраты для выработки энергии клетки их не используют. И если в фосфатидилхолинах, которые формируют бислоиные клеточные мембраны, в sn-1 всегда этерифицирована С16: 0 пальмитиновая НЖК, то в sn-2 наиболее часто располагается С18: 2 линолевая ННЖК. Это вторая ЖК, содержание которой может приближаться к 3000 мг/л. Ни одна клетка животных не синтезирует С16: 2 линолевую ННЖК; это удел только растений.

Для человека линолевая ННЖК является эссенци-

альной, незаменимой; поступает она с пищей; С18: 2 ННЖК доминирует во всех растительных маслах, за исключением оливкового и пальмового; это олеиновые масла. Правда, в пальмовом масле более высоко содержание пальмитиновой НЖК; поэтому его именуют «экваториальным» оливковым маслом. Однако во всех позиционных формах ТГ пальмового масла в sn-2 спирта глицерина всегда этерифицирована олеиновая НЖК; большое же количество (48%) пальмитиновой НЖК локализованы в sn-1 и в sn-3; всасывание её энтероцитами проходит в малой мере [10].

Линолевая ННЖК этерифицирована в sn-2 большинства полярных ФХ — глицерофосфолипидов, эфиров спирта глицерина: это глицерин + НЖК + ННЖК + основание холин. ФХ формируют все плазматические мембраны животных клеток. И только в симметричных ФЛ семян бобовых культур (сои) С18: 2 линолевая ННЖК занимает две позиции: sn-1 и sn-2 глицерина. В плазме крови линоленовую ННЖК в форме ФЛ от энтероцитов к клеткам переносят ЛП высокой плотности (ЛПВП). Высокая концентрация линолевой ННЖК может быть следствием и поедания большого количества мясной пищи; происходит это одновременно с повышением содержания в ЛПНП С16: 0 пальмитиновой НЖК. При всех современных вариантах кулинарной обработки мясной пищи в домашних условиях выраженных изменений в составе ЖК в рыбе, мясе, в растительных (животных) маслах не происходит [11].

Особенность С18: 2 линолевой НЖК — наличие «конъюгированных» ЖК. В структуре этих ЖК две ДС могут быть расположены при разных атомах углерода. Возможно с этим связаны особенности биологической активности конъюгированных ННЖК. Они являются субстратами в синтез *in vivo* более длинноцепочечных и более ненасыщенных ЖК [12].

**Омега-3 С18:3  $\alpha$ -линоленовая и  $\omega$ -6 С18:3  $\gamma$ -линоленовая ННЖК.** Эти ННЖК — минорные компоненты растительных масел из семян растений, которые вызревают в средней полосе России и более северных широтах. И  $\alpha$ - и  $\gamma$ -линоленовая ННЖК — компоненты, в частности, льняного масла. Однако  $\omega$ -3  $\alpha$ -линоленовая ННЖК, хотя это и  $\omega$ -3 ЖК, предшественником ПНЖК у человека не является. Для человека она не может быть предшественником синтеза биологически активных эйкозаноидов: простаглиндов, простандиндов, тромбоксанов, лейкотриенов и резольвинов. Одновременно синтезировать из  $\omega$ -3 С18:3  $\alpha$ -линоленовой ННЖК биологически активную арахидоновую ПНЖК могут плотоядные крысы; человеку это не дано [13].

**Омега-6 С20: 3 дигамма- $\gamma$ -линоленовая (мидовая) ННЖК.** Это эндогенно синтезированная ЖК; биологическая роль её состоит в том, что при дефиците (отсутствии в клетках эйкозопентаеновой и арахидоновой ПНЖК), при активации биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации мидовая

ННЖК становится субстратом (предшественником) для синтеза, к сожалению, только афизиологичных эйкозаноидов первой группы [14]. Блокада поглощения клетками эссенциальных ПНЖК, афизиологичное действие гуморальных медиаторов — эйкозаноидов 1-й группы и выраженное нарушение многих сторон метаболизма *in vivo*, в том числе и НЖК, формирует симптомокомплекс, который именуют атеросклерозом. Далее он инициирует формирование атероматоза — активацию биологической функции эндоекологии, поддержание «чистоты» межклеточной среды *in vivo*.

**Омега-6 С20: 4 арахидоновая ПНЖК.** Является у всех животных на суше физиологичным предшественником (субстратом) синтеза биологически активных эйкозаноидов 2-й группы. Синтез её в тканях произошёл поздно при жизни животных на суше; растения ни на суше, ни в океане не синтезируют С20: 4 арахидоновую кислоту; растительные масла содержат С20: 0 арахидоновую НЖК, но не  $\omega$ -6 С20: 4 арахидоновую ПНЖК. Арахидоновую ПНЖК из растительных и животных предшественников пищи синтезируют только клетки животных. Наиболее высоко содержание арахидоновой ПНЖК в яйцах птиц (яйцеклетках), в свином подкожном салe; *in vivo* у свиней сало является депо длинноцепочечных С16—С20 ЖК. Свиной жир сальника — это практически С14: 0 миристиновая НЖК. Концентрация в липидах плазмы крови арахидоновой ПНЖК много выше, чем эйкозопентаеновой и докозагексаеновой ПНЖК [15].

Поскольку активность эйкозаноидов 3-й группы (из рыбьего жира) является существенно более высокой, чем гуморальных медиаторов 2-й группы, которые синтезируются из арахидоновой ПНЖК, предложено рассчитывать такой тест ЖК как омега-3 индекс [16]. Тестом недостаточности  $\omega$ -3 ПНЖК служит и  $\omega$ -3-индекс. Рассчитывают его как сумму процентного содержания С20: 5 эйкозопентаеновой + С22: 6 докозагексаеновой ПНЖК в мембране эритроцитов по отношению к общему содержанию ЖК в клетках. Физиологично для человека отношение  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 в пище и в плазме крови как 1: 4—6 [17] (рис. 1).

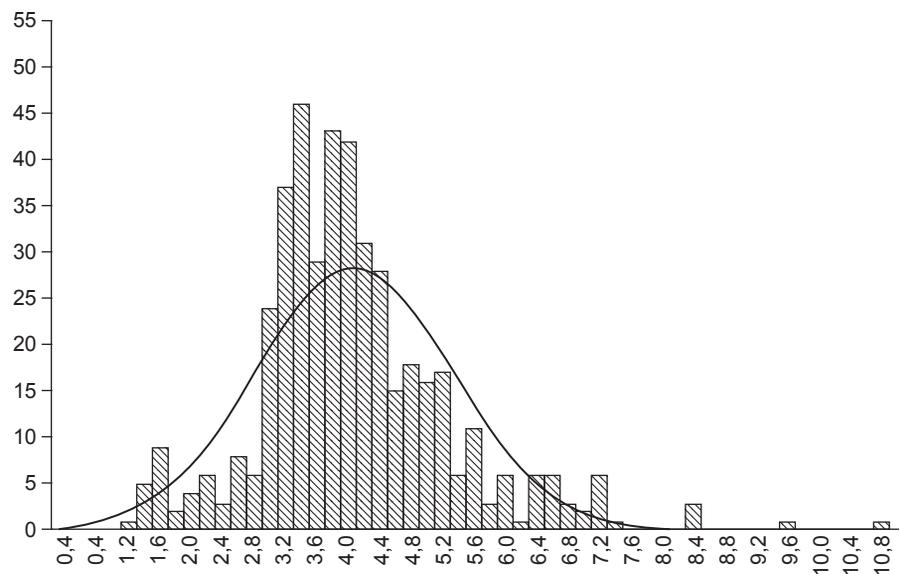


Рис. 1. Гистограмма величины отношения  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 у пациентов с ишемической болезнью сердца.

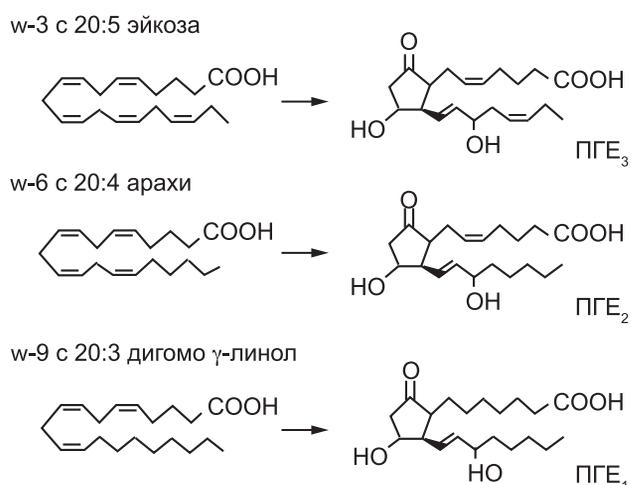


Рис. 2. Структурные формулы ЖК-субстратов и синтезированные из них высокоактивные простагландины  $\text{PGE}_3$ , менее активные  $\text{PGE}_2$  и в полной мере афизиологичные  $\text{PGE}_1$ .

В клинических протоколах в США и Японии показано, что при проведении вторичной профилактики сердечнососудистых заболеваний, формировании стойкого, длительного отношения  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 в пище как 1: 4 приводит к 70% снижению уровня общей смертности. Доказано, что дефицит  $\omega$ -3 ПНЖК в рационе ассоциирован с повышенным риском сердечнососудистых заболеваний, в том числе внезапной сердечной смерти [18]. Снижение отношения  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 оказывает позитивное действие при увеличении массы тела и параметры развития детей в возрасте до года [19]. При высоком отношении  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 в молоке матери у ребенка при грудном вскармливании формируются симптомы ИР; происходит это вне зависимости от массы тела [20].

**Омега-3 C20: 5 эйкозапентаеновая и C22: 6 докозагексаеновая ПНЖК.** Биологически активными компонентами рыбьего жира, субстратами синтеза ранних в филогенезе гуморальных медиаторов эйкозаноидов у человека являются только эйкозапентаеновая и докозагексаеновая ПНЖК, их и «величают» — Омега-3. C22: 5 — метаболит ПНЖК биологической активностью не обладает. Концентрация в плазме крови докозагексаеновой НЖК в несколько раз больше, чем эйкозапентаеновой; первая из них — это форма ПНЖК; в которой они депонированы в ФЛ мембран внутриклеточных органелл [21]. Биологически активным предшественником синтеза эйкозаноидов группы 3 является только  $\omega$ -3 C20: 5 эйкозапентаеновая ПНЖК; по-гречески эйкоза — «двадцать» (рис. 2).

Диагностическая оценка количества в липидах плазмы крови ПНЖК затруднена: когда пациент потребляет с пищей количество  $\omega$ -3 ПНЖК больше физиологичного, содержание их в плазме крови возрастает. Когда же при атеросклерозе и избыточном содержании в гепатоцитах пальмитиновой НЖК пальмитиновые ЛПОНП→ЛПНП блокируют поглощение клетками ПНЖК, содержание их в плазме крови увеличивается. Мы полагаем, при повышении содержания в плазме крови ПНЖК рационально принимать во внимание содержание ХС-ЛПНП, ХС в составе пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП.

ХС-ЛПНП это: а) незатерифицированный ХС полярного монослоя ФХ + ХС в пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП

и б) ХС тех поли-ЭХС, которые переносят в составе ЛПНП физиологичные линолевые и линоленовые ЛПНП. Повышение ХС-ЛПНП происходит главным образом за счёт содержания незатерифицированного ХС в полярном монослое пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП. Только в неполярной форме поли-ЭХС, клетки активно поглощают ЛПНП при апоВ-100-эндоцитозе; блокирует эндоцитоз ПНЖК избыточный синтез и секреция гепатоцитами пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП.

Из C20: 5 ПНЖК клетки ещё в океане начали синтез ранних в филогенезе, высокоактивных простагландинов, простаглицлинов, тромбоксанов, лейкотриенов 3-й группы; в молекуле они имеют 3 ДС. При жизни на суше животные стали синтезировать менее активные гуморальные медиаторы из C20: 4 арахидиновой ПНЖК; в молекуле эти эйкозаноиды имеют 2 ДС. И если при атеросклерозе, при дефиците в клетках как C20: 5 эйкозапентаеновой, так и C20: 4 арахидиновой ПНЖК, клетки в порядке компенсации синтезируют эйкозаноиды не из ПНЖК, а из эндогенно синтезированной C20: 3 дигомо- $\gamma$ -линоленовой ПНЖК, из мидовой ПНЖК; афизиологичные, эти эйкозаноиды имеют в молекуле одну ДС [22] (см. рис. 2).

**C14: 0 миристиновая НЖК.** Она не является предшественником в синтезе пальмитиновой НЖК. В цикле Кноппа—Линена синтез происходит одновременно по пути C2 ацетил-КоА→C16: 0. Миристиновая НЖК образуется в пероксисомах при метаболизме избыточного количества пальмитиновой НЖК, при действии активаторов рецепторов пролиферации пероксисом — глицеринов. И если для говядины характерно высокое содержание C16: 0 пальмитиновой НЖК и C16: 1 пальмитолеиновой МЖК, баранина содержит повышенное количество C18: 0 стеариновой НЖК, то в свинине увеличено содержание C14: 0 миристиновой НЖК. И если в свином сале длинноцепочечные ЖК содержат и C20: 4 арахидиновую ПНЖК, то свиной жир сальника — почти чистая миристиновая НЖК.

Мы приводим параметры содержания в плазме крови суммы: НЖК — 897,7 мг/л (среднее значение); всех МЖК — 701,7 мг/л; всех ПНЖК с 2—3 ДС — 910,6 мг/л; арахидиновая (эйкозатетраеновая) ПНЖК — 184,4 мг/л и  $\omega$ -3 эйкозапентаеновая и докозагексаеновая ПНЖК — 96,9 мг/л.

**Коррелятивные связи между индивидуальными ЖК в липидах плазмы крови.** Казалось бы, у пациентов «мясоедов», которые потребляют с пищей много плотной пищи, в ТГ в составе ЛП в крови реально видеть более высокое содержание пальмитиновой НЖК. В то же время у пациентов, которые предпочитают растительную (травоядную) пищу, овощи и фрукты, логично выявить более высокое содержание олеиновой МЖК. Нами же при статистическом анализе выявлена достоверная позитивная коррелятивная зависимость между содержанием в ЛП плазмы крови пальмитиновой НЖК и олеиновой МЖК у пациентов с ИБС (рис. 3). Это указывает на то, что функциональная зависимость между ранней в филогенезе, структурной пальмитиновой НЖК и на миллионы лет более поздней, инсулинозависимой, энергетической (субстратной) олеиновой МЖК, не столь проста.

Наличие позитивной коррелятивной зависимости между содержанием структурной пальмитиновой НЖК и энергетической олеиновой МЖК сочетаются одновременно с тем, что их физико-химические свойства и

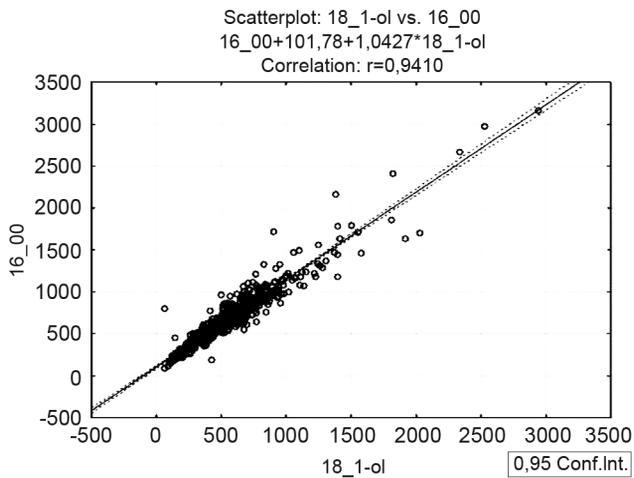


Рис. 3. Коррелятивная зависимость между содержанием в плазме крови С16: 0 пальмитиновой НЖК и  $\omega$ -9 С18: 1 олеиновой НЖК.

функция выражено разные; динамические взаимоотношения между НЖК и МЖК в филогенезе не столь однозначны.

В первом океане клеточные мембраны были тугоплавкими; температура в первом мировом океане была высока, 36—42°C; это соответствует изоволюметрическому температурному интервалу воды. Когда океан постепенно становился более холодным, клетки осваивали синтез менее тугоплавких НЖК, позже ННЖК и далее низкотемпературных ПНЖК. Митохондрии ни ННЖК, ни ПНЖК не поглощают и не окисляют; ННЖК являются в клетках структурными компонентами. ПНЖК — предшественники, субстраты синтеза гуморальных медиаторов эйкозаноидов.

Не с ранних ступеней филогенеза инсулин специфично экспрессирует эндогенный синтез С18: 1 олеиновой МЖК; она покрывает все потребности клеток в энергии. Олеиновую МЖК с более высокой скоростью реакции поглощают и окисляют митохондрии архей — самых ранних одноклеточных. Поглощение же пальмитиновой НЖК потребовало формирования в мембране митохондрий специфичного, филогенетически позднего транспортера — карнитинпальмитоил-ацилтрансферазы [23]. Освобождение НЭЖК из жировых клеток, из ТГ, в которых этерифицирована преимущественно олеиновая МЖК, с высокой скоростью осуществляет гормонозависимая липаза, освобождая ЖК в форме полярных НЭЖК в кровотоке, где их связывает и переносит липидпереносящий белок альбумин. Можно быть уверенным, что активация *in vivo* каждой из 7 биологических функций требует одновременно усиления метаболизма субстратов для построения структур и окисления энергетической олеиновой НЖК в митохондриях с целью обеспечения клеток энергией. Афизиологичной, неметаболизируемой *in vivo* формой  $\omega$ -9 С18: 1 МЖК является экзогенная транс-элаидиновая МЖК; содержание её в организме всегда низкое.

Пальмитиновая НЖК плотоядной (мясной) пищи поступает в гепатоциты от энтероцитов в форме пальмитиновых ТГ в составе хиломикронов по лимфатическим путям и с кровотоком. Если нет синтеза инсулина, при

синдроме ИР синтезировать из неё олеиновую МЖК гепатоциты не могут. Определено это тем, что биохимическое и физико-химическое окисление пальмитиновой НЖК в митохондриях сформировали на ступенях филогенеза на миллионы лет ранее, чем  $\beta$ -клетки островков стали синтезировать инсулин. Только инсулин экспрессирует синтез ферментов, используя которые гепатоциты всю эндогенно синтезированную из глюкозы пальмитиновую С16: 0 НЖК превращают в С18: 1 олеиновую МЖК.

Все клетки *in vivo* с ранних ступеней филогенеза из укусовой кислоты, из активированного ацетил-КоА синтезируют только пальмитиновую НЖК.

Большую часть глюкозы, которая образована при поедании травоядной пищи, гепатоциты превращают в пальмитиновую НЖК. Однако тут же поздний в филогенезе инсулин экспрессирует два фермента — пальмитоил-КоА-элонгазу и стеарил-КоА-десатуразу. Они *in situ* превращает всю *de novo* синтезированную гепатоцитами пальмитиновую НЖК по пути: С16: 0 пальмитиновая НЖК → С18: 0 стеариновая НЖК → С18: 1 олеиновая МЖК. Если действие инсулина *in vivo* активно, вся синтезированная из глюкозы пальмитиновая НЖК превращается в олеиновую МЖК. Так, травоядные животные формируют наиболее эффективный *in vivo* олеиновый вариант энергообеспечения всех клеток энергией.

Если синтез инсулина  $\beta$ -клетками и действие гормона поджелудочной железы нарушены, гепатоциты не могут всю синтезированную из глюкозы пальмитиновую НЖК превратить в олеиновую МЖК. При синдроме ИР формируется пальмитиновый, физиологичный, но неэффективный вариант наработки клетками АТФ. При пальмитиновом варианте метаболизма НЖК все клетки функционируют в условиях постоянного дефицита АТФ; энергии постоянно не хватает. Для митохондрий пальмитиновая НЖК оптимальным субстратом не является; митохондрии «предпочитают» окислять олеиновую МЖК.

Пока все животные в глубинах океана были плотоядными (рыбоядными), перенос экзогенных ЖК проходил по пути: тонкий кишечник → энтероциты, пальмитиновые ТГ → апоВ-48 ХМ, лимфоток → кровоток → апоЕ/В-48 эндоцитоз, гепатоциты → гидролиз ТГ, окисление афизиологичных ЖК → ресинтез пальмитиновых ТГ → апоВ-100 ЛПОНП → ЛПНП → апоВ-100 эндоцитоз → клетка.

Когда на суше плотоядные животные через миллионы лет стали травоядными, к ранее сформированным путям переноса ЖК у плотоядных, они добавили экспрессированные инсулином этапы. Они включают следующие этапы: гепатоциты синтезируют из глюкозы олеиновую МЖК → олеиновые ТГ → олеиновые ЛПОНП → формирование в крови лигандных, олеиновых ЛПОНП → апоВ-100-эндоцитоз и поглощение инсулинозависимыми клетками олеиновых ЛПОНП, без превращения в ЛПНП. Гидратированную плотность равную ЛПНП приобретают только пальмитиновые ЛПОНП. Отправной точкой переноса ЖК у травоядных животных являются гепатоциты; в плазме крови этих животных и вида *Homo sapiens* натошак преобладают более поздние в филогенезе  $\beta$ -ЛП. Физиологично это — линолевые и линоленовые ЛПНП; к клеткам они переносят, а клетки рецепторно поглощают ПНЖК в форме поли-ЭХС.

Позитивную корреляционную зависимости между

C16: 0 пальмитиновой НЖК и ее метаболитом  $\dot{\phi}$ -7 C16: 1 пальмитолеиновой МЖК можно объяснить как зависимость между субстратом и продуктом реакции, образование которого активирует фермент пальмитоил-КоА-десатураза и который медленно гидролизуют гидролазы позвоночных животных [24]. Какова же роль пальмитолеиновой МЖК, окончательно не ясно: а) возможно, на ранних ступенях филогенеза это стремление уменьшить содержание C16: 0 НЖК с высокой температурой плавления; б) возможно, это следы от незавершенных в филогенезе этапов метаболизма; в) она может быть и продуктом синтеза бактерий сообщества микробиоты в толстом кишечнике [25]. В говядине содержание пальмитолеиновой МЖК составляет  $\approx 8\%$  всего количества ЖК.

С позиций профилактики атеросклероза у травоядного человека желательнее, чтобы: а) из плотоядной (мясной) пищей поступало как можно меньше пальмитиновой НЖК; б) гепатоциты синтезировали из глюкозы оптимальное количество пальмитиновой НЖК; в) её гепатоциты при действии инсулина сразу превращали в олеиновую МЖК; г) синтезировали из неё олеиновые ТГ, которые бы гепатоциты быстро секретировали в кровотоки в составе инсулинозависимых апоЕ/В-100 олеиновых ЛПОНП.

**Филогенез и биологические основы первичной профилактики атеросклероза и атероматоза.** Согласно филогенетической теории общей патологии [26], в течение миллионов лет жизни животных в мировом океане: а) все они были плотоядными, питались себе подобными (морепродуктами, рыбной пищей); б) основной ЖК, которую клетки окисляли в митохондриях вначале в анаэробных условиях, была пальмитиновая НЖК и в) реализация пальмитинового варианта метаболизма ЖК при наработке клетками энергии. Миллионами лет в анаэробных условиях, в темноте глубин океана: а) клетки глюкозу не синтезировали, б) не было секреции ни глюкогона, ни инсулина. Океан был теплым, поперечнополосатых миоцитов ещё длительное время не было; клеткам требовалось не столь много энергии в форме АТФ; пальмитинового варианта метаболизма ЖК с целью наработки митохондриями энергии было достаточно.

Выраженные изменения метаболизма произошли в пермском и триасовом периодах; океан отступил, и многие животные оказались на суше; плотоядной, животной пищи стало мало, растительной же было много. Большинство животных погибли от голода, меньшая часть погибала от атеросклероза и атероматоза; растения на суше не синтезировали столь необходимые *in vivo* ПНЖК; остановился синтез гуморальных медиаторов — эйкозаноидов. При продолжении эволюции в новых условиях, при жизни на суше большинство животные в течение многих миллионов лет из плотоядных стали травоядными.

Решающим условием эволюции, превращения плотоядных  $\rightarrow$  травоядные явилась биологическое действие инсулина; экспрессия на ступенях филогенеза синтеза вначале инсулиноподобного фактора роста [27], позже глюкогона и в финале гуморального медиатора инсулина [28]. И если в филогенезе до инсулина каждая из клеток из ацетил-КоА синтезировала только пальмитиновую НЖК, при действии инсулина синтез ЖК продлен на две биохимические реакции, на два ацетил-КоА — C16: 0 пальмитиновая НЖК  $\rightarrow$  C18: 0 стеариновая НЖК  $\rightarrow$   $\dot{\phi}$ -9 C18: 1 олеиновая МЖК [29]. Так, на суше и в океане сформировались травоядные животные; травоядным,

точнее плодоядным, при жизни на суше стал и *Homo sapiens*.

Инсулин инициировал образование *in vivo* функционально новых зависимых от инсулина клеток. Ими стали: 1) поперечнополосатые миоциты; 2) синцитий кардиомиоцитов; 3) пул подкожных адипоцитов; 4) перипортальные гепатоциты и 5) высокоспециализированные оседлые макрофаги печени — клетки Купфера и 6) В-клетки островков Лангерганса в поджелудочной железе. Поскольку отправной точкой переноса *in vivo* ЖК у травоядных животных стали не энтероциты, а гепатоциты, инсулин сформировал поздний в филогенезе специализированный путь переноса, преимущественно олеиновой МЖК, в форме олеиновых ТГ в составе олеиновых ЛПОНП. Инсулинозависимые клетки стали поглощать лигандные, олеиновые ЛПОНП путем активного, апоЕ/В-100-эндоцитоза; образование олеиновых ЛПНП при этом не происходит.

Одновременно формируемые из экзогенной пальмитиновой НЖК, пальмитиновые ТГ гепатоциты структурируют в пальмитиновые ЛПОНП, секретировав их в кровотоки. Выраженное различие физико-химических свойств олеиновой МЖК и пальмитиновой НЖК является основой того, что большинство сформированных и секретированных гепатоцитами пальмитиновых ЛПОНП в крови становятся одноименными ЛПНП. Пальмитиновые ЛПОНП в крови: а) медленно формируют апоЕ/В-100-лиганд; б) длительно циркулируют в кровотоке; в) инициируют гиперлиппротеинемию (ГЛП) и высокий уровень холестерина (ХС) в составе пальмитиновых ЛПОНП  $\rightarrow$  ЛПНП (ХС-ЛПНП). Они блокируют поглощение клетками эссенциальных ПНЖК в форме поли-ЭХС, формируя этиологическую основу как атеросклероза, так и атероматоза.

**Различия переноса ЖК к клеткам в составе ЛПОНП у плотоядных и травоядных животных.** У плотоядных животных ранний в филогенезе перенос *in vivo* к клеткам ЖК, в частности экзогенной пальмитиновой НЖК происходит по-разному; различие это инициирует поздний в филогенезе инсулин. Началом переноса экзогенных ЖК у плотоядных животных являются энтероциты тонкого кишечника; в переносе задействованы ранние в филогенезе ЛПВП для полярных липидов (ФЛ) и хиломикроны для переноса ТГ к печени, пальмитиновые ЛПОНП и одноименные апоВ-100 ЛПОНП  $\rightarrow$  ЛПНП для переноса после печени. В плазме крови плотоядных животных (мыши, крысы, собаки) натошак преобладают самые ранние в филогенезе ЛПВП и  $\dot{\phi}$ -ЛП при электрофорезе.

У травоядных животных гепатоциты *in situ de novo* из глюкозы, как и миллионами лет ранее, синтезируют пальмитиновую НЖК и тут же превращают её в олеиновую МЖК. Клетки при активной функции инсулина синтезируют олеиновые ТГ и включают их в состав олеиновых ЛПОНП. Физиологично в крови олеиновые ЛПОНП быстро формируют апоЕ/В-100-лиганд. Все лигандные олеиновые ЛПОНП быстро поглощают зависимые от инсулина клетки. Олеиновые ЛПОНП в кровотоке олеиновыми ЛПНП не становятся. У всех травоядных животных при доминировании в крови  $\beta$ -ЛП, ХС-ЛПНП всегда низкий. У травоядных животных (кролики, морские свинки, человек) в плазме крови натошак преобладают инсулинозависимые  $\beta$ -ЛП.

Отказ пациентов от поедания плотоядной (рыбоядной пищи) афизиологичен. Миллионами лет при жизни в океане прародители человека были плотоядными. В

наследство от того времени человеку досталось то, что: а) каждая животная клетка из ацетил-КоА синтезирует пальмитиновую НЖК; б) биологические функции и реакции *in vivo* регулируют высокоактивные гуморальные медиаторы, которые клетки синтезируют только из эссенциальных ПНЖК, компонентов рыбьего жира; в) многие травоядные животные вскармливают новорожденных плотоядной пищей — материнским молоком, в котором преобладает пальмитиновый, насыщенный, животный жир; называем мы его без оснований сливочным маслом.

Отказ от поедания рыбы, алиментарный дефицит в пище эссенциальных эйкозапентаеновой и докозагексаеновой ПНЖК неотвратимо приведёт к формированию атеросклероза при менее выраженном формировании атероматоза. Можно утверждать, что *in vivo* атеросклероз развивается независимо от дефицита в клетках  $\omega$ -3 ПНЖК. Атероматоз же *in vivo* формируется параллельно избыточному количеству в пище травоядных мяса с высоким содержанием пальмитиновой НЖК, спирта ХС в пальмитиновых ЛПОИП → ЛПНП (ХС-ЛПНП) и пальмитиновых ТГ.

Экзогенная гиперхолестеринемия в экспериментах С.С. Халатова и Н.Н. Аничкова является частным случаем реализации общебиологической реакции: травоядное животное — кролик, избыток плотоядной пищи — экзогенный ХС. Воспроизвести на модели экзогенной гиперхолестеринемии атероматоз аорты у плотоядных крыс не удастся [30]. Травоядному (плодоядному) в филогенезе человеку можно посоветовать сверять свое питание с данными, которые исторически закреплены в Библии, в притче Святого Петра.

При каждом из инцидентов злоупотребления травоядным человеком (животными) плотоядной пищей и С16: 0 пальмитиновой НЖК, на уровне инсулинозависимых, поздних в филогенезе ЛПОИП формируется *locus minoris resistentia*. Пальмитиновые apoE/B-100 ЛПОИП не формируют одноименный лиганд; в крови ретенционным способом накапливаются безлигандные, пальмитиновые ЛПОИП → ЛПНП; в них-то и повышено содержание ХС-ЛПНП. Безлигандные пальмитиновые ЛПОИП → ЛПНП рецепторным путём не могут поглотить клетки, эндотелий проксимального отдела артериального русла реализует биологическую реакцию трансцитоза и переносит всё ЛП в пул сбора и утилизации «биологического мусора» — в интиму артерий. Поскольку утилизацию пальмитиновых ЛПОИП → ЛПНП в интиму осуществляют не полифункциональные оседлые макрофаги интимы, а функционально зауженные моноциты гематогенного происхождения, при реализации биологической функции эндоэкологии, биологической реакции воспаления формируется атероматоз интимы в проксимальном отделе артериального русла [31].

**Атеросклероз и атероматоз — патология двух биологических функций — трофологии и эндоэкологии.** В проспективных клинических протоколах показано, что сумма насыщенных ЖК, в первую очередь пальмитиновая НЖК, но не ННЖК и не углеводы, определяют риск ИБС [32]. Олеиновая же МЖК предотвращает действие избытка пальмитиновой НЖК, нарушение функции митохондрий при формировании синдрома ИР [33]. Показано также, что и пальмитолеиновая МЖК может оказать влияние на функцию оседлых макрофагов и выраженность синдрома ИР [34].

Атеросклероз мы воспринимаем как функциональное нарушение — перенос в крови травоядных животных в

составе поздних в филогенезе ЛП — ЛПОИП не синтезированной из глюкозы олеиновой МЖК, а экзогенной пальмитиновой НЖК, что характерно для плотоядных животных, для мясоедов [35]. Физико-химические свойства эндогенной олеиновой МЖК, олеиновых ТГ, одноименных ЛПОИП существенно отличаются от параметров экзогенной пальмитиновой НЖК, пальмитиновых ТГ и пальмитиновых ЛПОИП. Этиологическими факторами атеросклероза являются: а) избыточное, афизиологичное потребление травоядным видом *Homo sapiens* плотоядной (животной) пищи и б) существенно более низкие кинетические параметры участия С16: 0 пальмитиновой НЖК во всех биохимических реакциях *in vivo*, по сравнению с высокими параметрами метаболизма, которыми обладает С18: 1 олеиновая МЖК.

Атероматоз — катаболизм (утилизация) *in vivo* тех ПНЖК, которые из крови не смогли поглотить клетки в составе пальмитиновых ЛПНП; это ПНЖК в неполярной форме эфиров с одноатомным, циклическим, вторичным спиртом ХС — поли-ЭХС. Сбор и утилизация ПНЖК в составе ЛПНП проходит в интиму артерий; неполный катаболизм поли-ЭХС при действии моноцитов гематогенного происхождения формирует атероматозные отложения липидов (бляшки), стенозирование артерий эластического типа, с клинической картиной ИБС и ишемией ткани мозга.

Этиологические факторы атероматоза: а) локализация в филогенезе пула сбора и утилизации эндогенных флогогенов (инициаторов биологической реакции воспаления) из локального пула внутрисосудистой межклеточной среды в интиму филогенетически поздних артерий эластического типа и б) отсутствие у моноцитов гематогенного происхождения экспрессии кислых гидролаз поли-ЭХС; это и обуславливает формирование атероматозных масс (бляшек) — только частично гидролизованных поли-ЭХС, неполярных катаболитов ПНЖК. Сколь высоко количество в кровотоке пальмитиновых ЛПОИП → ЛПНП, сколь высок в плазме крови ХС-ЛПНП, сколь выражен дефицит в клетках ПНЖК, столь велико количество атероматозных масс, которые годами накапливаются в интиму.

С позиций филогенетической теории общей патологии, атеросклероз и атероматоз — это два разных этиологически обусловленных афизиологичных процесса; объединяет их только общность патогенеза и последовательное становление в онтогенезе. Выраженное различие этиологии двух патологических процессов обусловлено, в первую очередь тем, что это нарушение *in vivo* разных биологических функций.

Атеросклероз — это нарушение биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии (внешнего питания) и биологической функции адаптации, биологической реакции компенсации в ответ на выраженный дефицит в клетках  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 ПНЖК. При алиментарном дефиците в организме и в каждой из клеток  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 ПНЖК, при синтезе эйкозаноидов 1-й группы из афизиологичного предшественника эндогенной С20: 3 дигомо- $\gamma$ -линоленовой ННЖК формируется выраженный атеросклероз, нарушение всех сторон метаболизма, включая и биологическую реакцию метаболизм ↔ микроциркуляция. При этом атероматоз интимы артерий эластического типа в проксимальном отделе артериального русла выражен в малой степени.

Атероматоз — нарушение биологической функции эндоэкологии, биологической реакции воспаления

и биологической реакции врожденного иммунитета. Атероматоз — процесс утилизации локально *in vivo* в интима всей массы безлигандных, пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП. Они содержат все ПНЖК в форме поли-ЭХС, которые не смогли поглотить клетки путем апоВ-100-эндоцитоза в составе физиологичных линолевых и линоленовых ЛПНП путём апоВ-100-эндоцитоза.

Патогенетический фактор атеросклероза — нарушение биологической функции трофологии, биологической функции экзотрофии — алиментарный дефицит в пище  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 ПНЖК при соблюдении физиологичных параметров питания травоядного (плодоядного) человека. При этом атероматоз в интима артерий эластического типа в проксимальном отделе артериального русла может быть выражен умеренно, в то время как многие стороны метаболизма *in vivo* нарушены.

Патогенетический фактор атероматоза — злоупотребление травоядного человека животной (мясной) пищей, большим количеством пальмитиновой НЖК, формированием в гепатоцитах большого количества пальмитиновых ТГ и одноименных ЛПОНП. Поздние в филогенезе инсулинозависимые ЛПОНП переносить их к клеткам не могут, как и клетки не в состоянии их поглощать. Накопление в кровотоке безлигандных пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП блокирует поглощение клетками ЛПНЖК в форме поли-ЭХС в составе физиологичных линолевых и линоленовых ЛПНП путем апоВ-100-эндоцитоза.

Пройдет время, мы разберемся в различии этиологии и патогенетической общности атеросклероза и атероматоза; однако уже пора формировать представление, что *in vivo* существуют два разных по этиологии, патогенетически связанных патологических процесса — атеросклероз и атероматоз. Мы уверены; эти представления, с позиций филогенетической теории общей патологии, помогут клиницистам разобраться в диагностике, профилактики и лечении, когда при выраженной ГЛП явления атероматоза выражены в малой мере и распространённое поражение коронарных артерий происходит в условиях почти что нормолипидемии. А вот филогенетически обоснованные пути профилактики афиологичных процессов атеросклероза и атероматоза будут во многом едиными.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2—3; 7—23; 25: 28—29; 32—34 см. REFERENCES)

1. Титов В.Н. *Метаболический синдром — переядание физиологичной пищи. Висцеральные жировые клетки, неэтерифицированные и свободные жирные кислоты.* М.: ИНФРА-М; 2017.
4. Кэрри Н. *Эпигенетика: как современная биология переписывает наши представления о генетике, заболеваниях и наследственности.* Ростов-на-Дону: Феникс; 2012.
5. Титов В.Н., Ариповский А.В., Каба С.И., Колесник П.О., Веждел М.И., Ширяева Ю.К. Индивидуальные жирные кислоты в плазме крови, эритроцитах и липопротеинах. Сравнение результатов больных ишемической болезнью сердца и добровольцев. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2012; 7: 3—8.
6. Титов В.Н., Котловский М.Ю., Якименко А.В., Курдожк Е.В., Якимович И.Ю., Гришанова А.Ю., Аксютин И.В. Модель экзогенной гиперхолестеринемии у крыс и жирные кислоты плазмы крови; видовые особенности липопротеинов, статины и  $\omega$ -3 полиеновые кислоты. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(1): 28—36.

24. Титов В.Н., Рожкова Т.И., Самоходская Л.М. Нарушение единения сопряженных биохимических реакций в синтезе эндогенной  $\omega$ -9 олеиновой кислоты. Резистентность к инсулину, Стеариновые триглицериды и патогенез эруптивных ксантом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(2): 68—77.
26. Титов В.Н. *Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз.* М.: ИНФРА-М; 2014.
27. Анисимов В.Н. *Молекулярные и физиологические механизмы старения.* СПб: Наука; 2008.
30. Коткина Т.И., Титов В.Н. Позиционные изомеры триглицеридов в маслах, жирах и апоВ-100-липопротеинах. Пальмитиновый и олеиновый варианты метаболизма жирных кислот — субстратов для наработки энергии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2014; 1: 22—42.
31. Титов В.Н. Избыток пальмитиновой жирной кислоты в пище — основная причина липоидоза инсулинзависимых клеток: скелетных миоцитов, кардиомиоцитов, перипортальных гепатоцитов, макрофагов Купфера и  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61(2): 68—77.
35. Титов В.Н. Единая этиология, отдельный патогенез и основы профилактики атеросклероза и атероматоза. Выраженные различия переноса жирных кислот в липопротеинах в крови травоядных и плотоядных животных. *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний.* 2016; 4(12): 26—43.

## REFERENCES

1. Titov V.N. *Metabolic syndrome - overeating of physiological food. Visceral fat cells, unesterified and free fatty acids [Metabolicheskiy sindrom - pereedanie fiziologicheskoy pishchi. Vistseral'nye zhirnyye kletki, neeterifitsirovannye i svobodnye zhirnye kisloty].* INFRA-M; 2017. (in Russian)
2. Serviddio G., Bellanti F., Vendemiale G. Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease. *Free. Radic. Biol. Med.* 2013; 65: 952—68.
3. Cardoso A.S., Gozaga N.C., Medeiros C.C., Carvalho D.F. Association of uric acid levels with components of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease in overweight or obese children and adolescents. *J. Pediatr. (Rio J).* 2013; 89(4): 412—8.
4. Kerri N. Epigenetics: how modern biology rewrites our ideas about genetics, diseases and heredity. [*Epigenetika: kak sovremennaya biologiya perepisyvaet nashi predstavleniya o genetike, zabolevaniyakh i nasledstvennosti.*] Rostov- na- Donu: Feniks; 2012. (in Russian)
5. Titov V.N., Aripovskiy A.V., Kaba S.I., Kolesnik P.O., Vezhdel M.I., Shiryayeva Yu.K. Individual fatty acids in blood plasma, erythrocytes and lipoproteins. Comparison of the results of patients with ischemic heart disease and volunteers. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2012; 7: 3—8. (in Russian)
6. Titov V.N., Kotlovskiy M.Yu., Yakimenko A.V., Kurdojak E.V., Yakimovich I.Yu., Grishanova A.Yu., Aksyutina I.V. Model of exogenous hypercholesterolemia in rats and fatty acids of blood plasma; Specific features of lipoproteins, statins and  $\omega$ -3 polyenoic acids. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya biologiya.* 2017; 61(1): 28—36. (in Russian)
7. Turner N., Cooney G., Kraegen E.W., Bruce C.R. Fatty acid metabolism, energy expenditure and insulin resistance in muscle. *J. Endocrinol.* 2014; 220(2): T61—79.
8. Sonnenburg J.L., Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature.* 2016; 535(7610): 56—64.
9. McZaffarian D., Cao H., King I.B., Lemaitre R.N., Song X., Siscovick D.S., Hotamisligil G.S. Circulating palmitoleic acid and risk of metabolic abnormalities and new-onset diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010; 92(6): 1350—8.
10. Beppu F., Kawamatsu T., Yamatani Y., Nagai T., Yoshinaga K., Mizobe H., Yoshida A. Comparison of catabolic rates of sn-1, sn-2,

- and sn-3 fatty acids in triacylglycerols using  $^{13}\text{C}$  breath test in mice. *J. Oleo. Sci.* 2017; 66(1): 85—91.
11. Moradi Y., Bakar J., Motalebi A.A., Muhamad S., Chen Man Y. A review of fish lipid: composition and changes during cooking methods. *J. Aquatic food product technology.* 2011; 20(4): 379—90.
  12. Smink W., Gerrits W.J., Gloaguen M., Ruiter A., van Baal J. Linoleic and  $\alpha$ -linolenic acid as precursor and inhibitor for the synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in liver and brain of growing pigs. *Animal.* 2012; 6(2): 262—70.
  13. Holub D.J., Holub B.J. Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Mol. Cell. Biochem.* 2004; 263(1—2): 217—25.
  14. Yary Yary T., Tolmunen T., Lehto S.M., Tuomainen T.P., Nurmi T., Kauhanen J., Voutilainen S., Ruusunen A. Serum dihomo- $\gamma$ -linolenic acid level is inversely associated with the risk of depression. A 21-year follow-up study in general population men. *J. Affect. Disord.* 2017; 213: 151—5.
  15. Bazinet R.P., Chu M. Omega-6 polyunsaturated fatty acids: is a broad cholesterol-lowering health claim appropriate? *CMAJ.* 2014; 186(6): 434—9.
  16. Harris W.S., von Schacky C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev. Med.* 2004; 39(1): 212—20.
  17. El-Badry A.M., Grat R., Clavien P.A. Omega 3 — Omega 6: what is right for the liver? *J Hepatol.* 2007; 47(5): 718—25.
  18. Hagi A., Nakayama M., Shinzaki W., Haji S., Ohyanagi H. Effects of the omega-6:omega-3 fatty acid ratio of fat emulsions on the fatty acid composition in cell membranes and the anti-inflammatory action. *JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr.* 2010; 34(3): 263—70.
  19. Much D., Brunner S., Vollhardt C., Schmid D., Sedlmeier E.M., Brüderl M. Effect of dietary intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio on maternal and fetal fatty acid profile and its relation to offspring growth and body composition at 1 year of age. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2013; 67(3): 282—8.
  20. Rudolph M.C., Young B.E., Lemas D.J., Palmer C.E., Hernandez T.L., Barbour L.A. Early infant adipose deposition is positively associated with the n-6 to n-3 fatty acid ratio in human milk independent of maternal BMI. *Int. J. Obes. (Lond).* 2017; 41(4): 510—7.
  21. Nyantika, Voutilainen S., Virtanen J.A.N., Tuomainen T.P., Kauhanen J.K. Serum long-chain omega-3 polyunsaturated Fatty acids and future blood pressure in an ageing population. *J. Nutr. Health\_Aging.* 2015; 19(5): 498—503.
  22. Umemoto N., Ishii H., Kamoi D., Aoyama T., Sakakibara T., Takahashi H., Tanaka A. Reverse association of omega-3/omega-6 polyunsaturated fatty acids ratios with carotid atherosclerosis in patients on hemodialysis. *Atherosclerosis.* 2016; 249: 65—9.
  23. Topku Y., Bayram M.Y., Bayram E., Karaoğlu P., Yiş U., Kurul S.H. Carnitine palmitoyl transferase II deficiency in an adolescent presenting with rhabdomyolysis and acute renal failure. *Pediatr. Emerg. Care.* 2014; 30(5): 343—4.
  24. Titov V.N., Rozhkova T.A., Samokhodskaya L.M. Disturbance of the unification of conjugated biochemical reactions in the synthesis of endogenous  $\omega$ -9 oleic acid. Insulin resistance, Stearin triglycerides and pathogenesis of eruptive xanthomas. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2017; 62(2): 68—77. (in Russian)
  25. Cani C.P., Delzenne N.M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr. Pharm. Des.* 2009; 15(13): 1546—58.
  26. Titov V.N. *Phylogenetic theory of general pathology. The pathogenesis of the diseases of civilization. Atherosclerosis. [Filogeneticheskaya teoriya obschey patologii. Patogenez bolezney tsivilizatsii. Atheroscleroz.]* Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
  27. Anisimov V.N. Molecular and physiological mechanisms of aging. *[Molekulyarnye i fiziologicheskiye mekhanizmy stareniya]*. Sankt-Petersburg: Nauka; 2008. (in Russian)
  28. Ma W., Wu J., Wang Q., Lemaitre R.N., Mukamal K.J., Djousse L., King I.B. Prospective association of fatty acids in the de novo lipogenesis pathway with risk of type 2 diabetes: the cardiovascular health study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2015; 101(1): 153—63.
  29. Cho J.S., Baek S.H., Kim J.Y., Lee J.H., Kim O.Y. Serum phospholipid monounsaturated fatty acid composition and  $\Delta$ -9-desaturase activity are associated with early alteration of fasting glycemic status. *Nutr. Res.* 2014; 34(9): 733—41.
  30. Kotkina T.I., Titov V.N. Positional isomers of triglycerides in oils, fats and apoB-100-lipoproteins. Palmitin and olein variants of the metabolism of fatty acids — substrates for energy production. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2014; 1: 22—42. (in Russian)
  31. Titov V.N. Excess palmitic fatty acid in food is the main cause of lipoidosis of insulin-dependent cells: skeletal myocytes, cardiomyocytes, periportal hepatocytes, macrophages of the Kupffer and  $\beta$ -cells of the pancreas. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2016; 61(2): 68—77. (in Russian)
  32. Li Y., Hruby A., Bernstein A.M., Ley S.H., Wang D.D., Chiuve S.E. Saturated fats compared with unsaturated fats and sources of carbohydrates in relation to risk of coronary heart disease: A Prospective Cohort Study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015; 66(14): 1538—48.
  33. Know B., Lee H.K., Querfurth H.W. Oleate prevents palmitate-induced mitochondrial dysfunction, insulin resistance and inflammatory signaling in neuronal cells. *Biochim. Biophys Acta.* 2014; 1843(7): 1402—13.
  34. Talbot N.A., Wheeler-Jones C.P., Cleasby M.E. Palmitoleic acid prevents palmitic acid-induced macrophage activation and consequent p38 MAPK-mediated skeletal muscle insulin resistance. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2014; 393(1—2): 129—42.
  35. Titov V.N. Unified etiology, separate pathogenesis and the basis for the prevention of atherosclerosis and atheromatosis. Expressed differences in the transfer of fatty acids in lipoproteins in the blood of herbivores and carnivores. *Meghdunarodny zhurnal serdca i sosudistyh zabolevaniy.* 2016; 4(12): 26—43. (in Russian)

Поступила 18.04.17

Принята к печати 11.05.17

Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Ушакова Н.Д., Филатова Е.В., Немашкалова Л.А., Дурицкий М.Н.

## ОЦЕНКА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И УРОВНЯ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ У ОНКОУРОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, 344037, Ростов-на-Дону, Россия

*Цель данной работы — сравнительный анализ уровня эндогенной интоксикации и содержания белков острой фазы у больных раком мочевого пузыря с успешным лечением и осложнённым течением заболевания. Для оценки уровня эндогенной интоксикации у больных исследовали содержание молекул средней массы и функциональные свойства альбумина, о которых судили по соотношению эффективной и общей концентраций альбумина, рассчитывали коэффициент интоксикации, отражающий баланс между накоплением в плазме крови и связыванием токсических лигандов. Проведён анализ показателей эндогенной интоксикации у больных раком мочевого пузыря до начала лечения, после комплексного лечения и у пациентов с осложнением основного заболевания хронической почечной недостаточностью, а также у больных раком почки до начала лечения и у пациентов с онкоурологией обеих локализаций, у которых послеоперационный период осложнился развитием грамнегативного сепсиса. Результаты исследования эндотоксикоза при онкоурологической патологии сопоставлены с уровнем острофазных белков: С-реактивного белка и гаптоглобина. Для больных мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря с раком почки было характерно снижение эффективной концентрации и связывающей способности альбумина на фоне повышенного уровня эндотоксинов. У больных раком мочевого пузыря с хронической почечной недостаточностью изменения всех показателей были выражены в большей степени. Максимальное нарушение способности альбумина связывать продукты эндотоксикоза, увеличение уровня молекул средней массы и многократный рост С-реактивного белка были характерны для пациентов с развившимся сепсисом. Полученные данные свидетельствуют об информативности изученных показателей для оценки состояния онкоурологических больных.*

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря; рак почки; эндогенная интоксикация; связывающая способность альбумина; белки острой фазы.

**Для цитирования:** Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Ушакова Н.Д., Филатова Е.В., Немашкалова Л.А., Дурицкий М.Н. Оценка эндогенной интоксикации и уровня белков острой фазы у онкоурологических больных в зависимости от течения заболевания. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (11): 666-671. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-666-671>

*Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Ushakova N.D., Filatova E.V., Nemashkalova L.A., Duritsky M.N.*

### THE EVALUATION OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND LEVEL OF PROTEINS OF ACUTE PHASE IN ONCO-UROLOGICAL PATIENTS DEPENDING ON COURSE OF DISEASE

The Federal state budget scientific institution "The Rostov research oncologic institute" of Minzdrav of Russia, 344037 Rostov-on-Don, Russia

*The purpose of the study is to carry out a comparative analysis of endogenous intoxication and content of proteins of acute phase in patients with urinary bladder cancer with successful treatment and complicated course of disease. To evaluate level of endogenous intoxication in patients the analysis was applied concerning content of molecules of average mass and functional characteristics of albumin assessed by ratio of efficient and total concentration of albumin. The coefficient of intoxication was calculated reflecting balance between cumulation of toxic ligands in blood plasma and their binding. The analysis was implemented concerning indices of endogenous intoxication in patients with urinary bladder cancer prior to treatment, after complex treatment and in patients with main disease complicated by renal insufficiency and in patients with onco-urology of both localizations when post-operational period was complicated by development of gram-negative sepsis. The results of study of endotoxemia in case of onco-urological pathology were compared against the level of acute-phase proteins: C-reactive protein and haptoglobin. In case of patients with muscular non-invasive urinary bladder cancer and patients with kidney cancer typically occurred decreasing of efficient concentration of albumin and its binding capacity against the background of increased level of endotoxins. In patients with urinary bladder cancer with chronic renal insufficiency alterations of all indices were expressed in a higher degree. The maximal derangement of capacity of albumin to bind products of endotoxemia, increasing of level of molecules of average mass and multiple increasing of C-reactive protein were specific in patients with developed sepsis. The obtained data testifies the informativeness of analyzed indices for evaluation of condition of onco-urological patients.*

**Key words:** urinary bladder cancer; kidney cancer; endogenous intoxication; binding capacity of albumin; acute phase proteins

**For citation:** Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Ushakova N.D., Filatova E.V., Nemashkalova L.A., Duritsky M.N. The evaluation of endogenous intoxication and level of proteins of acute phase in onco-urological patients depending on course of disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (11): 666-671. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-666-671>

**For correspondence:** *Goroshinskaya I.A.*, doctor of biological sciences, professor, chief researcher of laboratory of studies of pathogenesis of malignant tumors of the Federal state budget scientific institution "The Rostov research oncologic institute". e-mail: [iagor17@mail.ru](mailto:iagor17@mail.ru)

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 30.06.2017  
Accepted 03.07.2017

Онкоурологическая патология — одна из нерешённых проблем в мировом здравоохранении. По данным всемирного отчёта о раке ВОЗ за 2014 г., выявлено около 2 млн новых случаев в год, преобладающей патологией является рак предстательной железы (около 1 млн), на 2-м и 3-м месте по частоте встречаемости — рак мочевого пузыря (РМП) и почек [1]. Заболеваемость онкоурологической патологией в России в 2016 г. составила около 71 тыс. впервые выявленных случаев, из них на Южный Федеральный округ пришлось около 8 тыс. случаев [2]. По каждой патологии статистические показатели схожи, однако в Ростовской области удельный вес рака мочевого пузыря на 0,8% выше, чем по стране, и составляет 5,3% [3]. Несмотря на успехи в диагностике и лечении, цифры смертности от онкоурологической патологии остаются высокими. По количеству клинических проблем, разнообразию и сложности хирургических операций раку мочевого пузыря отводится одно из основных мест в онкоурологии. Данное заболевание очень часто приводит к инвалидизации, несмотря на то, что разработана система активного выявления. Риск рецидива после хирургического лечения составляет до 70%. Почти в 30% случаев рецидивов отмечается повышение стадии заболевания и/или степени злокачественности, т. е. поверхностный РМП прогрессирует в инвазивную форму. У 50% таких больных через 2 года после лечения выявляются метастазы [4].

На момент постановки диагноза у 70—85% пациентов выявляется РМП без инвазии мышечной оболочки (мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря, МНРМП) (pTa, pT1). Основным методом хирургического лечения МНРМП — трансуретральная резекция (ТУР) [5]. Особенностью течения МНРМП после ТУР является высокая частота рецидивов (до 80%) и склонность к прогрессированию заболевания (до 20%). Почти у 50% пациентов рецидив развивается в первые 2 года после операции. Основные причины такого высокого показателя рецидивирования — диффузный характер неопластических изменений уротелия, наличие рака *in situ* (CIS), возможность имплантации опухолевых клеток во время операции. Для улучшения результатов лечения МНРМП широко применяется адъювантная внутрипузырная химиотерапия (ВПХТ) и иммунотерапия [6].

У больных со злокачественными новообразованиями (рак простаты, рак яичек, рак шейки и тела матки) значительно чаще, чем в общей популяции, встречается частичная или полная обструкция мочевых путей, которая приводит к нарушению функции почек. Установлено также, что у больных, оперированных по поводу онкологических заболеваний, гнойно-септические осложнения развиваются в 4—8 раз чаще, чем у неонкологических пациентов.

В структуре клинических проявлений опухолевой болезни синдром эндогенной интоксикации занимает одно из ведущих мест, поскольку эндотоксикоз является одним из наиболее значимых факторов развития поли-

органной и полисистемной недостаточности и определяет, в конечном итоге, течение и исход заболевания [7—9]. Большое значение придаётся развитию у онкоурологических больных системного воспалительного ответа, способствующего опухолевому росту и прогрессии злокачественного процесса [10, 11]. Это обусловило актуальность изучения показателей эндогенной интоксикации, функциональной способности альбумина связывать продукты эндотоксикоза, а также содержания С-реактивного белка и гаптоглобина у онкоурологических больных с разным течением процесса.

Цель данной работы — сравнительный анализ уровня эндогенной интоксикации и содержания белков острой фазы у больных РМП с успешным лечением и осложнённым течением заболевания.

**Материал и методы.** Показатели эндогенной интоксикации были исследованы в крови 25 больных мышечно-неинвазивным РМП и 13 больных раком почки, получавших лечение в урологическом отделении РНИОИ Минздрава России. У части больных исследовано также содержание белков острой фазы воспаления — С-реактивного белка и гаптоглобина. Были сформированы следующие группы: больные РМП до начала лечения — 11 человек, 9 из которых, получивших комплексное лечение, включавшее трансуретральную резекцию и внутрипузырную адъювантную химиотерапию гемцитабином, были обследованы через 3 мес после операции и составили группу РМП после лечения; 10 больных РМП с почечной недостаточностью в результате обструкции мочевых путей и 4 пациента с РМП, у которых постоперационный период осложнился развитием граммотрицательного сепсиса. Кроме того, для сравнения уровень эндотоксикоза был оценён у 11 больных, поступивших в урологическое отделение с диагнозом: «рак почки», и у 2 больных раком почки с сепсисом в постоперационном периоде. Наличие сепсиса было подтверждено результатами бактериологических исследований. У пациентов, вошедших в группу с почечной недостаточностью, при поступлении в урологическое отделение наблюдалась обструкция мочевых путей, обусловленная онкологическим процессом и сопровождавшаяся нарушением адекватного оттока мочи и повышением уровня мочевины и креатинина в крови. Одновременно было обследовано 12 относительно здоровых мужчин и женщин без онкопатологии, сопоставимых по возрасту с обследованными (группа доноров). Биохимические показатели были сопоставлены в группах пациентов между собой и со значениями в группе доноров.

Для оценки уровня эндогенной интоксикации у больных исследовали содержание молекул средней массы и функциональные свойства альбумина. Содержание молекул средней массы (МСМ) в плазме крови определяли по модифицированному методу Н.И. Габриэлян, В.И. Липатовой (1984) при двух длинах волн — 254 нм (МСМ<sub>254</sub>) и 280 нм (МСМ<sub>280</sub>) [12]. Общую концентрацию альбумина (ОКА) определяли унифицированным

колориметрическим методом с использованием набора реагентов Ольвекс Диагностикум (Санкт-Петербург). Эффективную концентрацию альбумина (ЭКА), отражающую его транспортную функцию, определяли модифицированным методом с использованием конго красного. Резервную связывающую способность альбумина (ССА), соответствующую отношению величин свободных связей пула молекул альбумина к общему количеству его связей, оценивали по отношению ЭКА/ОКА • 100%. Функциональное состояние молекулы альбумина (сорбционную способность), зависящее от конформационных изменений его молекулы, оценивали с помощью индекса токсичности (ИТ), который рассчитывали по формуле ИТ = ОКА/ЭКА – 1. Баланс между накоплением в плазме крови и связыванием токсических лигандов оценивали с помощью коэффициента интоксикации (КИ), который рассчитывали по формуле КИ = (МСМ<sub>254</sub>/ЭКА) • 1000 [13]. Содержание С-реактивного белка и гаптоглобина определяли на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 (Roche) унифицированными методиками с использованием наборов реактивов, поставляемых фирмой РОШ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0 по *t*-критерию Стьюдента для двух независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при  $p <$

0,05 —  $p = 0$ , а при  $0,1 > p > 0,05$  — на уровне статистической тенденции.

**Результаты.** Для больных МНРМП до начала лечения было характерно увеличение обеих фракций МСМ: МСМ<sub>254</sub> на 32,4%, МСМ<sub>280</sub> на 73,2% и снижение показателей, характеризующих функциональную активность альбумина: ЭКА на 22%, ССА на 21%, что приводило к увеличению ИТ в 2,9 раз и КИ на 82,3% по сравнению с показателями в группе без онкопатологии. После проведения этим больным комплексного лечения (хирургическое лечение + внутривенная адьювантная химиотерапия) наблюдалось как снижение содержания МСМ, которые менее значительно превышали норму (на 17,2 и 61,3% соответственно), так и частичное восстановление способности альбумина связывать токсины — ЭКА было снижено лишь на 13,5%, ССА — на 13,8%, ИТ превышал норму на 83,4%. Это нашло отражение в КИ, который снизился относительно исходного уровня на 25,1%, превышая норму лишь на 36,6%. В данной группе больных не наблюдалось изменений ОКА ни до, ни после лечения (табл. 1).

Значительно более выраженные изменения исследованных показателей эндогенной интоксикации были выявлены у больных РМП с почечной недостаточностью. Содержание МСМ<sub>254</sub> превышало уровень доноров на 86,4%, МСМ<sub>280</sub> — на 77,4%. Содержание МСМ<sub>254</sub> было

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации в крови больных раком мочевого пузыря и раком почки

Группа больных	МСМ <sub>254</sub>	МСМ <sub>280</sub>	ОКА	ЭКА	ССА	КИ	ИТ
	У.Е. экстинкции	У.Е. экстинкции	г/л	г/л	(ЭКА/ОКА•100%)	(МСМ <sub>254</sub> /ЭКА•1000)	(ОКА/ЭКА – 1)
Доноры, $n = 12$	0,250 ± 0,007	0,235 ± 0,008	44,67 ± 1,16	36,49 ± 1,26	81,92 ± 1,95	6,83 ± 0,18	0,229 ± 0,032
РМП до лечения, $n = 11$	0,331 ± 0,026 $p = 0,005616$	0,407 ± 0,043 $p = 0,000486$	43,86 ± 2,23	28,46 ± 2,59 $p = 0,009297$	64,68 ± 4,67 $p = 0,002064$	12,45 ± 1,4 $p = 0,000450$	0,657 ± 0,162 $p = 0,013123$
РМП после лечения, $n = 9$	0,293 ± 0,011 $p = 0,003644$	0,379 ± 0,025 $p = 0,000006$	44,6 ± 1,04	31,57 ± 1,23 $p = 0,013561$	70,59 ± 1,21 $p = 0,000226$	9,33 ± 0,33 $p = 0,000001$ $p_1 = 0,064634$	0,420 ± 0,024 $p = 0,000243$
Почечная недостаточность при РМП, $n = 10$	0,466 ± 0,046 $p = 0,000000$ $p_1 = 0,002835$ $p_2 = 0,000102$	0,417 ± 0,037 $p = 0,000007$	39,67 ± 2,73 $p = 0,080199$	25,16 ± 1,88 $p = 0,000050$ $p_2 = 0,012853$	66,76 ± 6,61 $p = 0,027578$	19,87 ± 2,04 $p = 0,000001$ $p_1 = 0,006721$ $p_2 = 0,000154$	0,784 ± 0,276 $p = 0,032095$
Сепсис у больных РМП, $n = 4$	0,432 ± 0,101 $p = 0,005639$ $p_2 = 0,057700$ $p_5 = 0,045641$	0,438 ± 0,126 $p = 0,010505$ $p = 0,000000$ $p_5 = 0,078678$	29,35 ± 0,73 $p = 0,000004$ $p_1 = 0,002178$ $p_2 = 0,000002$ $p_3 = 0,006656$	9,18 ± 1,2 $p = 0,000000$ $p_1 = 0,000829$ $p_2 = 0,000000$ $p_3 = 0,002136$	31,33 ± 4,93 $p = 0,000000$ $p_1 = 0,001599$ $p_2 = 0,000000$ $p_3 = 0,013180$	53,1 ± 18,6 $p = 0,000373$ $p_1 = 0,002214$ $p_2 = 0,003237$ $p_3 = 0,016128$	2,429 ± 0,509 $p = 0,000002$ $p_1 = 0,000628$ $p_2 = 0,000063$ $p_3 = 0,000033$
Рак почки до лечения, $n = 11$	0,328 ± 0,019 $p = 0,000819$ $p_3 = 0,000871$	0,250 ± 0,017 $p_1 = 0,002847$ $p_3 = 0,000308$	39,78 ± 1,22 $p = 0,008279$	23,1 ± 1,8 $p = 0,000004$	58,28 ± 4,43 $p = 0,000056$	14,6 ± 0,795 $p = 0,000000$ $p_3 = 0,022101$	0,840 ± 0,175 $p = 0,001723$
Сепсис у больных раком почки, $n = 2$	0,888 ± 0,077 $p = 0,000000$ $p_4 = 0,000000$	0,889 ± 0,06 $p = 0,000000$ $p_4 = 0,000000$	33,45 ± 0,85 $p = 0,002794$ $p_4 = 0,057350$	9,5 ± 1,4 $p = 0,000002$ $p_4 = 0,010365$	28,32 ± 3,47 $p = 0,000000$ $p_4 = 0,018412$	96,71 ± 22,31 $p = 0,000000$ $p_4 = 0,000000$	3,086 ± 0,061 $p = 0,000000$ $p_4 = 0,000260$

Примечание. Значимость различий:  $p$  — относительно группы доноров;  $p_1$  — относительно значений при РМП без почечной недостаточности до лечения;  $p_2$  — относительно значений при РМП без почечной недостаточности после лечения;  $p_3$  — относительно значений при РМП с почечной недостаточностью;  $p_4$  — относительно значений при раке почки до лечения;  $p_5$  — между значениями при сепсисе у больных РМП и раком почки.

Таблица 2

**Содержание С-реактивного белка и гаптоглобина в плазме крови больных раком мочевого пузыря в процессе лечения**

Группы больных	Содержание С-РБ, мг/л	Содержание гаптоглобина, г/л
Доноры (без онкопатологии), <i>n</i> = 25	1,674 ± 0,159	1,2 ± 0,083
До лечения, <i>n</i> = 10	9,583 ± 2,734 <i>p</i> = 0,000055	1,883 ± 0,097 <i>p</i> = 0,000029
После лечения, <i>n</i> = 10	1,753 ± 0,265 <i>p</i> = 0,794693 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,010634	1,705 ± 0,051 <i>p</i> = 0,000356 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,122603
Сепсис, <i>n</i> = 4	96,318 ± 29,715 <i>p</i> = 0 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,000384 <i>p</i> <sub>2</sub> = 0,000140	2,813 ± 0,634 <i>p</i> = 0,000046 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,04126 <i>p</i> <sub>2</sub> = 0,013726

Примечание. Значимость различий: *p* — относительно группы доноров; *p*<sub>1</sub> — относительно значений при РМП до лечения; *p*<sub>2</sub> — относительно значений при РМП после лечения.

статистически значимо выше, чем у больных РМП без почечной недостаточности как до, так и после лечения — на 40,1 и 59% соответственно. ЭКА и ССА были снижены на 31 и 18,5%, ИТ и КИ увеличены в 3,4 и 2,9 раза относительно группы без онкопатологии. При почечной недостаточности наблюдались статистически значимые отличия ЭКА относительно больных РМП без почечной недостаточности после лечения (ниже на 20%), а КИ относительно уровня у неосложнённых больных РМП как до, так и после лечения (выше на 59,6 и 113% соответственно). При почечной недостаточности отмечалась тенденция к значимому снижению ОКА — на 11,2% относительно доноров.

Уровень показателей эндотоксикоза у больных РМП был сопоставлен с соответствующими показателями у первичных больных раком почки (см. табл. 1). Установлено, что при раке почки наблюдалось снижение ОКА на 10,9%, ЭКА — на 36,7%, ССА — на 28,9%, ИТ и КИ были увеличены в 3,7 и 2,1 раза соответственно по сравнению со значениями в группе доноров. В отличие от РМП при раке почки не отмечено увеличения МСМ<sub>280</sub>, хотя концентрация МСМ<sub>254</sub> была повышена сходным образом (на 31,2%).

При развитии сепсиса у больных РМП на фоне высокого содержания МСМ (выше нормы на 72,8—86,4%) имело место максимальное нарушение всех изученных характеристик альбумина: снижение ОКА достигало 34,3%, ЭКА — 74,8%, ССА — 61,7%, ИТ и КИ были увеличены в 10,6 и 7,8 раза относительно значений в группе без онкопатологии, и все показатели статистически значимо отличались от их значений в остальных группах больных РМП. Ещё более выраженные изменения были выявлены при сепсисе у больных раком почки: ССА снижена на 65,4%, увеличение ИТ и КИ достигло 13,5 и 14,2 раза соответственно относительно значений в группе доноров. Содержание МСМ превышало норму на 255,2—278,3% и было более чем в 2 раза выше, чем у больных РМП с сепсисом.

Ранее нами установлено, что уровень белков острой фазы у больных МНРМП до начала лечения был выше нормы: С-реактивный белок почти в 6 раз, гаптоглобин

— на 57%, и в процессе проводимого комплексного лечения наблюдалась полная нормализация концентрации С-реактивного белка в крови [11]. Исследование содержания острофазных белков у больных РМП с сепсисом, развившимся в послеоперационном периоде, выявило катастрофическое увеличение С-РБ и максимально высокие значения гаптоглобина. Содержание С-РБ в 10 раз превышало уровень у больных РМП до лечения и было выше средних значений нормы в 57,5 раза. Содержание гаптоглобина было повышено на 134,4% относительно здоровых и на 49—65% относительно больных РМП до и после успешно проведенной операции (табл. 2).

*Обсуждение.* Установлено, что для первичных больных РМП и раком почки характерно развитие эндотоксикоза, обусловленное в значительной степени нарушением функциональных свойств альбумина, проявляющимся в снижении его способности связывать и переносить продукты измененного при злокачественном процессе метаболизма. Уровень молекул средней массы, который рассматривается как интегральный показатель нарушений метаболизма, в первую очередь белкового обмена [7], был статистически значимо увеличен у больных РМП до начала лечения, при раке почки также выявлено увеличение концентрации низкомолекулярной фракции МСМ. После проведенного лечения, включавшего трансуретальную резекцию и внутривезикулярную адьювантную химиотерапию гемцитабином, у больных РМП наблюдалось снижение уровня МСМ и увеличение способности альбумина связывать токсические лиганды, что свидетельствовало о нормализации работы системы естественной детоксикации организма при успешном лечении.

Для больных с хронической почечной недостаточностью было характерно не только снижение эффективной концентрации альбумина, но и общего количества этого белка в крови больных РМП. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, согласно которым снижение связывающей способности альбумина коррелирует с тяжестью хронического заболевания почек [14].

Максимальное снижение как общей, так и эффективной концентрации альбумина было характерно для больных РМП, у которых развился сепсис. Выявлены высоко значимые статистические различия между всеми показателями, отражающими состояние альбумина, у больных с почечной недостаточностью и сепсисом. При сепсисе ОКА, ЭКА и ССА были ниже на 26, 63,5, 53,1% соответственно, а КИ и ИТ превышали значения у больных РМП с почечной недостаточностью в 2,7 и 3,1 раза. В то время как содержание эндотоксинов (МСМ<sub>254</sub> и МСМ<sub>280</sub>) было повышено в обеих группах РМП с осложненным течением, но не различались между собой. Можно сделать вывод о большей клинической информативности показателей состояния альбумина по сравнению с более часто оцениваемым содержанием МСМ.

Резкое, многократное увеличение у больных РМП с сепсисом уровня С-реактивного белка при значительно менее выраженном росте другого острофазного белка — гаптоглобина и полная нормализация только концентрации С-реактивного белка у больных после эффективно проведенного лечения подтверждают высокую информативность и клиническую значимость этого показателя. Это согласуется с данными литературы о снижении выживаемости онкоурологических больных с высоким содержанием С-реактивного белка [15, 16].

Нарушение функциональной активности альбумина до начала лечения у больных раком почки выражены в несколько большей степени, чем у больных РМП. У них наблюдается снижение общей концентрации альбумина, как и у больных РМП с почечной недостаточностью. Эти группы больных сходны также по уровню ЭКА и ИТ, однако содержание МСМ и КИ при раке почки статистически значимо ниже, чем при развитии почечной недостаточности у больных РМП. Наиболее высокий уровень эндотоксинов был зафиксирован при развитии сепсиса у больных раком почки — наблюдалось почти четырехкратное повышение концентрации обеих фракций молекул средней массы относительно значений в группе без онкопатологии. У этих больных отмечено также резкое снижение способности альбумина связывать эндотоксины, что подтверждалось многократным увеличением индекса токсичности и коэффициента интоксикации. При этом и у пациентов с сепсисом изменения основных параметров эндогенной интоксикации были более выраженными при раке почки, чем при РМП.

**Заключение.** Анализ полученных данных позволяет прийти к заключению о том, что снижение способности молекулы альбумина связывать продукты эндотоксикоза — один из факторов, определяющих состояние онкоурологических больных и прогноз развития заболевания. Следовательно, оценка легко определяемых в любой биохимической лаборатории показателей эндотоксикоза, и, прежде всего эффективной концентрации альбумина и его сорбционной способности, наряду с уровнем С-реактивного белка, могут использоваться в качестве информативных тестов состояния онкоурологических больных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Stewart B.W., Wild C.P., ed. *World Cancer Report 2014*. International Agency for Research on Cancer. World Health Organisation (WHO). Lyon; 2014.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2017.
3. Кит О.И., Дурицкий М.Н., Шелякина Т.В., Максимов Н.А., Легостаев В.М. Современные пути оптимизации организационных форм профилактики злокачественных новообразований. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 4. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20467> (accessed 10.07.2015)
4. Матвеев В.Б., Фигурин К.М., Волкова М.И., Черняев В.А., Медведев С.В., Носов Д.А. Рак мочевого пузыря. В кн.: Давыдов М.И., ред. *Онкология. Клинические рекомендации*. М.: Издательская группа РОНЦ; 2015: 478—89.
5. Лелявин К.Б., Дворниченко В.В. Мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря: клинические и морфологические особенности, результаты лечения, анализ выживаемости. *Бюллетень ВШНЦ СО РАМН*. 2013; 5: 53—9.
6. Русаков И.Г., Быстров А.А., Теплов А.А., Перепечин Д.В. Адьювантная внутрипузырная химиотерапия поверхностного рака мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2007; 3: 43—5.
7. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. *Эфферентная терапия*. 2000; 6(4): 3—14.
8. Титов В.Н. Экзогенные и эндогенные патологические факторы (патогены) как причина воспаления. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004; 5: 3—9.

9. Горошинская И.А., Нескубина И.В., Неродо Г.А., Меньшенина А.П., Гуськова Е.А., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Сурикова Е.И., Шалашная Е.В. Уровень эндогенной интоксикации у онкогинекологических больных. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(5): 279—82.
10. Saito K., Kihara K. Role of C-reactive protein in urological cancers: a useful biomarker for predicting outcomes. *Int. J. Urol.* 2013; 20(2): 161—71.
11. Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Филатова Е.В., Немашкалова Л.А. Изучение белков острой фазы при лечении больных мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016; 4: 521—5.
12. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателей средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. *Лабораторное дело*. 1984; 3: 138—40.
13. Матвеев С.Б., Спиридонова Т.Г., Клычникова Е.В., Николаева Н.Ю., Смирнова С.В., Голиков П.П. Критерии оценки эндогенной интоксикации при ожоговой травме. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2003; 10: 52—3.
14. Klammt S., Wojak H.J., Mitzner A., Koball S., Rychly J., Reisinger E.C., Mitzner S. Albumin-binding capacity (ABiC) is reduced in patients with chronic kidney disease along with an accumulation of protein-bound uraemic toxins. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2011; 0: 1—7.
15. Dai J., Tang K., Xiao W., Yu G., Zeng J., Li W., Zhang Y.Q., Xu H., Chen Z.Q., Ye Z.Q. Prognostic significance of C-reactive protein in urological cancers: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2014; 15(8): 3369—75.
16. Zhou L., Cai X., Liu Q., Jian Z.Y., Li H., Wanga K.J. Prognostic role of C-reactive protein in urological cancers: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 2015; 5: 12733. Published online 2015 Aug 3.

## REFERENCES

1. Stewart B.W., Wild C.P., ed. *World Cancer Report 2014*. International Agency for Research on Cancer. World Health Organisation (WHO). Lyon; 2014.
2. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *The state of oncological care for the population of Russia in 2016*. [Sostoyanie onkologicheskoy pomoshi naseleniyu Rossii v 2016 godu]. Moscow: MNI OI im. P.A. Gercena — filial FGBU «NMI RC» Minzdrava Rossii; 2017. (in Russian)
3. Kit O.I., Duritskiy M.N., Sheljakina T.V., Maksimova N.A., Legostaev V.M. Modern ways of optimization of organizational forms of prophylaxis of malignant neoplasms. *Sovremnyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 4. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20467> (accessed 10.07.2015). (in Russian)
4. Matveev V.B., Figurin K.M., Volkova M.I., Chernjaev V.A., Medvedev S.V., Nosov D.A. Cancer of the bladder [Rak mochevogo puzrya]. In: Davydov M.I., ed. *Oncology. Clinical recommendations. [Onkologiya. Klinicheskie rekomendatsii]*. Moscow: Izdatel'skaya gruppa RONC; 2015: 478—89. (in Russian)
5. Lelyavin K.B., Dvornichenko V.V. Muscular-non-invasive bladder cancer: clinical and morphological features, treatment results, survival analysis. *Byulleten' VSNC SO RAMN*. 2013; 5: 53—9. (in Russian)
6. Rusakov I.G., Bystrov A.A., Teplov A.A., Perepechin D.V. Adjuvant intravesical chemotherapy of superficial bladder cancer. *Onkourologiya*. 2007; 3: 43—5. (in Russian)
7. Malahova M.Ya. Endogenous intoxication as a reflection of compensatory adjustment of metabolic processes in the body. *Efferentnaya terapiya*. 2000. 6 (4): 3—14. (in Russian)
8. Titov V.N. Exogenous and endogenous pathological factors (pathogens) as the cause of the inflammation. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2004; 5: 3—9. (in Russian)
9. Goroshinskaya I.A., Neskubina I.V., Nerodo G.A., Men'shenina A.P., Gus'kova E.A., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Surikova E.I., Shalashnaya E.V. The level of endogenous intoxication in oncogynecologic patients. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61(5): 279—82. (in Russian)
10. Saito K., Kihara K. Role of C-reactive protein in urological cancers:

- a useful biomarker for predicting outcomes. *Int. J. Urol.* 2013; 20(2): 161—71.
11. Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Filatova E.V., Nemashkalova L.A. Study of acute phase proteins in the treatment of patients with muscle-non-invasive bladder cancer. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza.* 2016; 4: 521—5. (in Russian)
  12. Gabrielyan N.I., Lipatova V.I. Experience in the use of indicators of middle molecules in the blood to diagnose nephrology diseases in children. *Laboratornoe delo.* 1984; 3: 138—40. (in Russian)
  13. Matveev S.B., Spiridonova T.G., Klychnikova E.V., Nikolaeva N.Yu., Smirnova S.V., Golikov P.P. Criteria for evaluation of endogenous intoxication at burn injury. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2003; 10: 52—3. (in Russian)
  14. Klammt S., Wojak H.J., Mitzner A., Koball S., Rychly J., Reisinger E.C., Mitzner S. Albumin-binding capacity (ABiC) is reduced in patients with chronic kidney disease along with an accumulation of protein-bound uraemic toxins. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2011; 0: 1—7.
  15. Dai J., Tang K., Xiao W., Yu G., Zeng J., Li W., Zhang Y.Q., Xu H., Chen Z.Q., Ye Z.Q. Prognostic significance of C-reactive protein in urological cancers: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15(8): 3369—75.
  16. Zhou L., Cai X., Liu Q., Jian Z.Y., Li H., Wanga K.J. Prognostic role of C-reactive protein in urological cancers: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 2015; 5: 12733. Published online 2015 Aug 3.

Поступила 30.06.17

Принята к печати 03.07.17

© ШУЛЬКИНА С.Г., 2017

УДК 616.61-06:616-056.257]-074:575.08

Шулькина С.Г.

## БИОМАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *TNFA* -308GA (RS 1800629) И *IL6* -174CG (RS 1800795) В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ С ОЖИРЕНИЕМ

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614990, Пермь, Россия

Целью исследования стало изучение взаимосвязи полиморфизма генов *TNFA* (-308GA) и *IL6* (-174CG) с функциональным состоянием почек у больных с различным фенотипом ожирения. В исследование включены 170 человек в возрасте 25—55 лет (90 пациентов с ожирением, метаболическими нарушениями и артериальной гипертензией (АГ) — группа «осложнённого ожирения», 50 человек — с ожирением без метаболических нарушений — группа «метаболически здорового ожирения», 30 человек с АГ без ожирения). В группу контроля вошли 50 здоровых добровольцев без ожирения. Исследованы клинико-биохимические показатели, уровни *TNFA*, *IL-6* в сыворотке крови и моче, микроальбуминурия (МАУ), коллаген IV в моче, полиморфизм генов *TNFA* (-308GA) и *IL6* (-174CG).

В 1-й группе пациентов (с осложнённым ожирением, или ОО) установлены более высокие уровни *TNFA* и *IL6* в крови и моче, МАУ, коллагена IV. В группе ОО преобладал минорный аллель AA гена *TNFA* ( $\chi^2 = 14,70$ ;  $p = 0,04$ ) и GG гена *IL6* ( $\chi^2 = 1,90$ ;  $p = 0,04$ ), в отличие от контроля. Носительство гомозиготы AA гена *TNFA* в группе чаще сочеталось с умеренным снижением скорости клубочковой фильтрации ( $\chi^2 = 2,15$ ;  $p = 0,04$ ), гомозиготы GG гена *IL6* — в группе с уровнем МАУ более 30 мг/сут ( $\chi^2 = 2,8$ ;  $p = 0,04$ ). Установлена ассоциация полиморфизма гена *TNFA* (-308GA) с уровнем систолического артериального давления — САД ( $p = 0,04$ ), диастолического артериального давления — ДАД ( $p = 0,02$ ), *IL6* крови ( $p = 0,04$ ), *TNFA* ( $p = 0,027$ ).

Носительство минорных аллелей — AA гена *TNFA* и GG гена *IL6* ассоциировано с развитием АГ и метаболически осложнённого ожирения. Полиморфизм генов *TNFA* (-308GA) и *IL6* (-174CG) может оказывать избирательное влияние на спонтанную продукцию провоспалительных цитокинов и ассоциируется с нарушением функции почек. Ассоциация повышенного уровня *TNFA* и *IL6* со снижением функции почек и МАУ свидетельствует об их вкладе в развитие и прогрессирование хронической болезни почек.

Ключевые слова: ожирение; полиморфизм генов; цитокины; почки.

**Для цитирования:** Шулькина С.Г. Биомаркеры системного воспаления и полиморфизма генов *TNFA* -308GA (rs 1800629) и *IL6* -174CG (rs 1800795) в оценке функционального состояния почек у больных с ожирением. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(11): 671-677. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-671-677>

Shulkina S.G.

THE BIOMARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION AND POLYMORPHISM OF GENES *TNFA*-308GA (RS 1800629) AND *IL6*-174CG (RS 1800795) IN EVALUATION OF FUNCTIONAL CONDITION OF KIDNEYS IN PATIENTS WITH OBESITY

The Federal state budget educational institution of higher education "The academician E.A. Wagner Perm state medical university" of Minzdrav of Russia, 614990 Perm, Russia

The purpose of study was to analyze relationships between polymorphism of genes *TNFA* (-308GA) and *IL6* (-174CG) and functional condition of kidneys in patients with various phenotype of obesity. The sampling included 170 individuals aged from 25 to 55 years (90 patients with obesity, metabolic disorders and arterial hypertension - group of "complicated obesity", 50 individuals with obesity without metabolic complications - group of "metabolically healthy obesity" and 30 individuals with arterial hypertension without obesity). The analysis was applied to clinical biochemical indices, levels of *TNFA*, *IL-6* in blood serum and urine, microalbuminuria, collagen IV in urine, polymorphism of genes *TNFA* (-308GA) and *IL6* (-174CG).

*The analysis established that the group I of patients (with complicated obesity) was characterized by higher levels of TNF $\alpha$  and IL6 in blood and urine, microalbuminuria and collagen IV. In this group, in contrast with control group, prevailed minor allele AA of gene TNF $\alpha$  ( $\chi^2 = 14,70$ ;  $p = 0,04$ ) and GG of gene IL6 ( $\chi^2 = 1,90$ ;  $p = 0,04$ ). The carriage of homozygote of AA of gene TNF $\alpha$  in the group was more often combined with moderate decreasing of velocity of glomerular filtration ( $\chi^2 = 2,15$ ;  $p = 0,04$ ), homozygote of GG of gene IL-6 in group with level of microalbuminuria more than 30 mg per day ( $\chi^2 = 2,8$ ;  $p = 0,04$ ). The association was established between polymorphism of gene TNF $\alpha$  (-308GA) and level of systolic arterial pressure ( $p = 0,04$ ), diastolic arterial pressure ( $p = 0,02$ ), IL6 of blood ( $p = 0,04$ ), TNF $\alpha$  ( $p = 0,027$ ).*

*The carriage of minor alleles - AA of gene TNF $\alpha$  and GG of gene IL6 is associated with development of arterial pressure and metabolically complicated obesity. The polymorphism of genes TNF $\alpha$  (-308GA) and IL6 (-174CG) can selectively effect spontaneous production of anti-inflammatory cytokines and is associated with disorder of kidney function. The association of increased level of TNF $\alpha$  and IL6 with decreasing of kidneys function testifies their input into development and progression of chronic kidneys disease.*

**Key words:** obesity; gene polymorphism; cytokines; kidneys.

**For citation:** Shulkina S.G. The biomarkers of systemic inflammation and polymorphism of genes TNF $\alpha$ -308GA (rs 1800629) and IL6-174CG (rs 1800795) in evaluation of functional condition of kidneys in patients with obesity. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (11): 671-677. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-671-677>*

**For correspondence:** Shulkina S.G., candidate of medical sciences, associate professor of the chair of polyclinic therapy of the Federal state budget educational institution of higher education "The academician E.A. Wagner Perm state medical university". e-mail: shulkina-s@mail.ru

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 10.07.2017  
Accepted 18.07.2017

**Введение.** Метаболический синдром (МС) остаётся одной из самых обсуждаемых проблем современной медицины. В России распространённость МС варьирует в пределах 20—35%, при этом избыточная масса тела выявляется почти у 60%, а непосредственно ожирение — у 21% населения [1]. Многочисленные исследования, проведённые в последние годы, позволили выделить различные подтипы ожирения с разной выраженностью метаболических нарушений и, соответственно, с различным риском сердечно-сосудистых осложнений. Показано, что метаболические отклонения являются более значимыми детерминантами в развитии сахарного диабета 2-го типа (СД 2), чем наличие ожирения [2]. Ожирение, при котором отсутствуют общепринятые метаболические нарушения, рассматривается как особый фенотип — метаболически здоровое ожирение, его распространённость в популяции составляет около 10—40% [3]. Вместе с тем следует подчеркнуть, что абдоминальное ожирение, даже в отсутствие нарушений углеводного обмена, является независимым фактором риска развития хронической болезни почек (ХБП), которая в свою очередь является фактором риска неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов [4]. Механизмы развития ХБП при ожирении ассоциированы с активацией системного воспалительного ответа, индуцированного адипоцитами и ведущего к развитию ангиопатий при ХБП и СД [7—9]. Особое значение в формировании и прогрессировании ХБП у лиц с различным типом ожирения придается манифестации генов-кандидатов, определяющих метаболическое здоровье и нездоровье, обеспечивающих взаимосвязь молекулярно-генетических механизмов с различными компонентами МС и маркерами системного воспаления [3, 10—13].

Выработка ранних прогностических критериев возникновения и течения ХБП, базирующаяся на определении и анализе маркеров метаболических процессов, системного воспаления и функционального состояния почек, является важной медико-социальной проблемой современного общества [5—7].

Цель исследования — определить роль полиморфизма генов TNF $\alpha$  (-308GA) и IL6 (-174CG) в формировании ХБП у больных с различным фенотипом ожирения.

**Материал и методы.** Обследованы 170 пациентов с различным типом ожирения в возрасте 25—55 лет, которых распределили по группам. В 1-ю группу включили 90 пациентов (из них 61% женщин) с ожирением и метаболическими нарушениями в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) — т. е. с осложнённым ожирением (ОО), во 2-ю группу вошли 50 пациентов (в том числе 65% женщин) с ожирением без метаболических нарушений, соответствующих метаболическому здоровому ожирению (МЗО), в 3-ю группу были включены 30 пациентов с АГ и дислипидемией (из них 50% женщин), без ожирения (критерии ВОЗ). Группу сравнения составили практически здоровые лица без ожирения ( $n = 50$ , в том числе 50% женщин). Постановка диагноза ожирения базировалась на рекомендациях ВОЗ 2004 г. [1], метаболические нарушения определялись по критериям IDF 2005 г. [1]. Критериями исключения из исследования были вторичные формы АГ, III стадия АГ, СД, ранее установленная ХБП, мочекаменная болезнь. До включения в исследование пациенты не использовали антигипертензивную терапию и статины.

Всем пациентам проводили клинико-лабораторное обследование (согласно стандарту медико-санитарной помощи при ожирении, утверждённому приказом Минздрава России от 09.11.2012 г. № 752н). Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывали по формуле СКД-ЕРІ (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), степень снижения СКФ оценивали в соответствии с Национальными рекомендациями 2011 г. [4]. Концентрацию TNF $\alpha$ , IL6 в сыворотке крови и утренней порции мочи определяли методом ИФА, используя наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), уровень микроальбумина (МАУ) — ELISA Micro-Albumin («Orgentec», Германия), коллагена IV типа в утренней порции мочи — Argutus Medical Collagen IV EIA («Daiichi Fine Chemical Co., Ltd.», Япония). Для выявления однонуклеотидных

Таблица 1

Уровень изучаемых показателей по группам,  $M \pm m$

Показатель	1-я группа (n = 90)	2-я группа (n = 50)	3-я группа (n = 30)	4-я группа (n = 50)	p
САД, мм рт. ст.	152,0 ± 7,1	125,0 ± 7,4	152,0 ± 4,0	125,0 ± 5,1	$p_{1-3; 2-4}$ — нд $p_{1-2; 1-4} = 0,001$ $p_{3-2; 3-4} = 0,001$
ДАД, мм рт. ст.	105,0 ± 7,2	74,0 ± 8,5	99,8 ± 5,1	75,0 ± 4,3	$p_{1-3; 2-4}$ — нд $p_{1-2; 1-4} = 0,001$ $p_{3-2; 3-4} = 0,001$
Гликемия, ммоль/л	5,8 ± 0,5	4,9 ± 0,7	4,6 ± 0,4	4,2 ± 0,5	$p_{1-3; 1-4} = 0,01$ $p_{1-2} = 0,04$
ТГ, ммоль/л	2,7 ± 0,5	1,2 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,2 ± 0,5	$p_{2-3; 2-4; 3-4}$ — нд $p_{1-2; 1-4} = 0,03$ $p_{2-3; 2-4} = 0,04$ $p_{2-3; 3-4}$ — нд
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	нд
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,0 ± 0,6	2,7 ± 0,3	3,9 ± 0,6	2,4 ± 0,4	$p_{1-2; 1-4} = 0,02$ $p_{1-3; 2-4}$ — нд $p_{2-3; 3-4} = 0,02$
TNF $\alpha$ , пг/мл	5,66 ± 1,18	2,79 ± 1,10	2,87 ± 0,57	2,65 ± 0,31	$p_{1-2; 1-3; 1-4} = 0,001$ $p_{2-3; 2-4}$ — нд $p_{3-4}$ — нд
IL6, пг/мл (кровь)	3,33 ± 0,68	2,22 ± 0,70	1,80 ± 0,56	0,04 ± 0,01	$p_{1-2} = 0,03$ $p_{1-3; 1-4} = 0,001$ $p_{2-3; 2-4} = 0,01$ $p_{3-4} = 0,01$
IL6, пг/мл (моча)	0,91 ± 0,20	0,00 ± 0,01	0,31 ± 0,39	0,00 ± 0,01	$p_{1-2; 1-3; 1-4} = 0,03$ $p_{2-4}$ — нд $p_{3-2; 3-4} = 0,04$
МАУ, мг/мл	28,6 ± 3,1	14,6 ± 4,0	22,1 ± 2,6	9,4 ± 2,5	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3}$ — нд
Коллаген IV типа, мкг/ммоль креатинина	3,9 ± 1,4	0,3 ± 0,1	1,9 ± 1,1	0,20 ± 0,02	$p_{1-4; 2-4; 3-4} = 0,01$ $p_{1-2; 1-4} = 0,01$ $p_{2-3; 3-4} = 0,04$ $p_{2-3}$ — нд

Примечание. САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ХС ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; ТГ — триглицериды; TNF $\alpha$  — фактор некроза опухоли  $\alpha$ ; IL6 — интерлейкин 6; МАУ — микроальбуминурия; p — 5% уровень значимости различий, при котором различия считали достоверными; нд — различия статистически недостоверны.

полиморфизмов генов TNF $\alpha$  -308GA (rs 1800629) и IL6 -174CG (rs 1800795) методом ПЦР-РВ (полимеразной цепной реакции в режиме реального времени) суммарную ДНК выделяли из образцов цельной венозной крови, применяя набор ДНК-сорб-В (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва). Исследование полиморфизмов изучаемых генов проводили на амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) с использованием аллель-специфической ПЦР «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», Москва) и детекцией продуктов в режиме реального времени.

При статистической обработке данных использовали программу Statistica v. 10.0. Оценивая данные с нормальным распределением, использовали среднюю величину

(M) и стандартное отклонение (SD), t-критерий Стьюдента. Для множественного сравнения между группами использовался критерий Краскела—Уоллиса, попарные сравнения в этом же модуле с помощью критерия Манна—Уитни. Связь признаков оценивали, применяя регрессионный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для описания соотношения частот генотипов и аллелей исследуемых генов использовался метод  $\chi^2$ . Различия в двух популяциях рассчитывали по отношению шансов (OR), которое определяли как отношение вероятности того, что событие произойдет, к вероятности того, что событие не произойдет, с использованием подхода случай-контроль для различных моделей наследования. При OR  $\geq 1,0$  вероятность развития собы-

Таблица 2

**Концентрация цитокинов в зависимости от функционального состояния почек,  $M \pm m$**

Показатель	МАУ < 30 мг/сут (n = 102)	МАУ > 30 мг/сут (n = 68)	$p_1$	СКФ 90—125 мл/мин (n = 110)	СКФ 60—90 мл/мин (n = 44)	$p_2$
TNF $\alpha$ , г/мл	3,6 $\pm$ 2,1	6,0 $\pm$ 3,0	0,01	3,65 $\pm$ 1,90	6,25 $\pm$ 2,00	0,01
IL6, пг/мл (кровь)	2,8 $\pm$ 1,6	3,6 $\pm$ 1,2	нд	2,49 $\pm$ 1,40	3,25 $\pm$ 2,00	нд
IL6, пг/мл (моча)	0,84 $\pm$ 1,00	1,6 $\pm$ 0,9	0,01	0,77 $\pm$ 1,10	1,5 $\pm$ 0,9	0,04
Коллаген IV типа, мкг/ммоль креатинина	2,1 $\pm$ 1,9	7,0 $\pm$ 4,3	0,001	3,0 $\pm$ 2,3	4,3 $\pm$ 1,3	0,02

Примечание. СКФ — скорость клубочковой фильтрации;  $p_1$  — 5% уровень значимости, при котором различия в группах в зависимости от уровня МАУ считали достоверными;  $p_2$  — 5% уровень значимости, при котором различия в группах в зависимости от СКФ считали достоверными.

Таблица 3

**Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера -308GA гена *TNF $\alpha$*  в группах (мультипликативная и общая модель наследования, тест  $\chi^2$ , df = 1)**

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		$\chi^2$	$p$	OR	
	1-я группа, ОО (n = 90)	4-я группа, здоровые (n = 50)			значение	CI 95%
G	97/0,538	80/0,800	16,63	0,000	0,32	0,18—0,56
A	83/0,462	20/0,200			3,10	1,78—5,41
G/G	13/0,154	28/0,6			0,13	0,06—0,3
G/A	70/0,769	22/0,4	22,27	0,0001	4,45	2,11—9,41
A/A	7/0,077	0			0	0
Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		$\chi^2$	$p$	OR	
	2-я группа, МЗО (n = 50)	4-я группа, здоровые (n = 50)			значение	CI 95%
G	58/0,581	80/0,800	7,57	0,006	0,42	0,23—0,79
A	42/0,419	20/0,200			2,36	1,27—4,39
G/G	11/0,194	28/0,6			0,22	0,09—0,53
G/A	38/0,774	22/0,4	12,68	0,002	4,03	1,71—9,49
A/A	1/0,021	0			0	0
Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		$\chi^2$	$p$	OR	
	3-я группа, АГ без ожирения (n = 30)	4-я группа, здоровые (n = 50)			значение	CI 95%
G	29/0,475	80/0,800	16,47	0,000	0,25	0,12 — 0,49
A	31/0,525	20/0,200			4,05	2,03 — 8,11
G/G	0,000	28/0,6			0,00	0
G/A	28/0,950	22/0,4	27,43	0,000	17,82	3,82 — 83,06
A/A	2/0,050	0			0	0

Примечание. ОО — осложнённое ожирение; МЗО — метаболически здоровое ожирение; АГ — артериальная гипертензия; OR — отношение шансов; CI 95% — доверительный интервал для OR,  $p$  — 5% уровень значимости, при котором различия считали достоверными.

тия оценивалась как высокая. Определение зависимости между изучаемыми качественными признаками с целью оценки ассоциации полиморфизма изучаемого гена с высоким/низким уровнем маркеров функционального состояния почек и маркерами почечного повреждения проводилось по таблице сопряженности (кросс-табуляции). Для оценки зависимости количественного (фактор) и качественного (генотип) признаков количественные признаки были преобразованы в качественные по квартильным отклонениям. Сила связи признаков измерялась коэффициентом сопряженности (информативности) Пирсона. Зависимость считалась статистически достоверной при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** АГ I—II степени (Европейские рекомендации по АГ, 2013 г.) установлена у всех больных 1-й и 3-й групп, средняя длительность АГ составила

4,1  $\pm$  2,5 года, межгрупповых различий не определялось. Основные показатели по группам представлены в табл. 1.

В 1-й группе показатели МАУ, TNF $\alpha$ , IL6 в крови и моче, коллагена IV типа оказались достоверно выше, чем в группах без ожирения или с нормотонией. Во 2-й и 3-й группах отмечалось значимое повышение содержания IL6 в крови по сравнению с его концентрацией у здоровых лиц. В 1-й группе установлена положительная связь TNF $\alpha$  с содержанием общего холестерина ( $r = 0,42$ ), МАУ ( $r = 0,41$ ), коллагена IV типа в моче ( $r = 0,51$ ), отрицательная — с концентрацией ЛПВП ( $r = -0,41$ ). Также в 1-й группе выявлена связь содержания IL6 в сыворотке крови с индексом массы тела (ИМТ) ( $r = 0,46$ ), объёмом талии ( $r = 0,6$ ), САД ( $r = 0,41$ ), ДАД ( $r = 0,4$ ), МАУ ( $r = 0,4$ ), фактором некро-

за пухоли (ФНО) ( $r = 0,42$ ), СКФ ( $r = -0,51$ ); корреляция концентрации *IL6* в моче с МАУ ( $r = 0,48$ ) и ФНО ( $r = 0,43$ ). Во 2-й группе выявлена отрицательная корреляция *TNF $\alpha$*  с ЛПВП ( $r = -0,55$ ), *IL6* крови с ЛПНП ( $r = 0,7$ ), *IL6* мочи с МАУ ( $r = 0,71$ ). В 3-й группе установлена связь содержания *IL6* в моче с МАУ ( $r = 0,5$ ) и коллагеном IV типа ( $r = 0,54$ ).

В 1-й группе оптимальная СКФ ( $> 90$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>) установлена у 53(58,8%) пациентов. У 26(28,8%) человек отмечалось незначительное снижение данного показателя (60—90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>), у 8(8,8%) пациентов наблюдалось повышение СКФ ( $> 125$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>), и у 3(3,3%) человек выявлено умеренное снижение СКФ (45—60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>).

Во 2-й группе оптимальная СКФ установлена у 35(70%) пациентов. У 10(20%) человек отмечалось незначительное снижение, и у 5(10%) — повышение СКФ.

В 3-й группе оптимальная СКФ констатирована у 22(73%) пациентов, и незначительное снижение — у 8(26%). Уровень МАУ выше 30 мг/мл был верифицирован у 22(24,4%) пациентов 1-й группы. В 3-й группе данный показатель был в два раза ниже у 4(13,3%) человек. При анализе подгрупп в зависимости от СКФ и уровня МАУ выявлено, что уровни *TNF $\alpha$* , *IL6* в моче, коллагена IV типа были выше в группах с МАУ более 30 мг/сут и СКФ менее 90 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> (табл. 2).

При изучении комбинаций аллельных вариантов полиморфизма -308GA гена *TNF $\alpha$*  в когорте здоровых лиц преобладал генотип GG в 60% случаев ( $p < 0,001$ ) и мажорный аллель G в 80% случаев ( $p < 0,001$ ). В исследуемых группах пациентов с осложнённым ожирением, неосложнённым ожирением и у пациентов с АГ без ожирения доминировал генотип GA в 77% ( $\chi^2 = 22,27$ ;  $p < 0,001$ ; QR = 4,5), 77,42% ( $\chi^2 = 12,68$ ;  $p = 0,002$ ; QR = 4,03) и в 95% ( $\chi^2 = 27,4$ ;  $p < 0,001$ ; QR = 17,8) случаев соответственно. При этом в группе больных с осложнённым ожирением минорная гомозигота AA гена *TNF $\alpha$*  (-308GA) встречалась у 7,7% больных в сравнении с донорами, у которых он не был найден ( $\chi^2 = 16,70$ ;  $p < 0,001$ ; QR = 3,1) (табл. 3).

При изучении распространённости генотипов и аллелей полиморфизма -174CG гена *IL6* нами не выявля-

но статистически значимых различий между донорами и пациентами 2-й и 3-й групп. В когортах здоровых и больных с ОО, МЗО и у пациентов с АГ без ожирения преобладал генотип CG в 60%, 53,85% ( $\chi^2 = 1,9$ ;  $p = 0,54$ ; QR = 0,78), 51,61% ( $\chi^2 = 1,23$ ;  $p = 0,47$ ; QR = 0,71) и в 60% ( $\chi^2 = 0,47$ ;  $p = 1,0$ ; QR = 1,00) случаев соответственно. При этом в группе больных с ОО достоверно чаще встречался GG вариант гена *IL6* (-174CG) — в 26,92% случаев ( $\chi^2 = 1,90$ ;  $p = 0,04$ ; QR = 2,00) в сравнении с донорами — 15,56% случаев.

Проведено изучение взаимосвязи полиморфизма генов цитокинов и функционального состояния почек (табл. 4).

В работе не было установлено наличие ассоциации полиморфизма промоторного региона -308GA гена *TNF $\alpha$*  с уровнем МАУ. В группе больных с уровнем МАУ более 30 мг/сут регистрировалась достоверно большая частота встречаемости (29,41%) аллельного варианта GG гена *IL6* (-174CG) ( $\chi^2 = 2,88$ ;  $p = 0,04$ ; QR = 2,50), чем у пациентов с МАУ менее 30 мг/сут (14,29%). У пациентов с оптимальной СКФ доминантный генотип GG и аллель G гена *TNF $\alpha$*  (-308GA) обнаруживались значимо чаще, в 20% ( $\chi^2 = 7,16$ ;  $p = 0,028$ ; QR = 3,75) и 60,38% случаев ( $\chi^2 = 2,14$ ;  $p = 0,04$ ; QR = 1,52), в сравнении с группой с СКФ менее 90 мл/мин. В группе с незначительным снижением СКФ выявлено увеличение частоты встречаемости аллеля A — в 6,52% случаев ( $\chi^2 = 2,15$ ;  $p = 0,04$ ; QR = 1,06) в сравнении с группой с оптимальной СКФ. Значимых различий частоты встречаемости генотипов полиморфизма *IL6* (-174CG) у пациентов в зависимости от СКФ выявлено не было.

Установлена ассоциация полиморфизма промоторного региона гена *TNF $\alpha$*  (-308GA) с уровнем САД ( $p = 0,04$ ) и ДАД ( $p = 0,02$ ), уровнем креатинина ( $p = 0,002$ ), *IL6* в крови ( $p = 0,04$ ), а также с повышенной экспрессией *TNF $\alpha$*  ( $p = 0,027$ ). Полиморфизм -174CG гена *IL6* был ассоциирован с повышенным сывороточным уровнем *TNF $\alpha$*  ( $p = 0,04$ ).

**Обсуждение.** Результаты проведённого исследования подтверждают, что ожирение, как и АГ, является фактором риска снижения функции почек [4]. Так, в группе МЗО незначительное снижение СКФ было выявлено у 20% больных, при этом не выявлено МАУ, в

Таблица 4

Частота встречаемости аллельных вариантов генов *IL6* (-174CG) и *TNF $\alpha$*  (-308GA) в зависимости от уровня МАУ и СКФ

Генотип/аллели	МАУ < 30 мг/сут (n = 144)	МАУ > 30 мг/сут (n = 26)	QR	$p_1$	СКФ 90—125 мл/мин (n = 110)	СКФ 60—90 мл/мин (n = 44)	QR	$p_2$	
<i>TNF</i> G308A	GG,%	11,43 ± 5,38	13,24 ± 4,11	0,85	0,79	20,75 ± 5,57	6,52 ± 3,64	3,75	0,02
	GA,%	82,86 ± 6,37	80,88 ± 4,77	1,14	0,80	79,25 ± 5,57	86,96 ± 4,97	0,57	0,31
	AA,%	5,71 ± 3,92	5,88 ± 2,85	0,97	0,97	0 ± 0	6,52 ± 3,64	0,40	0,05
Аллели	G,%	52,86 ± 5,97	53,68 ± 4,28	0,97	0,91	60,38 ± 4,75	50,00 ± 5,21	1,52	0,04
	A,%	47,14 ± 5,97	46,32 ± 4,28	1,03	0,91	39,62 ± 4,75	50,00 ± 5,21	0,66	0,04
<i>IL6</i> C174G	CC,%	28,57 ± 7,64	22,06 ± 5,03	1,41	0,48	28,30 ± 6,19	19,57 ± 5,85	1,62	0,31
	CG,%	57,14 ± 8,36	48,53 ± 6,06	1,41	0,41	50,94 ± 6,87	50,00 ± 7,37	1,04	0,93
	GG,%	14,29 ± 5,92	29,41 ± 5,53	0,40	0,04	20,75 ± 5,57	30,43 ± 6,78	0,60	0,28
Аллели	C,%	57,14 ± 5,91	46,32 ± 4,28	1,54	0,05	53,77 ± 4,84	44,57 ± 5,18	1,45	0,2
	G,%	42,86 ± 5,91	53,68 ± 4,28	0,65	0,05	46,23 ± 4,84	55,43 ± 5,18	0,69	0,2

Примечание.  $p_1$  — 5% уровень значимости, при котором различия в группах в зависимости от уровня МАУ считали достоверными;  $p_2$  — 5% уровень значимости, при котором различия в группах в зависимости от СКФ считали достоверными.

группе АГ без ожирения у 26% больных установлено снижение СКФ, у 13,3% — МАУ, в группе ОО у 37,7% пациентов обнаружено снижение СКФ и у 24,4% — МАУ.

Высокий уровень *IL6* в крови во всех группах по сравнению с группой здоровых лиц можно объяснить наличием ряда факторов. У здорового человека до 10—15% *IL6* синтезируется жировой тканью, при увеличении жировой массы концентрация *IL6* повышается, потому ожирение принято рассматривать как хроническое подострое воспаление [8]. Висцеральная ткань продуцирует в 3 раза больше *IL6*, чем подкожная, что подтверждают наши данные: у лиц с одинаковым ИМТ концентрация *IL6* в 1,5 раза выше в группе с ОО, чем у лиц с МЗО. *IL6* синтезируется макрофагами, клетками эндотелия, повышение его концентрации ассоциировано с прогрессированием атеросклероза [6, 8—10], что объясняет увеличение уровня *IL6* у больных 3-й группы в сравнении с контролем. *TNFα* рассматривают как маркер инсулинорезистентности при ожирении, доказана роль *TNFα* в прогрессировании сосудистых нарушений у больных СД [7]. В нашем исследовании повышение *TNFα* было выявлено в группе пациентов с ОО, что можно объяснить неблагоприятным сочетанием компонентов МС.

У больных с гломерулонефритом, дислипидемией, диабетической нефропатией, ХБП повышается концентрация провоспалительных цитокинов (*TNFα*, *IL6* в крови и моче), поддерживающих хронический воспалительный процесс в почке. Полученные данные находят подтверждение и в литературе [6, 7]. В группе ОО уровни *TNFα*, *IL6* в крови и моче, МАУ и коллагена IV типа были значимо выше, чем в группах сравнения, что предполагает усиление неблагоприятного воздействия на почку при сочетании ожирения и АГ. Анализ полученных данных показал, что прогрессирование почечной дисфункции ассоциировано с активацией цитокинового ответа, что подтверждают работы других исследователей [7].

Анализ распределения полиморфизма аллелей гена *TNFα* (-308GA) в когорте здоровых лиц показал преобладание носительства генотипа GG, что подтверждает данные ранее проведенных исследований [14—17], тогда как в группах МЗО, АГ без ожирения и ОО преобладало носительство генотипа GA ( $p < 0,001$ ). Носительство минорной гомозиготы AA было ассоциировано с ОО. Установленная ассоциация полиморфизма промоторного региона -308GA гена *TNFα* с уровнем САД и ДАД в сочетании с увеличением частоты встречаемости полиморфизма в группе больных АГ позволяет рассматривать данный результат как маркер генетической предрасположенности к развитию АГ. Ассоциация полиморфизма промоторного региона -308GA гена *TNFα* с уровнем СКФ может свидетельствовать о вкладе данного полиморфизма в предрасположенность к развитию ХБП. Установленная ассоциация полиморфизма промоторного региона -634G/C гена с повышенной экспрессией *TNFα* может вносить вклад в активацию системного воспаления в группах носителей; наши результаты подтверждают данные других исследователей [14]. Анализ распределения полиморфизма аллелей гена *IL6* (-174CG) выявил увеличение числа носителей минорного аллеля GG в группе ОО в сравнении с группой здоровых. Установленная ассоциация полиморфизма промоторного региона -174CG гена *IL6* с уровнем МАУ может

свидетельствовать о вкладе данного полиморфизма в предрасположенность к развитию ХБП. Полученная взаимосвязь полиморфизма -174CG гена *IL6* с концентрацией *TNFα* ( $p = 0,04$ ) свидетельствует в вкладе данного полиморфизма в активацию системного воспаления, что находит подтверждение в литературе [14]. В работе не выявлена ассоциация полиморфизма -174CG гена *IL6* с уровнем продукции *IL6*.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что носительство минорных аллелей AA гена *TNFα* (-308GA) и GG гена *IL6* (-174CG) ассоциировано с развитием АГ и метаболически осложнённого ожирения. Аллельный полиморфизм генов *TNFα* (-308GA) и *IL6* (-174CG) оказывает избирательное влияние на спонтанную продукцию провоспалительных цитокинов и ассоциируется с нарушением функции почек. Тесная связь повышенного уровня провоспалительных цитокинов со снижением функции почек и МАУ свидетельствует о вкладе *TNFα* и *IL6* в развитие и прогрессирование хронической болезни почек.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп.10, 14—15, 17 см. REFERENCES)

1. Мычка В.Б., Верткин А.Л., Вардаев Л.И., Дружилов М.А., Ипаткин Р.В., Калинин А.Л., и др. Консенсус экспертов по междисциплинарному подходу к ведению, диагностике и лечению больных с метаболическим синдромом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013; 12(6): 41—82.
2. Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Гриценко О.В., Отт А.В. Метаболический синдром: сложные и нерешенные проблемы. *Российский кардиологический журнал*. 2014; (3): 63—71.
3. Романцова Т.И., Островская Е.В. Метаболически здоровое ожирение: дефиниции, протективные факторы, клиническая значимость. *Альманах клинической медицины*. 2015; 1(1): 75—86.
4. Моисеев В.С., Мухин Н.А., Смирнов А.В., Кобалава Ж.Д., Бобкова И.Н., Виллевалде С.В., и др. Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегии кардио-нефропротекции. *Российский кардиологический журнал*. 2014; 8: 7—37.
5. Крячковская А.А., Савельева С.А., Галлямов М.Г. Роль ожирения в поражении почек при метаболическом синдроме. *Нефрология и диализ*. 2010; 1: 34—8.
6. Хайбуллина З.Р., Зиямутдинова З.К., Сулейманова Г.Г., Косникова И.В. Биомаркеры системного воспаления и динамика липидного профиля при различной степени ожирения. *Universum: медицина и фармакология. Электронный научный журнал*. 2015; 12: 23. <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2847>
7. Хасанова Ю.В., Галкина А.Б., Нелаева А.А., Медведева И.В. Особенности липидного обмена и уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с диабетической нефропатией в зависимости от стадии хронической болезни почек. *Ожирение и метаболизм*. 2012; 2: 53—6.
8. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Бутрова С.А. Жировая ткань как эндокринный орган. *Ожирение и метаболизм*. 2006; 1: 6—13.
9. Кушнаренко Н.Н., Говорин А.В. Клинико-иммунологические закономерности при первичной подагре с артериальной гипертензией. *Медицина в Кузбассе*. 2011; 4: 30—3.
10. Амелянович М.Д., Морозик П.М., Гончар А.Л., Моссэ И.Б. Генетические факторы риска развития метаболического синдрома. *Сборник научных трудов. Молекулярная и прикладная генетика*. 2013; (16): 24—31.
11. Шамонина Т.Н., Радаева О.А., Новикова Л.В., Трофимов В.А. Полиморфизм генов IL-6 при артериальной гипертензии у паци-

ентов с метаболическим синдромом. *Фундаментальные исследования*. 2014; 10—8: 1591—4.

13. Камышова Е.С., Швецов М.Ю., Бурденный А.М., Чжэн А., Кутырина И.М., Носиков В.В. Ассоциация полиморфных маркеров генов TNF, IL6 и IL10 с клинико-морфологическими особенностями хронического гломерулонефрита. *Клиническая нефрология*. 2016; 1: 12—6.
16. Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Климонтов В.В., Королев М.А., Фазуллина О.Н., Лапсина С.А., Королева Е.Г. Ассоциация вариантов гена фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и генов цитокинов (IL-1B, IL4, IL8, IL10, TNF $\alpha$ ) с сахарным диабетом 2-го типа у женщин. *Сахарный диабет*. 2012; 3: 4—10.

## REFERENCES

1. Mychka V.B., Vertkin A.L., Vardaev L.I., Druzhilov M.A., Ipatkin R.V., Kalinkin A.L., et al. Experts' consensus on the interdisciplinary approach towards the management, diagnostics, and treatment of patients with metabolic syndrome. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2013; 12(6): 41—82. (in Russian)
2. Chumakova G.A., Veselovskaya N.G., Griksenko O.V., Ott A.V. Metabolic syndrome: challenging and unresolved issues. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal*. 2014; (3): 63—71. (in Russian)
3. Romantsova T.I., Ostrovskaya E.V. Metabolically healthy obesity: definition, protective factors, clinical relevance. *Almanakh klinicheskoy meditsiny*. 2015; 1(1): 75—86. (in Russian)
4. Moiseev V.C., Mukhin N.A., Smirnov A.V., Kobalava J.D., Bobkova I.N., Villevalde S.V. et al. Cardiovascular risk and chronic kidney disease: cardio-nephroprotection strategies. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal*. 2014; 8: 7—37. (in Russian)
5. Kryachkova A.A., Savelyeva S.A., Gallyamov M.G., Shestakova M.V., Kutiryna I.M. The role of obesity in renal injury in patients with metabolic syndrome. *Nefrologiya i dializ*. 2010; 1: 34—8. (in Russian)
6. Haybullina Z.R., Ziyamutdinova Z.K., Sulejmanova G.G., Kosnikova I.V. Biomarkers of a systemic inflammation and the dynamics of a lipide profile at various degree of an obesity. *Universum: meditsina i farmakologiya. elektronnyy nauchnyy zhurnal*. 2015; 12: 23. <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2847>. (in Russian)
7. Khasanova Y.V., Galkina A.B., Nelaeva A.A., Medvedeva I.V. Features of lipide exchange and level of proinflammatory cytokines at patients with a diabetes mellitus 2 types with a diabetic nephropathy depending on a stage of chronic kidneysdisease. *Ozhirenie i metabolizm*. 2012; 2: 53—6. DOI: 10.14341/omet2012253-56 (in Russian)
8. Dedov I.I., Mel'nichenko G.A., Butrova S.A. Fatty tissue as endocrine organ. *Ozhirenie i metabolizm*. 2006; 1: 6—13.
9. Kushnarenko N.N., Govorin A.V. Clinic immunologic patterns at primary gout with arterial hypertension. *Meditsina v Kuzbasse*. 2011; 4: 30—3. (in Russian)
10. Sardar Sindhu,Reeby Thomas, Puthiyaveetil Shihab, Devarajan Sriraman, Kazem Behbehani, Rasheed Ahmad.Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. *PLoS One*. 2015; 10(7): e0133494.
11. Ameliyanovich M.D.,Marozik P.M., Gonchar A.L., Mosse I.B. Molecular and Applied Genetics. *Sbornik nauchnyh trudov. Molekulyarnaya i prikladnaya genetika*. 2013; (16): 24—31.(in Russian)
12. Shamonina T.N., Radaeva O.A., Novikova L.V., Trofimov V.A. Polymorphism of genes of IL-6 at arterial hypertension at patients with a metabolic syndrome. *Fundamentalnyie issledovaniya*. 2014; 10—8: 1591—4. (in Russian)
13. Kamyshova E.S., Shvetsov M.Yu., Burdennyiy A.M., Chzhen A., Kutyrina I.M., Nosikov V.V. Association of polymorphic markers of genes of TNF, IL6 and IL10 with clinical-morphological features of a chronic glomerulonephritis. *Klinicheskaya nefrologiya*. 2016; 1: 12—6. (in Russian)
14. Szabó G.V., Acsády G. Tumornecrosis-factor- $\alpha$  308 GA polymorphism in atherosclerotic patients. *Pathol. Oncol. Res.* 2011 Dec; 17(4): 853—7.
15. Marso S.P., House J.A., Hopkins P.J. Increase in interleukin-6 following arterial injury is related to insulin resistance, the -174GC polymorphism and complex plaque morphology. *Int. J. Immunogenet* 2006; 5(33): 347—54.
16. Konenkov V.I., Shevchenko A.B., Prokof'ev V.F., Klimontov V.V., Korolev M.A., Fazullina O.N. et al. Association of vascular endothelial growth factors (VEGF) gene and cytokines (IL-1B, IL4, IL8, IL10, TNF $\alpha$ ) genes combinations with types 2 diabetes mellitus in women. *Sakharnyi diabet*. 2012; 3: 4—10. (in Russian)
17. Liu Y, Berthier-Schaad M.D. Fallin L-6 haplotypes, inflammation, and risk for cardiovascular disease in a multiethnic dialysis cohort. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2006; 3(17): 863—70.

Поступила 10.07.17  
Принята к печати 18.07.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.379-008.64-092:612.014.49

Дерюгина А.В.<sup>1</sup>, Малышева Е.С.<sup>2</sup>, Иващенко М.Н.<sup>3</sup>, Самоделкин А.Г.<sup>3</sup>

## ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-го И 2-го ТИПА

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», кафедра биохимии и физиологии, 603950, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Нижегородской области «Городская клиническая больница №5», 603005, Нижний Новгород, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия» Минсельхоза РФ, кафедра физиологии и биохимии животных, 603107, Нижний Новгород, Россия

*В работе изучены электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), их проокислительные свойства и внутриклеточная концентрация аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) у больных сахарным диабетом (СД) 1-го и 2-го типа при проведении терапии. В исследование включены 46 больных СД 1-го и 2-го типа. 22 здоровых добровольца составили группу контроля. 20 пациентов с СД 1-го типа получали инсулин протафан и инсулин актрапид, 26 больных СД 2-го типа получали препараты сульфонилмочевины, бигуаниды, инкретины. Анализ крови проводили до и после курса лечения, исследовали ЭФПЭ, концентрацию в них малонового диальдегида (МДА), содержание 2,3-ДФГ и АТФ. При СД 1-го и 2-го типов установлено повышение содержания МДА, снижение ЭФПЭ, концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах относительно физиологической нормы, наиболее выраженное у больных СД 1-го типа. Терапия снижала концентрацию МДА и увеличивала ЭФПЭ, содержание АТФ и 2,3-ДФГ по сравнению с показателями до лечения. У больных СД 2-го типа в ходе лечения наблюдалось восстановление ЭФПЭ и 2,3-ДФГ до физиологической нормы. Позитивное действие данных клинических стратегий при лечении СД 1-го и 2-го типа обусловлено снижением стрессовой реакции и активацией адаптационных процессов, что проявляется на уровне микроциркуляции улучшением кислородтранспортной функции крови за счёт повышения ЭФПЭ, уровня 2,3-ДФГ и снижения деструктивных процессов мембран эритроцитов.*

**Ключевые слова:** эритроциты; сахарный диабет; адаптация.

**Для цитирования:** Дерюгина А.В., Малышева Е.С., Иващенко М.Н., Самоделкин А.Г. Оценка адаптационных возможностей организма при терапии сахарного диабета 1-го и 2-го типа. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 678-681 DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-678-681>

*Deryugina A.V.<sup>1</sup>, Malysheva E.S.<sup>2</sup>, Ivashchenko M.N.<sup>3</sup>, Samodelkin A.G.<sup>3</sup>*

### THE EVALUATION OF ADAPTIVE POSSIBILITIES OF ORGANISM UNDER THERAPY OF DIABETES MELLITUS TYPE I AND II

<sup>1</sup>The Federal state autonomous educational institution of higher education "The N.I. Lobachevsky Nizhny Novgorod state university", 603950 Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>The state budget institution of health care "The municipal clinical hospital №5", 603005 Nizhny Novgorod, Russia

<sup>3</sup>The Federal state budget educational institution of higher education "The Nizhny Novgorod state agricultural academy" of the Minselkhoz of Russia, 603107 Nizhny Novgorod, Russia

*The article presents results of the study of electrophoretic agility of erythrocytes, their pro-oxidant characteristics and intra-cellular concentration of adenosine triphosphate (ATP) and 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) in patients with diabetes mellitus type I and II under implementation of therapy. The sampling included 46 patients with diabetes mellitus type I and II. The control group consisted of 22 healthy volunteers. 20 patients with diabetes mellitus type I received insulin protaphan and insulin actrapid, 26 patients with diabetes mellitus type II received preparations of sulfanylurea, biguanides, incretins. The analysis of blood was applied before and after course of treatment. The electrophoretic agility of erythrocytes was analyzed, including concentration of malonic dialdehyde in them, content of 2,3-DPG and ATP. In case of diabetes mellitus type I and II, the study established increasing of content of malonic dialdehyde, decreasing of electrophoretic agility of erythrocytes, concentration of ATP and 2,3-DPG in erythrocytes concerning physiological standard, mostly expressed in patients with diabetes mellitus type I. The therapy decreased concentration of malonic dialdehyde and increased electrophoretic agility of erythrocytes, content of ATP and 2,3-DPG as compared with indices before treatment. In patients with diabetes mellitus type II during treatment reduction of electrophoretic agility of erythrocytes and 2,3-DPG up to physiological standard was observed. The positive effect of the given clinical strategies during treatment of diabetes mellitus type I and II is conditioned by decreasing of stress reaction and activation of adaptation processes that is manifested at the level of micro-circulation by amelioration of oxygen-transport function of blood at the expense of increasing of electrophoretic agility of erythrocytes, level of 2,3-DPG and decreasing of destructive processes of membranes of erythrocytes.*

**Key words:** erythrocytes; diabetes mellitus; adaptation.

**For citation:** Deryugina A.V., Malysheva E.S., Ivashchenko M.N., Samodelkin A.G. The evaluation of adaptive possibilities of organism under therapy of diabetes mellitus type I and II. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (11): 678-681. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-678-681>

**For correspondence:** Ivashchenko M.N., associate professor of the chair of physiology and biochemistry of animals of the Federal state budget educational institution of higher education "The Nizhny Novgorod state agricultural academy". e-mail: [mi11207@rambler.ru](mailto:mi11207@rambler.ru)

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 20.07.2017  
Accepted 01.08.2017

*Введение.* Сахарный диабет (СД), получающий всё большее распространение, включает в себя комплекс патофизиологических нарушений, прогрессирование которых приводит к тяжёлым медико-социальным исходам [1]. При этом у большинства больных заболевание длительно протекает скрыто, приводя к развитию поздних осложнений [2]. Такие осложнения, как ишемическая болезнь сердца, кардиоваскулярная автономная нейропатия, синдром диабетической стопы, являющиеся главной причиной инвалидизации и смертности больных диабетом, связаны с развитием микро- и макроангиопатий [3, 4].

Гипергликемия при СД обуславливает развитие микро- и макроангиопатий, определяемых эндотелиальной дисфункцией, оксидативным стрессом и нарушением реологических свойств крови. Существенное влияние на реологические свойства крови оказывают эритроциты, снижение поверхностного заряда которых приводит к повышению их агрегации [5]. Выполняя кислород-транспортную функцию, эритроциты играют ключевую роль в энергетическом и метаболическом обеспечении гомеостатических механизмов. Кроме того, ранее нами было показано, что изменение поверхностного заряда эритроцитов, отражаемое в их электрофоретической подвижности, является стереотипной реакцией на активацию стресс-реализующих систем организма при развитии патологии и значимым маркером в диагностике адаптационных процессов [6, 7].

Сложная природа СД предполагает дальнейшее изучение механизмов действия препаратов, используемых в клинической практике. Одно из ведущих мест в лечении больных СД в зависимости от стадии заболевания занимают инсулинотерапия у пациентов с СД 1-го типа и комбинированная пероральная терапия сахароснижающими препаратами при СД 2-го типа. Однако исследований, которые изучали бы электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) вкуче с адаптационными реакциями организма и метаболическими процессами в эритроцитах у пациентов с СД, не проводилось. Цель данной работы — изучение ЭФПЭ, их прооксидантных свойств и внутриклеточной концентрации аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) у больных СД 1-го и 2-го типа при проведении терапевтических мероприятий.

*Материал и методы.* Под наблюдением находилось 46 пациентов с СД I и II стадии. Все пациенты получали базовую терапию. Первую группу составили 20 пациентов с СД 1-го типа, средний возраст составил 43,3 (37,0—49,0) лет. Во вторую группу вошли 26 пациентов с СД 2-го типа, средний возраст составил 74,6 (67,0—81,0) лет. 22 здоровых добровольца в возрасте от 35 до 55 лет составили группу контроля.

Базовая терапия больных СД 1-го типа включала применение протафана — человеческого инсулина средней продолжительности действия и актрапиды — человеческого инсулина короткого действия. Протафан использовался 2 раза в сутки, актрапид назначался 3 раза в день за 30 минут до приёма пищи. Контроль гликемии осуществлялся 4 раза в день.

Базовая терапия больных СД 2-го типа включала препараты сульфонилмочевины (диабетон, манинил), бигуаниды (метформин), инкретины (галвус, янувия).

Препараты сульфонилмочевины применялись до приёма основной пищи 1—2 раза в день, препараты группы бигуанидов — после еды и на ночь, инкретины

применялись 1 или 2 раза в сутки во время или после приёма пищи.

Все пациенты подписывали информированное согласие на проведение диагностических и лечебных мероприятий.

Кровь забирали из локтевой вены натощак, до и после курса лечения.

В работе проводили исследование отмытых эритроцитов крови. Отмытые эритроциты получали трехкратным центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин с 0,85% раствором хлористого натрия. Анализ ЭФПЭ производили методом микроэлектрофореза [8]. При измерении ЭФПЭ регистрировали время прохождения эритроцитами расстояния 10 мкм в буфере трис-НСl с рН 7,4 при силе тока 10 мА. Концентрацию МДА оценивали спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой [9]. Содержание 2,3-ДФГ и АТФ в суспензии отмытых эритроцитов исследовали неэнзиматическим методом, определяя неорганический фосфор в гидролизатах эритроцитов [10]. Определение неорганического фосфора проводили фотоэлектроколориметрически [11].

У всех пациентов проводился контроль гликемии 1 раз в 2 дня путём исследования капиллярной крови с помощью глюкометра ACCU-CHEK PERFORMA с использованием тест-полосок.

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Достоверность различий средних определяли по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

*Результаты.* Проведённые исследования показали, что у больных СД 1-го и 2-го типа зафиксировано существенное снижение ЭФПЭ и повышение концентрации МДА относительно значений физиологической нормы, более выраженное у пациентов с СД 1-го типа (табл. 1). Терапия вызывала увеличение ЭФПЭ и снижение концентрации МДА. Так, инсулинотерапия больных СД 1-го типа вызывала рост ЭФПЭ на 12% и снижение концентрации МДА на 19% по сравнению с показателями до лечения; при комбинированной пероральной терапии сахароснижающими средствами у больных СД 2-го типа содержание МДА в эритроцитах снижалось на 25%, а ЭФПЭ увеличивалась на 15%. Следует отметить, что при СД 2-го типа в ходе лечения достигалось восстановление ЭФПЭ до физиологической нормы.

Ранее при изучении реакции организма на альтерацию нами была выявлена закономерная динамика ЭФПЭ, стереотипно изменяющейся в ответ на активацию симпатоадреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем [12]. При этом механизм снижения ЭФПЭ (1-я фаза) связан с модификацией мембраны эритроцита эндогенными катехоламинами, тогда как экскреция кортикостероидов, направленная на лимитирование 1-й фазы стресс-реакции, определяет повышение ЭФПЭ (2-я фаза) и ограничивает стрессовую реакцию [6].

*Обсуждение.* Анализируя результаты исследования, можно полагать, что развитие СД сопряжено со снижением резистентности организма и нарастанием напряжения адаптационных механизмов. Использование сахароснижающих препаратов у больных вызывало повышение ЭФПЭ, что свидетельствует о снижении стрессового статуса организма. При этом рост ЭФПЭ и уменьшение концентрации МДА в ходе терапевтиче-

Таблица 1

**Динамика концентрации МДА и ЭФПЭ больных СД 1-го и 2-го типа в ходе терапии**

Группа пациентов	Этапы исследования	Концентрация МДА, нмоль/мл			ЭФПЭ, мкм • см		
		$M \pm m$	$p$	$p_1$	$M \pm m$	$p$	$p_1$
СД 1-го типа	До лечения	2,26 ± 0,20	0,03		0,98 ± 0,05	0,03	
	После лечения	1,84 ± 0,19	0,04	0,04	1,10 ± 0,02	0,02	0,03
СД 2-го типа	До лечения	1,93 ± 0,09	0,04		1,07 ± 0,07	0,02	
	После лечения	1,45 ± 0,11	0,04	0,02	1,23 ± 0,06	0,1	0,02

Примечание. Здесь и в табл. 2:  $p$  — отличие от физиологической нормы,  $p_1$  — различие показателей до и после лечения. Физиологическая норма концентрации МДА —  $1,09 \pm 0,08$  нмоль/мл, ЭФПЭ —  $1,28 \pm 0,04$  мкм • см.

Таблица 2

**Динамика концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах больных СД 1-го и 2-го типа в ходе терапии**

Группа пациентов	Этапы исследования	Концентрация АТФ, мкмоль Рн/мл клеток			Концентрация 2,3-ДФГ, мкмоль Рн/мл клеток		
		$M \pm m$	$p$	$p_1$	$M \pm m$	$p$	$p_1$
СД 1-го типа	До лечения	0,87 ± 0,11	0,03		1,50 ± 0,10	0,03	
	После лечения	1,10 ± 0,12	0,04	0,05	2,01 ± 0,19	0,02	0,04
СД 2-го типа	До лечения	1,01 ± 0,13	0,03		1,72 ± 0,12	0,02	
	После лечения	1,43 ± 0,19	0,03	0,04	2,28 ± 0,16	0,5	0,03

Примечание. Физиологическая норма концентрации АТФ —  $1,74 \pm 0,11$  мкмоль Рн/мл клеток, 2,3-ДФГ —  $2,66 \pm 0,16$  мкмоль Рн/мл клеток.

ских мероприятий связаны с ограничением процессов перекисного окисления липидов и деструкции мембран, приводящих к восстановлению отрицательного заряда эритроцитов, что, соответственно, вызывает улучшение реологических, кислородтранспортных показателей крови и развитие адаптационных процессов в организме.

Следует отметить, что адаптационные возможности организма в значительной мере определяются его способностью обеспечивать адекватное снабжение тканей кислородом. Существенную роль в этом процессе играют органические фосфаты в эритроцитах, такие как 2,3-ДФГ и АТФ. 2,3-ДФГ служит важным аллостерическим регулятором связывания кислорода с гемоглобином, а АТФ влияет на деформацию клеток, что обеспечивает оптимальный перенос кислорода тканям [10]. Как видно из табл. 2, терапия больных СД 1-го и 2-го типа привела к эффективному увеличению в эритроцитах концентрации как АТФ, так и 2,3-ДФГ. У больных СД 1-го типа отмечалось повышение АТФ и 2,3-ДФГ на 26 и 34% соответственно, а у больных СД 2-го типа — на 41 и 32% относительно значений до лечения.

По всей видимости, увеличение эритроцитарного содержания органических фосфатов обусловлено нормализацией метаболических процессов в эритроцитах. В частности, у больных СД выявлено интенсивное накопление лактата, что способствует развитию гипоксических явлений и как следствие ухудшает течение и прогноз заболевания [13]. Инсулин активирует поглощение миоцитами, кардиомиоцитами глюкозы [14]. По всей видимости, в эритроцитах также наблюдается активация поглощения глюкозы, что вызывает рост концентрации АТФ и 2,3-ДФГ, повышение деформации эритроцитов, облегчение отдачи кислорода тканям организма и, таким образом, улучшение его кислородного обеспечения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение базовой терапии у больных СД вызывало активацию адаптационных процессов, опосредованных восстановлением микроциркуляции и кислородтран-

спортной функции крови. Этому сопутствовало улучшение состояния пациентов: уменьшение слабости, сухости во рту, жажды, снижение количества мочеиспусканий, уменьшение онемения, покалывания в нижних конечностях. У пациентов наблюдалось значительное улучшение гликемического профиля. У пациентов с СД 1-го типа гликемия при поступлении составляла в среднем  $21,5$  ( $18,7—23,4$ ) ммоль/л, после проведенного лечения —  $7,9$  ( $5,8—9,7$ ) ммоль/л. У пациентов с СД 2-го типа средний показатель гликемии при поступлении —  $17,2$  ( $15,7—20,4$ ) ммоль/л, после проведенного лечения —  $7,2$  ( $6,4—8,9$ ) ммоль/л.

**Заключение.** Таким образом, существенное терапевтическое влияние инсулинотерапии у больных СД 1-го типа и комбинированной пероральной терапии сахароснижающими средствами у больных СД 2-го типа достигается за счёт позитивного действия данных клинических стратегий на процессы микроциркуляции и кислородтранспортную функцию крови и обусловлено снижением стрессовой реакции и активацией адаптационных процессов. Весьма вероятно, что анализ стресс-реакции и адаптационных процессов по функционально-биохимическим показателям эритроцитов может быть дополнительным критерием эффективности проводимой терапии, а также позволяет расширить возможности для раннего выявления предрасположенности к данному заболеванию с учётом общего адаптационного резерва организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений. *Сахарный диабет*. 2013; 3: 4—10.
2. Мисникова И.В., Древаль А.В., Ковалева Ю.А. Оптимизация скрининга для раннего выявления нарушений углеводного обмена. *Сахарный диабет*. 2014; 1: 8—14.
3. Стронгин Л.Г., Ботова С.Н., Починка И.Г. Прогностическое значение кардиоваскулярной автономной нейропатии у больных со-

- четанием сахарного диабета 2-го типа и хронической сердечной недостаточности. *Кардиология*. 2010; 2: 26—9.
4. Дедов И.И., Шестакова М.В. *Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика*. М.: Медицинское информационное агентство; 2011.
  5. Кравец Е.Б., Рязанцева Н.В., Яковлева Н.М. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при сосудистых осложнениях сахарного диабета 1-го типа. *Сахарный диабет*. 2006; 1: 10—4.
  6. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Изменение электрофоретической подвижности изолированных эритроцитов при действии стресс-факторов. *Гематология и трансфузиология*. 2011; 5: 18—21.
  7. Антипенко Е.А., Трошин В.В., Густов А.В., Дерюгина А.В. Неспецифическая резистентность организма при хронической ишемии головного мозга. *Медицинский альманах*. 2011; 1: 60—2.
  8. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Константинова А.И. Электрофоретическая подвижность и активность Na, K-АТФазы эритроцитов у крыс при стрессе. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2014; 100(11): 1297—1302.
  9. Лившиц В.М., Седельникова В.И. *Медицинский лабораторно-аналитический справочник*. М.: Триада Х; 2007.
  10. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Симутис И.С. и др. Содержание АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах при консервации и воздействии озона. *Биомедицина*. 2014; 2: 37—43.
  11. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дerviz Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1980; 7: 424—6.
  12. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Захарова О.А., Антипенко Е.А. Неспецифические адаптационные реакции крови при хронической ишемии головного мозга. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010; 12: 28—30.
  13. Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Колесников С.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Натяганова Л.В., Семенова Н.В., Гнусина С.В. Значения лактата, пирувата и их соотношений у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(7): 405—7.
  14. Титов В.Н., Сажина Н.Н., Ариповская А.В., Евтеева Н.М. Инсулин инициирует «кинетическое совершенство». Биологические функции локомоции. Глюкоза — субстрат синтеза поперечнополосатыми миоцитами  $\phi$ -9олеиновой жирной кислоты. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(5): 260—70.
  - screening for early detection of disorders of carbohydrate metabolism. *Sakharnyj diabet*. 2014; 1: 8—14. (in Russian)
  3. Strongin L.G., Botova S.N., Pochinka I.G. Prognostic value of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with combination of diabetes mellitus of the 2nd type, and congestive heart failure. *Kardiologiya*. 2010; 2: 26—9. (in Russian)
  4. Dedov I.I., SHestakova M.V. *Diabetes mellitus: diagnosis, treatment, prevention [Sakharnyj diabet; diagnostika, lechenie, profilaktika]*. M.: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2011. (in Russian)
  5. Kravec E.B., Ryazanceva N.V., Yakovleva N.M. *Saharnyj diabet*. 2006; 1: 10—4. (in Russian)
  6. Krylov V.N., Deryugina A.V. Molecular disturbances of erythrocyte membranes in vascular complications of diabetes mellitus type 1. *Diabetes. Gematologiya i transfuziologiya*. 2011; 5: 18—21. (in Russian)
  7. Antipenko E.A., Troshin V.V., Gustov A.V., Deryugina A.V. Nonspecific resistance of the organism in chronic cerebral ischemia. *Meditsinskiy al'manakh*. 2011; 1. 60—2. (in Russian)
  8. Krylov V.N., Deryugina A.V., Konstantinova A.I. Electrophoretic mobility and activity of Na,K-ATPase of red blood cells in rats under stress. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2014; 100(11): 1297—1302. (in Russian)
  9. Livshic V.M., Sedel'nikova V.I. *Medical laboratory reference [Meditsinskiy laboratorno-analiticheskiy spravochnik]*. M.: Triada H; 2007. (in Russian)
  10. Krylov V.N., Deryugina A.V., Simutis I.S. The ATF and 2,3 DFG in erythrocytes in preservation and ozone. *Biomeditsina*. 2014; 2: 37—43. (in Russian)
  11. Vinogradova I.L., Bagryanceva S.Yu., Derviz G.V. Method of simultaneous determination of 2,3 DPG and ATP in erythrocytes. *Laboratornoe delo*. 1980; 7: 424—6. (in Russian)
  12. Krylov V.N., Deryugina A.V., Zaharova O.A., Antipenko E.A. Nonspecific adaptive reactions of the blood in chronic cerebral ischemia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2010; 12: 28—30. (in Russian)
  13. Kolesnikova L.I., Vlasov B.Ya., Kolesnikov S.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Natyaganova L.V., Semenova N.V., Gnusina S.V. The values of lactate, pyruvate and their ratio in patients with diabetes mellitus 1st type. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61(7): 405—7. (in Russian)
  14. Titov V.N., Sazhina N.N., Aripovskaya A.V., Evteeva N.M. Insulin initiates a «kinetic perfection». The biological function of locomotion. Glucose — substrate for the synthesis of the striated myocytes  $\phi$ -9oleiновой fatty acids. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61(5): 260—70. (in Russian)

## REFERENCES

1. Dedov I.I. Innovative technologies in the treatment and prevention of diabetes and its complications. *Sakharnyj diabet*. 2013; 3: 4—10. (in Russian)
2. Misnikova I.V., Dreval' A.V., Kovaleva Yu.A. Optimization of

Поступила 20.07.17  
Принята к печати 01.08.17

## НЕИНВАЗИВНАЯ ДОСТУПНАЯ ИНФОРМАТИВНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ПАНЕЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ — ИНДЕКС ТФА

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, 614090, Пермь;

<sup>2</sup>ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, Москва

*Продолжается изучение информативных доступных биохимических тестов в качестве скрининговых неинвазивных методов диагностики фиброза при хроническом гепатите С (ХГС). Обследованы 70 пациентов с ХГС. Сопоставимая контрольная группа включала 30 здоровых лиц. Ультразвуковую эластографию (УЗЭ) печени проводили на аппарате FibroScan («EchoSens», Франция). Концентрацию фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа — ИФА («StatFax», США) с использованием реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), тромбоциты — на гематологическом анализаторе Medonic-620M (Швеция), альбумин — на анализаторе Archtekt-4000. Для расчёта пороговых значений и диагностической эффективности показателей, имеющих предикторную ценность, проводили ROC-анализ и определяли отношение шансов (OR). Установлена корреляционная связь плотности печёночной ткани по данным УЗЭ с тремя применёнными тестами: числом тромбоцитов ( $r = -0,9$ ), содержанием ФНО-α ( $r = 0,89$ ) и альбумина ( $r = -0,9$ ) — это три теста, включённых в математическую модель диагностики стадии фиброза. Уравнение множественной регрессии отражено в Патенте на изобретение № 2592371. Диагностическое значение предложенного авторами индекса фиброза ТФА (тромбоциты, фактор некроза опухоли, альбумин) по шкале METAVIR для F0 составило 0—0,5; для F1—2 — 0,6—2,5; при выраженном фиброзе/циррозе индекс был более 2,5. Индекс ТФА по эффективности сопоставим с более сложными аналогами. Возможно индивидуальное использование предикторов фиброза: тесты позволяют исключить фиброз при ХГС при количестве тромбоцитов в крови более или равном  $282 \times 10^9/\text{л}$ , значении ФНО-α менее или равном 1,9 нг/мл, уровне альбумина более или равном 47,3 г/л, а также дифференцировать стадии умеренного (F1—2) и выраженного фиброза (F3—4).*

*Индекс фиброза печени ТФА можно применять для исключения фиброза при ХГС, а также для определения стадий фиброза с диагностической чувствительностью 93,3% и специфичностью 83%. При этом имеет важное значение низкая ориентировочная стоимость исследования.*

**Ключевые слова:** хронический гепатит; тромбоциты; фактор некроза опухоли-альфа; альбумин; неинвазивный индекс фиброза печени.

**Для цитирования:** Щёктова А.П., Булатова И.А., Титов В.Н. Неинвазивная доступная информативная лабораторная панель определения фиброза печени — индекс ТФА. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 682-685. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-682-685>

Shchekotova A.P.<sup>1</sup>, Bulatova I.A.<sup>1</sup>, Titov V.N.<sup>2</sup>

THE NON-INVASIVE ACCESSIBLE INFORMATIVE LABORATORY PANEL FOR DETECTION OF LIVER FIBROSIS - TEA INDEX

<sup>1</sup>The Federal state budget educational institution of higher education "The academician E.A. Wagner Perm state medical university" of Minzdrav of Russia, 614990 Perm, Russia

<sup>2</sup>The Russian cardiologic R&D production complex of Minzdrav of Russia, 121552 Moscow, Russia

*The article presents the results of continued studies of informative accessible tests as a screening non-invasive technique of diagnostic of fibrosis under chronic hepatitis C. The sampling included 70 patients with chronic hepatitis C. The comparable control group included 30 healthy individuals. The ultrasonic elastography of liver was implemented using FibroScan («EchoSens», France). The concentration of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) in blood serum was detected by the enzyme-linked immunosorbent assay technique («StatFax», USA) using reagents of "Vektor-Best" (Russia); thrombocytes - by hematologic analyzer Medonic-620M (Sweden); albumin - by analyzer Archtekt-4000. The ROC-analysis and detection of odds ratio (OR) was implemented to calculate threshold values and diagnostic efficiency of indices with predictor value. The correlation relationship is established between density of hepatic tissue according ultrasonic elastography data and three applied tests: number of thrombocytes ( $r = -0,9$ ), content of TNF-α ( $r = 0,89$ ) and albumin ( $r = -0,9$ ). These are the three tests included into mathematical model of diagnostic of fibrosis stage. The equation of multiple regression is reproduced in the utility patent № 2592371. The diagnostic value of the proposed index of fibrosis TTA (thrombocytes, TNF and albumin) according the scale METAVIR for F0 made up to 0-0.5; for F1-2 - 0.6-2.5; in case of expressed fibrosis/cirrhosis index made up to more than 2.5. The index TTA by its efficiency is comparable with more complicated analogues. The individual application of fibrosis predictors is possible: the test permit to exclude fibrosis under chronic hepatitis C at number of thrombocytes in blood more or equal to  $282 \times 10^9/\text{l}$ , value of TNF-α less or equal 1.9 ng/ml, level of albumin more or equal 47.3 g/l and also to differentiate stages of moderate (F1-2) and expressed fibrosis (F3-4).*

*The index TTA of liver fibrosis can be applied to exclude fibrosis under chronic hepatitis C and also to establish stages of fibrosis with diagnostic sensitivity 93.3% and specificity 83%. At that, low approximate cost of examination has an important value.*

**Key words:** chronic hepatitis; platelets; tumor necrosis factor-alpha; albumin; noninvasive liver fibrosis index.

**Для корреспонденции:** Щёктова Алевтина Павловна, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России; e-mail: [al\\_shchekotova@mail.ru](mailto:al_shchekotova@mail.ru)

**For citation:** *Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Titov V.N. The non-invasive accessible informative laboratory panel for detection of liver fibrosis - TEA index. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62(11): 682-685. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-682-685>*

**For correspondence:** *Shchekotova A.P., doctor of medical sciences, professor, the head of chair of clinical laboratory diagnostic of the Federal state budget educational institution of higher education "The academician E.A. Wagner Perm state medical university". e-mail: [al\\_shchekotova@mail.ru](mailto:al_shchekotova@mail.ru)*

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 24.07.2017  
Accepted 04.08.2017

**Введение.** При хронических заболеваниях печени независимо от этиологического фактора в ответ на первичное или вторичное воспаление происходит избыточное разрастание соединительной ткани с нарушением архитектоники органа и трансформацией фиброза в цирроз печени [1]. При этом снижается эффективность лечебных мероприятий, что диктует изменение тактики терапии. Тем не менее эффективная терапия улучшает прогноз даже при формировании цирроза, особенно при использовании препаратов, которые тормозят развитие фиброза печени (ФП) [2]. В дополнение, а нередко и вместо «золотого стандарта» - гистологического исследования биоптата печени, для оценки выраженности ФП используют неинвазивные методы, тем более что расхождения в интерпретации морфологической картины отдельными специалистами могут составлять 25—33% [3, 4]. Современные методы визуализации являются эффективными тестами оценки ФП — это ультразвуковая эластография (УЗЭ) печени, метод определяет степень формирования соединительной ткани в печени, выражая её плотность в кПа. Результаты многих исследований и применение метаанализов доказали высокую эффективность этого метода [5]. В то же время для проведения УЗЭ требуется специальное оборудование и обученный персонал. Имеются также факторы, ограничивающие возможности этого метода, например ожирение, наличие свободной жидкости в брюшной полости, сужение межреберий [6]. В этих случаях целесообразно применение сывороточных тестов оценки фиброза печени. Сывороточные маркеры фиброза эффективно характеризуют выраженность и динамику развития соединительной ткани в печени [7]. Все серологические маркеры ФП делят на прямые, которые отражают наличие грубой соединительной ткани в органе, и непрямые, характеризующие активность воспалительного процесса, повреждения паренхимы и нарушение синтетической функции печени и позволяющие косвенно судить о наличии и выраженности ФП [8, 9]. На основе комбинации непрямых лабораторных маркеров фиброза предложено более 20 разных индексов и шкал для диагностики стадии ФП. Предложен также ряд панелей на основе комбинации прямых и непрямых маркеров фиброза в сыворотке крови с дополнительным включением антропометрических параметров. Чувствительность и специфичность данных панелей составляют 70—93% и 60—91% соответственно [7, 10]. Наиболее распространённой является диагностическая панель FibroTest («BioPredictive», Франция), которая характеризует стадии фиброза [11]. Этот тест распространён за рубежом, и его рассматривают в качестве альтернативы чрескожной биопсии печени у пациентов с хроническим гепатитом. Благодаря его применению число биопсий печени сократилось на 46%. В России применение этого теста в настоящее время достаточно ограничено,

в частности из-за высокой стоимости исследования. К тому же при промежуточных стадиях фиброза эффективность многих неинвазивных маркеров невысока. В связи с этим создание безопасного, общедоступного и эффективного метода оценки фиброза печени остаётся актуальной проблемой современной гепатологии.

Создавшаяся ситуация привела к попытке разработки неинвазивного способа диагностики и оценки риска прогрессирования ФП на модели больных хроническим гепатитом С (ХГС) [12]. Независимо от этиологического фактора поражения печени (вирусы, алкоголь, токсические, лекарственные причины нарушения метаболизма и аутоиммунные заболевания), патогенез поражения органа является сходным [13]. Морфологической же основой и универсальным механизмом прогрессирования заболеваний печени является фиброз. В принципе, любой маркер, задействованный в формировании патологии печени, может отражать степень нарушения функции печени и развитие фиброза как общепатологического процесса в исходе первичного или вторичного воспаления.

**Цель исследования** — оценить диагностические возможности панели доступных лабораторных показателей, а именно: числа тромбоцитов, уровня фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ) и содержания альбумина в крови в качестве непрямых тестов оценки выраженности фиброза печени.

**Материал и методы.** На базе Пермского краевого гепатологического центра в 2015—2016 гг. обследованы 70 пациентов (30 мужчин и 40 женщин) с ХГС; средний возраст составил  $36,0 \pm 6,7$  года. Группа контроля состояла из 30 практически здоровых лиц аналогичного возрастного и полового состава. Этиологическая верификация вирусного гепатита С проводилась методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) наборами ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Ультразвуковую эластографию печени проводили на аппарате FibroScan («EchoSens», Франция), значения плотности печени выражены в кПа. Для исследования тромбоцитов использовали гематологический анализатор модели Medonic-620M (Швеция). Концентрацию альбумина в сыворотке крови, а также другие тесты для оценки функции печени определяли на приборе Architect-4000 («Abbott», США). Содержание ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови оценивали с помощью ИФА на приборе StatFax (США) с использованием реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Статистическую обработку результатов проводили с применением программы Statistica 7.0 («StatSoft»). Рассчитывали мощность исследования и распределение результатов по методу Колмогорова—Смирнова. Данные приведены в виде среднего и стандартного отклонения ( $M \pm \sigma$ ). Для оценки значимости различий независи-

мых групп применяли непараметрический критерий Манна—Уитни. Корреляционный анализ проводили с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ). Критерий Фишера использовали для оценки значимости уравнения регрессии. Нулевую гипотезу отвергли при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Для расчёта пороговых значений и диагностической эффективности показателей, имеющих прогностическую ценность, проводили ROC-анализ и расчёт отношения шансов (QR) [14].

**Результаты и обсуждение.** По результатам УЗЭ в группе из 70 пациентов с ХГС у 25 человек проявлений ФП не выявлено, у 32 пациентов обнаружен умеренный фиброз (F1—2), у 13 больных диагностирован тяжёлый ФП с переходом в цирроз печени (F3—4). Установлена корреляционная зависимость между высокой степенью плотности печени по показателям эластографии и следующими тестами сыворотки крови: обратная для тромбоцитов ( $r = -0,9$ ) и альбумина ( $r = -0,9$ ) и прямая для ФНО- $\alpha$  ( $r = 0,89$ ). Провоспалительный цитокин участвует в активации наработки элементов матрикса соединительной ткани звездчатыми клетками печени [1, 9] при явном усугублении поражения печени на фоне вирусной инфекции и снижения синтетической функции гепатоцитов, в том числе синтеза альбумина. Уменьшение количества тромбоцитов при прогрессировании гепатита может быть связано как с развитием проявлений начальной (функциональной) портальной гипертензии при воспалительной инфильтрации печени и сдавлении жёлчных протоков, так и с трансформацией её в органическую [1].

Таким образом, изменения содержания в крови ФНО- $\alpha$ , альбумина и тромбоцитов патогенетически связаны с тяжестью поражения печени и прогрессированием в ней фиброза и достоверно отражают происходящие нарушения: снижение выработки альбумина и уменьшение количества тромбоцитов на фоне воспаления. Определение чувствительности и специфичности таких непрямых тестов оценки выраженности ФП зависит от выбранных оптимальных пороговых значений лабораторных тестов [14].

Для построения математической модели, которая учитывала бы индивидуальную совокупность лабораторных предикторов (тестов, отражающих тяжесть поражения печени) выраженности ФП, применён метод множественной регрессии. В данной модели зависимой переменной являлась плотность печени в кПа по результатам эластографии, а независимыми переменными — лабораторные тесты, для которых были определены сильные корреляции с тяжестью ФП. Полученная формула позволила вычислить так называемый индекс фиброза, отражающий плотность печени, и стратифицировать стадии фиброза при ХГС. Оценку адекватности прогноза ФП проводили с вычислением показателей чувствительности и специфичности, степени воспроизводимости и соответствия [14]. ROC-кривая отображает графическую зависимость количества правильно верифицированных истинно положительных результатов от количества отрицательных и позволяет оценить эффективность тестов. Качество модели можно оценить по значениям площади под ROC-кривой (AUC): при 0,9—1,0 качество модели отличное, при 0,8—0,9 — качество очень хорошее, 0,7—0,8 — хорошее [14]. При построении ROC-кривой тромбоцитов для оценки тяжести фиброза AUC составила  $0,95 \pm 0,02$  (доверительный интервал 0,86—0,99),  $p < 0,001$ , индекс Юдена — 0,78.

Уровень тромбоцитов более  $282 \times 10^9/\text{л}$  при ХГС указывал на отсутствие ФП, при этом чувствительность теста достигала 100%, а специфичность — 77,8%. Для ФНО- $\alpha$  AUC достигала  $0,90 \pm 0,03$  (доверительный интервал 0,80—0,96),  $p < 0,001$ , индекс Юдена для показателя равен 0,73. Концентрация ФНО- $\alpha$  ниже 1,9 пг/мл свидетельствовала об отсутствии фиброза с чувствительностью 100%, а показатель специфичности также был удовлетворительным — 73,3%. ROC-кривая альбумина для прогнозирования фиброза имела AUC  $0,86 \pm 0,04$  (доверительный интервал 0,76—0,93),  $p < 0,001$ , индекс Юдена при этом был равен 0,69. Концентрация альбумина при отсутствии фиброза составила 47,3 г/л (чувствительность 96%, специфичность 73,3%). Следовательно, с учетом показателей AUC качество моделей для изученных показателей отличное и очень хорошее.

Таким образом, о наличии ФП при ХГС свидетельствует количество тромбоцитов менее  $282 \times 10^9/\text{л}$ , концентрация ФНО- $\alpha$  более 1,9 пг/мл и альбумина менее 47,3 г/л. Следовательно, возможно индивидуальное использование значимых предикторов ФП на основании ROC-кривых для тромбоцитов, ФНО- $\alpha$  и альбумина. Использование этих тестов в комплексе способствует повышению диагностической эффективности метода, который получил авторское название — индекс ТФА (тромбоциты, фактор некроза опухоли, альбумин).

С целью оценки события индивидуально для каждого пациента (степени выраженности ФП) использованы показатели плотности печени по данным УЗЭ, в модель диагностики стадии ФП были включены: число тромбоцитов ( $r = -0,9$ ), содержание ФНО- $\alpha$  ( $r = -0,89$ ) и уровень альбумина ( $r = 0,9$ ). Построение уравнения расчёта индекса ТФА печени выполнено у 70 больных ХГС. Формула отражена в Патенте на изобретение № 2592371 [15]:

Индекс фиброза (ТФА) =  $K - A \times \text{Тр} + B \times \text{ФНО-}\alpha - C \times \text{альбумин}$ ,

где ИФ — индекс фиброза ТФА,  $K$  — константа,  $A$ ,  $B$ ,  $C$  — рассчитанные коэффициенты показателей, Тр — тромбоциты ( $10^9/\text{л}$ ), ФНО- $\alpha$  — фактор некроза опухоли альфа (пг/мл), альбумин — альбумин (г/л).

Диагностическое значение индекса фиброза печени ТФА для стратификации стадий фиброза приведено ниже:

Стадия фиброза	Значения индекса фиброза
F0 (отсутствие фиброза)	0—0,5
F1—2 (умеренный фиброз)	0,6—2,5
F3—4 (выраженный фиброз/цирроз)	более 2,5

Диагностическая чувствительность данной математической модели ИФ ТФА составила 93,3%, специфичность — 83% [14], ориентировочная стоимость — 450—500 руб.

**Клинический пример 1.** Пациентка Т., 35 лет. ХГС выявлен 4 года назад, жалоб на момент осмотра нет. Кожа и склеры физиологической окраски, печень +0,5 см ниже края рёберной дуги. Лабораторные показатели: тромбоциты —  $392 \times 10^9/\text{л}$ , ФНО- $\alpha$  — 0,1 пг/мл, уровень альбумина — 50,1 г/л — позволяют предполагать отсутствие значимого фиброза у пациентки.

ИФ ТФА =  $K - A \times 392 + B \times 0,1 - C \times 50,1 = 0,08$ , т. е. стадия ФП соответствует F0.

УЗЭ: 4,5 кПа (стадия F0). Таким образом, больная для решения о терапевтической тактике не нуждается в биопсии печени.

**Клинический пример 2.** Пациентка Ш., 27 лет. Диагноз ХГС установлен 7 лет назад. Жалобы на момент осмотра на снижение работоспособности. Кожа и склеры физио-

логической окраски, печень у края рёберной дуги. Тромбоциты —  $250 \times 10^9/\text{л}$  (соответствуют F1—2), ФНО- $\alpha$  — 3 пг/мл (предполагает наличие тяжёлого фиброза/цирроза), альбумин — 47,2 г/л (характерен для F1—2). Возможно, значительное повышение уровня провоспалительного цитокина было связано с активацией воспаления в печени либо другой воспалительной активностью.

ИФ ТФА =  $K - A \times 250 + B \times 3 - C \times 47,2 = 0,98$ , что свидетельствует об умеренном фиброзе (F1—2).

УЗЭ: 7,8 кПа — стадия F2, то есть индекс ТФА и данные эластографии совпали.

Таким образом, комплекс лабораторных показателей для определения выраженности ФП, условно названный авторами ТФА, демонстрирует большую точность диагностики по сравнению с отдельными непрямими тестами, которые также могут быть использованы для диагностики и стратификации фиброза. В целом, эффективность ТФА сопоставима с современными неинвазивными лабораторными панелями [7, 10, 11].

**Заключение.** На модели ХГС предложено уравнение множественной регрессии, которое позволяет рассчитать индекс фиброза печени ТФА, исключить фиброз при гепатите и прогнозировать стадию фиброза по трём лабораторным параметрам, которые выявили высокую корреляционную зависимость с плотностью печени по результатам эластографии: для тромбоцитов и альбумина — обратную, для ФНО- $\alpha$  — прямую. Данный индекс имеет высокие диагностические характеристики: диагностическая чувствительность предложенной нами панели составила 93,3%, специфичность — 83%. Индекс ТФА по эффективности сопоставим с более сложными аналогами. При этом низкая ориентировочная стоимость исследования имеет определённое значение в условиях ограниченных ресурсов. Возможно и индивидуальное использование значимых лабораторных предикторов для прогнозирования развития фиброза у пациентов с ХГС.

Выражаем благодарность за помощь в статистической обработке результатов исследования канд. мед. наук В.С. Шелудько, старшему научному сотруднику ЦНИЛ ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава РФ.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 2008; 214: 199—210.
2. Fallowfield J., Hayes P. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? *Clin. Med.* 2011; 11(2): 179—83.
3. Bravo A.A., Sheth S.G., Chopra S. Liver biopsy. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344(7): 495—500.
4. Szymczak A., Simon K., Ingot M., Gladysz A. Safety and effectiveness of blind percutaneous liver biopsy: analysis of 1412 procedures. *Hepat. Mon.* 2012; 12(1): 32—7.
5. Stebbing J., Farouk L., Panos G., Anderson M., Jiao L.R., Mandalia S., Bower M., Gazzard B., Nelson M. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis. *J. Clin. Gastroenterol.* 2010; 44(1): 214—9.
6. Tsochatzis E.A., Gurusamy K.S., Ntaoula S., Cholongitas E., Davidson B.R., Burroughs A.K. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J. Hepatol.* 2011; 54(4): 650—9.
7. Rockey D.C., Bissell D.M. Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology.* 2006; 43: 113—20.
8. Щёктова А.П., Булатова И.А., Ройтман А.П. Чувствительность

- и специфичность определения гиалуриновой кислоты, коэффициента де Ритиса и васкулоэндотелиального фактора роста для диагностики хронического гепатита и цирроза печени. *Пермский медицинский журнал.* 2013; 4(30): 84—9.
9. Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Nasibullina N.I. Role of proinflammatory cytokines in fibrogenesis in chronic hepatitis. *13-th International Euroasian Congress Surgeons and Gastroenterologists, Baku, September 12—15. 2013.*
10. Вельков В.В. *Сывороточные биомаркеры фиброза печени: до свидания биопсия?* М.: LomonosoffPrint; 2009.
11. Poynard T., Ngo Y., Munteanu M., Thabut D., Ratziu V. Noninvasive markers of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B. *Curr. Hepat. Rep.* 2011; 10(2): 87—97.
12. Булатова И.А. *Фиброз печени при хронических заболеваниях печени: механизмы развития, клиничко-лабораторная оценка прогрессирования и мониторинг терапии.* Дисс. ...д-ра мед. наук: 14.01.04/ ФГОУ ВО ПГМА им. Е.А. Вагнера Минздрава РФ. Пермь; 2016.
13. Титов В.Н. *Клиническая биохимия. Курс лекций.* М.: ИНФРА-М; 2017.
14. Власов В.В. *Эффективность диагностических исследований.* М.: Медицина; 1988.
15. Щёктова А.П., Булатова И.А., Щёкотов В.В., Шелудько В.С., Насибуллина Н.И. Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С. *Патент на изобретение № 2592371 RUS 02.06.2015.*

## REFERENCES

1. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 2008; 214: 199—210.
2. Fallowfield J., Hayes P. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? *Clin. Med.* 2011; 11(2): 179—83.
3. Bravo A.A., Sheth S.G., Chopra S. Liver biopsy. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344(7): 495—500.
4. Szymczak A., Simon K., Ingot M., Gladysz A. Safety and effectiveness of blind percutaneous liver biopsy: analysis of 1412 procedures. *Hepat. Mon.* 2012; 12(1): 32—7.
5. Stebbing J., Farouk L., Panos G., Anderson M., Jiao L.R., Mandalia S., Bower M., Gazzard B., Nelson M. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis. *J. Clin. Gastroenterol.* 2010; 44(1): 214—9.
6. Tsochatzis E.A., Gurusamy K.S., Ntaoula S., Cholongitas E., Davidson B.R., Burroughs A.K. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J. Hepatol.* 2011; 54(4): 650—9.
7. Rockey D.C., Bissell D.M. Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology.* 2006; 43: 113—20.
8. Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Roitman A.P. Sensitivity and specificity of the determination of hyaluronic acid, de Ritis coefficient and vasculoendothelial growth factor for the diagnosis of chronic hepatitis and cirrhosis of the liver. *Permskiy meditsinskiy zhurnal.* 2013; 4(30): 84—9. (in Russian)
9. Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Nasibullina N.I. Role of proinflammatory cytokines in fibrogenesis in chronic hepatitis. *13-th International Euroasian Congress Surgeons and Gastroenterologists, Baku, September 12—15. 2013.*
10. Vel'kov V.V. *Serum biomarkers of liver fibrosis: goodbye biopsy? [Sыvorotochnyye biomarkery fibroza pecheni: dosvidaniya biopsiya?]* Moscow: LomonosoffPrint; 2009.
11. Poynard T., Ngo Y., Munteanu M., Thabut D., Ratziu V. Noninvasive markers of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B. *Curr. Hepat. Rep.* 2011; 10(2): 87—97.
12. Bulatova I.A. *Fibrosis of the liver in chronic liver diseases: development mechanisms, clinical and laboratory evaluation of progression and monitoring of therapy.* Diss. Perm'; 2016. (in Russian)
13. Titov V.N. *Clinical biochemistry. Lecture course. [Klinicheskaya biokhimiya. Kurs lektsiy].* Moscow: INFRA-M; 2017. (in Russian)
14. Vlasov V.V. *The effectiveness of diagnostic studies. [Effektivnost' diagnosticheskikh issledovaniy].* Moscow: Meditsina; 1988. (in Russian)
15. Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Shchekotov V.V., Sheludko V.S., Nasibullina N.I. A method for diagnosing the stage of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C. *Patent na izobreteniyе № 2592371 RUS 02.06.2015.* (in Russian)

Поступила 24.07.17  
Принята к печати 01.08.17

## КОАГУЛОЛОГИЯ

© БАЗАРИН К.П., САВЧЕНКО А.А., 2017

УДК 612.112:796.071

Базарин К.П.<sup>1,2</sup>, Савченко А.А.<sup>2,3</sup>

### ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОЛЛАГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У КВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ В ДИНАМИКЕ ГОДОВОГО МАКРОЦИКЛА

<sup>1</sup>КГАУ ДПО «Красноярский краевой институт повышения квалификации работников физической культуры и спорта», Красноярск;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», Красноярск

*Физическая нагрузка провоцирует достоверные изменения в системе свертывания крови, в частности повышение свертываемости крови, в том числе увеличение риска тромбообразования. Однако, долговременные изменения в системе свертывания крови у спортсменов остаются практически не изученными. Нами показано, что параметры агрегационной способности тромбоцитов у спортсменов имеют существенные долговременные изменения в ходе годового тренировочно-соревновательного макроцикла. Максимальным изменениям подвержены величина лаг-фазы и площадь под кривой агрегации тромбоцитов. Лаг-фаза на кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном существенно повышена в окончании соревновательного периода; снижается до контрольных значений за время отдыха в переходном периоде и падает значительно ниже показателей контрольной группы в ходе подготовительного периода. Площадь под кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном достоверно снижена относительно контрольных значений в окончании соревновательного периода, превышает контрольный уровень в переходном периоде и не имеет достоверных отличий от контроля в подготовительном периоде. Изменения функциональной активности тромбоцитов оказывают значимое влияние на работу иммунной системы, что модулирует течение процессов адаптации к спортивной деятельности в целом.*

**Ключевые слова:** тромбоциты; агрегация; физическая нагрузка; спорт

**Для цитирования:** Базарин К.П., Савченко А.А. Изменения показателей коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у квалифицированных спортсменов в динамике годового макроцикла. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (11): 686-689. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-686-689>

*Bazarin K.P.<sup>1,2</sup>, Savchenko A.A.<sup>2,3</sup>*

#### THE ALTERATIONS OF INDICES OF COLLAGEN-INDUCED AGGREGATION OF THROMBOCYTES IN QUALIFIED SPORTSMEN IN THE DYNAMICS OF ANNUAL MACRO-CYCLE

<sup>1</sup>The kraii state autonomous institution of advanced professional education "The Krasnoyarsk kraii institute of advanced training of workers of physical culture and sport", Krasnoyarsk, Russia

<sup>2</sup>The Federal state budget scientific institution "The research institute of medical problems N.A. Semashko national research institute of public health", 105064 Moscow, Russia

<sup>3</sup>The Federal state autonomous educational institution of higher education "The Siberian federal university", Krasnoyarsk, Russia

*The physical load provokes reliable alterations in the blood coagulation system, specifically increasing of blood coagulability, including increasing of thrombus formation. However, the long-term alterations in the blood coagulation system in sportsmen are still unexplored. The article demonstrates that in sportsmen parameters for aggregation capacity of thrombocytes have significant long-term alterations during annual training competition macro-cycle. The maximal alterations have to do with value of lag-phase and area under the curve of aggregation of thrombocytes. The lag-phase on the curve of aggregation of thrombocytes under stimulation with collagen is significantly increased in termination of competition period; it decreases up to control values during resting time in transition period and significantly falls down below control group indices during preparatory period. The area under the curve of aggregation of thrombocytes under stimulation with collagen is reliably decreased as to control values at the termination of competition period. It exceeds the control level during transition period and it has no reliable differences against control values during preparatory period. The alterations of functional activities of thrombocytes significantly effect functioning of immune system that modulates course of processes of adaptation to sport activities in general.*

**Key words:** thrombocytes; aggregation; physical load; sport.

**For citation:** Bazarin K.P., Savchenko A.A. The alterations of indices of collagen-induced aggregation of thrombocytes in qualified sportsmen in the dynamics of annual macro-cycle *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (11): 686-689. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-686-689>

**For correspondence:** *Bazarin K.P.*, the head of the center of innovative technologies in sport of the kraii state autonomous institution of advanced professional education "The Krasnoyarsk kraii institute of advanced training of workers of physical culture and sport". e-mail: [kpbazarin@gmail.com](mailto:kpbazarin@gmail.com)

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support*

Received 20.06.2017  
Accepted 03.07.2017

**Введение.** Долговременные изменения в системе свертывания крови у спортсменов остаются практически не изученными. Большинство исследователей концентрируются на изучении срочных эффектов. Нами не было найдено работ, охватывающих временной диапазон более 24 ч после окончания физической нагрузки. В ряде исследований показана достоверная реакция системы свертывания крови на физическую нагрузку, как повышение свертываемости крови, в том числе увеличение риска тромбообразования [1, 2]. Показана активация агрегации тромбоцитов непосредственно после физической нагрузки, пропорционально ее длительности, мало зависящая от конкретного вида спорта [2, 3]. С ростом нагрузки возникает снижение индуцированной агрегации тромбоцитов, пропорционально величине нагрузки. В частности отмечается снижение агрегации при стимуляции коллагеном на 60% [3]. Имеются данные о взаимосвязи повышенного выброса катехоламинов при высокой физической нагрузке и снижению активации тромбоцитов у спортсменов. Таким образом, по данным многих авторов, агрегационная способность тромбоцитов достоверно изменяется под влиянием физических нагрузок. Однако долговременные динамические изменения указанных процессов остаются неисследованными.

Тромбоцитарно-нейтрофильные взаимодействия являются предметом активных научных исследований в настоящее время. В том числе, как показано в ряде работ, физическая нагрузка стимулирует образование лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов [4] и, в частности, тромбоцитарно-нейтрофильных комплексов, ведущих к активации последних [5]. Взаимодействие нейтрофилов с активированными тромбоцитами является необходимой фазой развития как воспалительного процесса, так и непосредственно «дыхательного взрыва» [6].

Таким образом, целью исследования явилось изучение изменений агрегационной способности тромбоцитов у квалифицированных спортсменов в различных периодах годового тренировочно-соревновательного макроцикла и выявление корреляционных взаимосвязей с изменениями функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов.

**Материал и методы.** В исследовании приняли участие 155 спортсменов, представителей различных видов спорта: 96 мужчин, средний возраст  $24,34 \pm 3,54$  лет; 59 женщин, средний возраст составил  $23,12 \pm 2,3$  лет. Виды спорта: спортивное ориентирование бегом, легкая атлетика (бег на средние и длинные дистанции), лыжные гонки, биатлон, регби, футбол. Квалификация: мастеров спорта международного класса 15; мастеров спорта 53, кандидатов в мастера спорта 77, имеющих 1-й разряд — 10. Контрольная группа состояла из 101 человека, не испытывающих систематических высоких физических нагрузок: 53 мужчины, средний возраст  $23,17 \pm 2,54$  года, 48 женщин, средний возраст  $22,12 \pm 3,01$  года.

Образцы венозной крови забирали из локтевой вены

обследуемых натощак, в состоянии покоя, как минимум через 12 ч после окончания физической нагрузки. Пробы были взяты в течение 3 дней после окончания соревновательного периода. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом, обследуемые давали добровольное информированное согласие на участие в эксперименте.

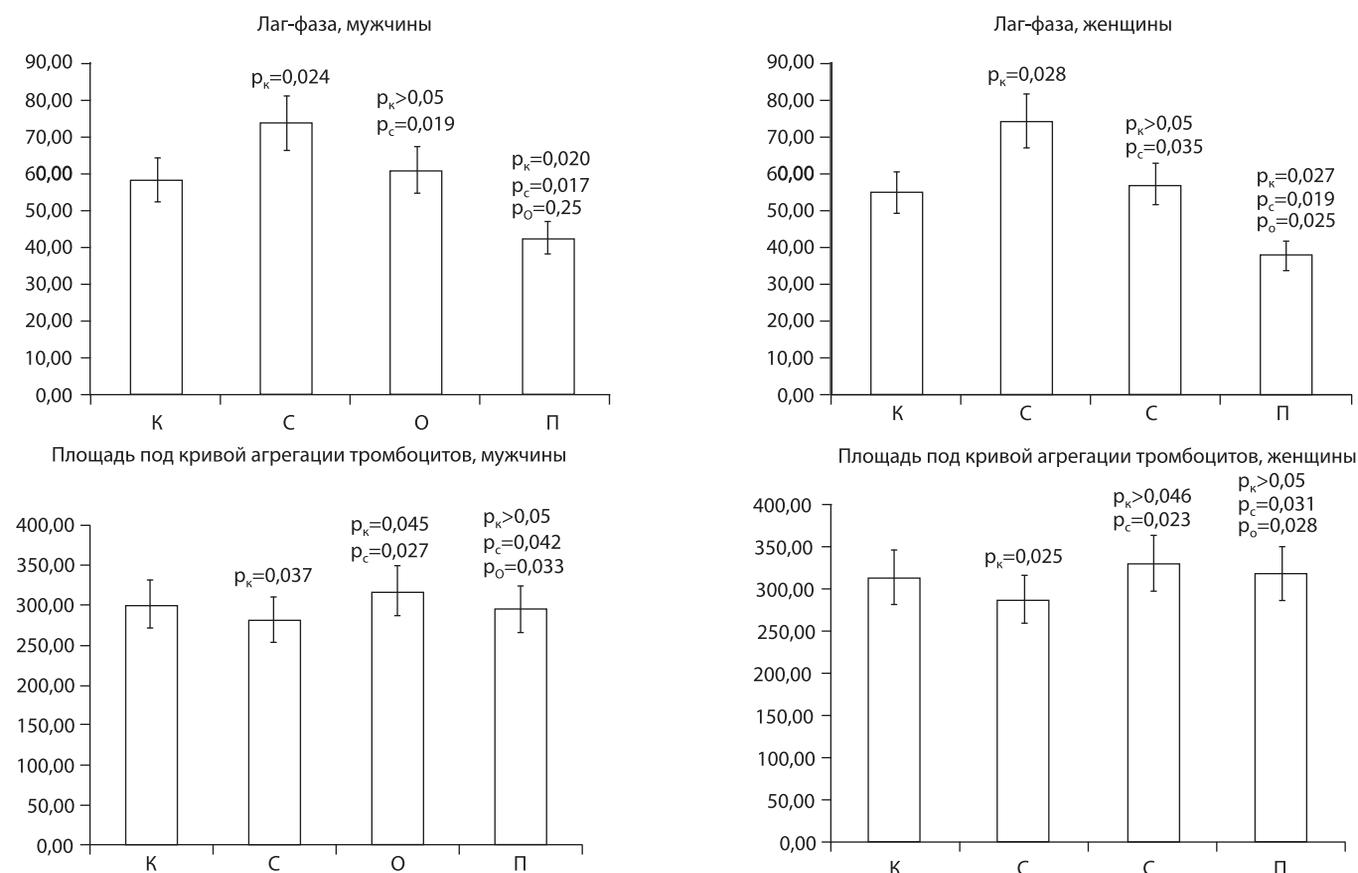
Исследования агрегации тромбоцитов выполняли на люмиагрегометре CHRONOLOG 700 с использованием реактивов Хронопар (США), в качестве активатора в кювету агрегометра вносили коллаген 2 мкг/мл. Оценивали лаг-фазу, амплитуду, угол наклона и площадь под кривой агрегации.

Выделение нейтрофильных гранулоцитов производили центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина ( $\rho = 1,077$  г/см<sup>3</sup> для отделения лимфоцитов,  $\rho = 1,119$  г/см<sup>3</sup> для выделения нейтрофильных гранулоцитов). Полученную суспензию нейтрофильных гранулоцитов дважды отмывали в растворе Хенкса без фенолового красного по 10 мин при 400 g. Супернатант сливали, оставшиеся нейтрофильные гранулоциты разводили в 1 мл раствора Хенкса и получали взвесь. Подсчитывали количество нейтрофильных гранулоцитов в камере Горяева. При контроле морфологического состава взвесей выделенных клеток определяли чистоту выхода нейтрофильных гранулоцитов, которая составляла не менее 97%.

Реакционная смесь для хемилюминесцентной реакции состояла из 40 мкл донорской сыворотки АВ (IV), 100 мкл люминола в концентрации  $10^5$  М, 50 мкл индуктора (в случае определения индуцированной хемилюминесценции), 610 мкл раствора Хенкса без красителя и 250 мкл лейкоцитарной взвеси (2 млн/мл) для определения спонтанной хемилюминесценции или 685 мкл раствора Хенкса и 125 мкл взвеси лейкоцитов — для индуцированной.

Оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции производили в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3604» (СКТБ «Наука», Красноярск). Регистрация результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществлялась через компьютер. Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум ( $T_{max}$ ), максимальное значение ( $I_{max}$ ) и площадь кривой (S).

В качестве индукторов дыхательного «взрыва» использовали опсонизированный зимозан («Sigma», США). Суспензию опсонизированного зимозана готовили следующим образом. Навеску зимозана тщательно перемешивали с донорской сывороткой АВ (IV) Rh(-) в концентрации 2 мг зимозана на 1 мл сыворотки. Инкубировали 30 мин при 37°C. После инкубации смесь центрифугировали 10 мин при 800 g, супернатант удаляли, а осевший зимозан ресуспендировали в 10 мл физиологического раствора и трижды отмывали по 10 мин при 800 g. Полученный опсонизированный зимозан разводили в растворе Хенкса без фенолового красного до



Величина лаг-фазы и площадь под кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном у мужчин и женщин спортсменов на разных этапах годового тренировочно-соревновательного макроцикла и лиц контрольной группы. К — контрольная группа, С — спортсмены в окончании соревновательного периода, О — спортсмены в окончании переходного периода, П — спортсмены в окончании подготовительного периода.

концентрации 2 мг/мл. Усиление хемиллюминесценции, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной оценивали соотношением  $S_{\text{зим}}/S_{\text{спон}}$ , которое определяли как индекс активации (ИА) [7].

**Результаты и обсуждение.** Нами были исследованы динамические изменения параметров агрегационной способности тромбоцитов в ответ на активацию коллагеном у квалифицированных спортсменов в динамике годового тренировочно-соревновательного макроцикла.

Величина амплитуды кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном незначительно снижена относительно контрольных значений у спортсменов в окончании соревновательного периода. В окончании переходного и подготовительного периодов данный показатель соответствует контрольным величинам и не имеет достоверных отличий как от них, так и между собой. Отличия по величине амплитуды кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном между мужчинами и женщинами спортсменами в соответствующих периодах недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Величина угла кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном у спортсменов в окончании соревновательного периода не имеет достоверных отличий от показателей контрольной группы. В переходном и подготовительном периодах величина угла достоверно выше контроля и показателей соревновательного периода. Подготовительный период характеризуется значительным ростом угла кривой агрегации. Отличия между

мужчинами и женщинами спортсменами в окончании соответствующих периодов годового макроцикла недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Величина лаг-фазы на кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном существенно повышена в окончании соревновательного периода; снижается до контрольных значений за время отдыха в переходном периоде и падает значительно ниже показателей контрольной группы в ходе подготовительного периода. Во всех трех фазах годового макроцикла данный показатель у спортсменов имеет достоверные отличия друг от друга (см. рисунок). Имеются отличия по величине лаг-фазы при стимуляции коллагеном между мужчинами и женщинами спортсменами в соответствующих периодах.

Площадь под кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном у спортсменов в различных фазах годового тренировочно-соревновательного макроцикла имеет следующие особенности (см. рисунок): достоверно снижена относительно контрольных значений в окончании соревновательного периода, достоверно превышает контрольный уровень в переходном периоде и не имеет достоверных отличий от контроля в подготовительном периоде. Отличия по величине площади под кривой агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном между мужчинами и женщинами спортсменами в соответствующих периодах недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Значительное увеличение лаг-фазы в окончании соревновательного периода можно связать со снижением

**Корреляционные взаимосвязи между показателями функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови и показателями агрегационной способности тромбоцитов у мужчин и женщин спортсменов в динамике годового макроцикла**

Показатель		Мужчины		Женщины	
		Амплитуда коллаген	Лag-фаза коллаген	Амплитуда коллаген	Лag-фаза коллаген
T <sub>max</sub> спонтанная	r	0,80	-0,75	0,81	-0,77
	p	0,011	0,015	0,011	0,016
T <sub>max</sub> индуцированная	r	-0,62	0,77	-0,67	0,75
	p	0,027	0,015	0,031	0,019
I <sub>max</sub> спонтанная	r	0,79	-0,78	0,80	-0,79
	p	0,011	0,013	0,011	0,012
I <sub>max</sub> индуцированная	r	0,70	-0,80	0,74	-0,79
	p	0,020	0,011	0,021	0,017
S спонтанная	r	-0,78	0,79	-0,77	0,82
	p	0,012	0,011	0,14	0,11
S индуцированная	r	0,79	-0,77	0,78	-0,79
	p	0,012	0,017	0,012	0,013

чувствительности рецепторов тромбоцитов в силу их избыточной стимуляции коллагеном, выделение которого в кровотоке при физической нагрузке значительно повышается [8—10]. Полученные данные хорошо согласуются с результатами, приведенными в исследовании [11], в частности свидетельствующими о том, что параметры агрегации тромбоцитов у спортсменов в период отдыха (переходный) и лиц, не испытывающих систематических физических нагрузок, не имеют достоверных отличий. Однако, у спортсменов на фоне физической нагрузки возникает достоверное снижение агрегации при активации коллагеном.

Нами исследованы корреляционные взаимосвязи между показателями функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови и показателями агрегационной способности тромбоцитов у спортсменов в динамике годового макроцикла. Результаты приведены в таблице.

Из представленных данных видно, что изменения функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови у спортсменов в течение годового макроцикла имеют взаимосвязь с изменениями показателей агрегационной способности тромбоцитов, что свидетельствует об общности физиологических механизмов реакции на факторы спортивной деятельности, а также подтверждает тезис о непосредственном участии тромбоцитов в активации нейтрофильных гранулоцитов при физической нагрузке.

**Заключение.** Нами показано, что параметры агрегационной способности тромбоцитов у спортсменов имеют существенные долговременные изменения в ходе годового тренировочно-соревновательного макроцикла. Важно отметить активно исследуемое в настоящее время взаимодействие между тромбоцитами и клетками иммунной системы. Так отмечается, что физическая нагрузка стимулирует образование лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов [4] и, в частности, тромбоцитарно-нейтрофильных комплексов, ведущих к активации последних [5]. Высказывается мнение, что

тромбоциты являются провоспалительными клетками и принимают участие в иммунных реакциях, модулируя функции лимфоцитов, моноцитов, антигенпрезентирующих клеток [12, 13]. Взаимодействие нейтрофилов с активированными тромбоцитами является необходимой фазой развития как воспалительного процесса, так и непосредственно «дыхательного взрыва» [6]. Таким образом, изменения функциональной активности тромбоцитов оказывают значимое влияние на работу иммунной системы, что модулирует течение процессов адаптации к спортивной деятельности в целом.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1—6, 8—13  
см. REFERENCES)

7. Савченко А.А. Определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах биолюминесцентным методом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015; 159(5): 656—60.

REFERENCES

- Chen Y.W., Apostolakis S., Lip G.Y. Exercise-induced changes in inflammatory processes: Implications for thrombogenesis in cardiovascular disease. *Ann. Med.* 2014; 46(7): 439—55.
- Posthuma J.J., van der Meijden, Ten Cate H., Spronk H.M. Short- and Long-term exercise induced alterations in haemostasis: a review of the literature. *Blood Rev.* 2015; 29(3): 171—8.
- Karlic H., Lohninger A. Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense? *Nutrition.* 2004; 20(7—8): 709—15.
- Heber S., Volf I. Effects of Physical (In)activity on Platelet Function. *BioMed Research International.* 2015; Article ID 165078.
- Sreeramkumar V., Jose M., Adrover L., Ballesteros I. et al. Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation. *Science.* 2014; 346(6214): 1234—8.
- Jin R., Yu S., Song Z., Zhu X., Wang C. Soluble CD40 Ligand Stimulates CD40-Dependent Activation of the b2 Integrin Mac-1 and Protein Kinase C Zeta (PKCz) in Neutrophils: Implications for Neutrophil-Platelet Interactions and Neutrophil Oxidative Burst. *PLoS ONE;* 2013; 8(6).
- Savchenko A.A. Determination of the activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases in neutrophil granulocytes by a bioluminescence method. *Bulleten' experimental'noy biologii i meditsiny.* 2015; 159(5): 656—60. (in Russian)
- Lombardi G., Lanteri P., Colombini A., Lippi G., Banfi G. Stability of haematological parameters and its relevance on the athlete's biological passport model. *J. Sports Med.* 2011; 41(12): 1033—42.
- Benedini S., Longo S., Caumo A., Luzi L., Invernizzi P.L. Metabolic and hormonal responses to a single session of kumite (free non-contact fight) and kata (highly ritualized fight) in karate athletes. *Sport Sci. Health.* 2012; (8): 81—5.
- Janikowska G., Kochanska-Dziurawicz A., Zebrowska A., Bijak A., Kimsa M.J. Adrenergic response to maximum exercise of trained road cyclists. *Hum. Kinet.* 2014; 9(40): 103—11.
- Lippi G., Montagnana M., Salvagno G.L., Franchini M., Guidi G.C. Comparison of platelet function between sedentary individuals and competitive athletes at rest. *Thrombosis Journal.* 2006; (4): 10.
- Middleton E.A., Weyrich A.S., Zimmerman G.A. Platelets in Pulmonary Immune Responses and Inflammatory Lung Diseases. *J. Physiol Rev.* 2016; 96(4): 1211—59.
- Shih L., Kaplan D., Kraiss L.W., Casper T.C., Pendleton R.C., Peters C.L. et al. Platelet-Monocyte Aggregates and C-Reactive Protein are Associated with VTE in Older Surgical Patients. *Sci. Rep.* 2016;(7).

Поступила 20.06.17

Принята к печати 03.07.17

## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 618.12-002.1-078.33

Агарков Н.М.<sup>1</sup>, Агаркова В.Н.<sup>2</sup>, Аксёнов В.В.<sup>1</sup>, Кича Д.И.<sup>3</sup>, Шульга Л.В.<sup>1</sup>, Будник И.В.<sup>1</sup>, Афанасова Е.П.<sup>4</sup>

### РАЦИОНАЛИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО САЛЬПИНГООФОРИТА ПО ИНФОРМАТИВНЫМ ПАРАМЕТРАМ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» 305040, Курск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», 305041, Курск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ГБУЗ «Ессентукский родильный дом» 357635, Ессентуки, Россия

*Острый сальпингоофорит является распространенной патологией среди гинекологических заболеваний и вызывает существенные нарушения в гуморальной иммунной системе. Цель работы — рационализация лабораторной диагностики ОС по информативным параметрам гуморального иммунитета. Изучение показателей гуморального иммунитета выполнено у 65 больных ОС и 32 здоровых женщин методом радиальной иммунодиффузии. Установлено существенное увеличение содержания в плазме крови и корреляционной сопряженности IgA, IgG и циркулирующих иммунных комплексов. Выявлена высокая информативность данных показателей. Ведущее диагностическое значение для лабораторной диагностики ОС имеют IgA, IgG и циркулирующие иммунные комплексы.*

**Ключевые слова:** острый сальпингоофорит; гуморальный иммунитет; информативность показателей; диагностика острого сальпингоофорита.

**Для цитирования:** Агарков Н.М., Агаркова В.Н., Аксёнов В.В., Кича Д.И., Шульга Л.В., Будник И.В., Афанасова Е.П. Рационализация лабораторной диагностики острого сальпингоофорита по информативным параметрам гуморального иммунитета. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 690-693. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-690-693>

Agarkov N.M.<sup>1</sup>, Agarkova V.N.<sup>2</sup>, Aksyonov V.V.<sup>1</sup>, Kicha D.I.<sup>3</sup>, Shulga L.V.<sup>1</sup>, Budnik I.V.<sup>1</sup>, Afanasova E.P.<sup>4</sup>

#### THE RATIONALIZATION OF LABORATORY DIAGNOSTIC OF ACUTE SALPINGOOPHORITIS ACCORDING INFORMATIVE PARAMETERS OF HUMORAL IMMUNITY

<sup>1</sup>Federal state budget educational institution of higher education "The South-Western state university", 305040 Kursk, Russia

<sup>2</sup>Federal state budget educational institution of higher education "The Kursk state medical university", 305041 Kursk, Russia

<sup>3</sup>Federal state budget educational institution of higher education "The peoples' friendship university of Russia", 117198 Moscow, Russia

<sup>4</sup>The state budget institution of health care "The Yessentuki maternity hospital", 357635 Yessentuki, Russia

*The acute salpingoophoritis is a wide-spread pathology among gynecological diseases bringing on significant disorders in the humoral immune system. The study was carried out to rationalize laboratory diagnostic of acute salpingoophoritis according to informative parameters of humoral immunity. The analysis of indices of humoral immunity was applied to 65 patients with acute salpingoophoritis and 32 healthy women using radial immunodiffusion technique. The significant increasing of both of circulating immune complexes in blood plasma and related correlation relationship of IgA, IgG is established. The high informativeness of the given indices is established. The leading diagnostic significance in laboratory diagnostic is related to IgA, IgG and circulating immune complexes.*

**Key words:** acute salpingoophoritis; humoral immunity; informativeness of indices; diagnostic

**For citation:** Agarkov N.M., Agarkova V.N., Aksyonov V.V., Kicha D.I., Shul'ga L.V., Budnik I.V., Afanasova E.P. The rationalization of laboratory diagnostic of acute salpingoophoritis according informative parameters of humoral immunity. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (11): 690-693. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-690-693>

**For correspondence:** Agarkov N.M., doctor of medical sciences, professor of the chair of biomedical engineering of the Federal state budget educational institution of higher education "The South-Western state university. e-mail: vitalaxen@mail.ru

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 01.06.2017  
Accepted 15.06.2017

**Для корреспонденции:** Агарков Николай Михайлович, д-р мед. наук, проф. каф. биомедицинской инженерии Юго-Западного государственного университета; e-mail: vitalaxen@mail.ru

**Введение.** Значение проблемы воспалительных заболеваний женских половых органов, в том числе острого (ОС) и хронического сальпингоофорита (ХС), в современ-

Таблица 1

**Показатели гуморального звена иммунитета в плазме крови больных ОС ( $M \pm m$ )**

Наименование показателя, единица измерения	Пациентки с ОС	Контроль	Репрезентативность различий, $p$
CD20+, • 10 <sup>9</sup> /л	0,08 ± 0,01	0,2 ± 0,01	< 0,001
CD20+, %	5,9 ± 0,12	8,4 ± 0,20	< 0,001
IgA, г/л	4,1 ± 0,11	1,8 ± 0,13	< 0,001
IgG, г/л	23,4 ± 0,17	10,9 ± 0,18	< 0,001
IgM, г/л	3,5 ± 0,12	1,2 ± 0,15	< 0,001
Циркулирующие иммунные комплексы, у.е.	84,2 ± 1,27	63,5 ± 1,48	< 0,001

Примечание.  $p$  — дано в соответствии с контролем.

ных условиях определяется прогрессирующей частотой, возможностью передачи инфекции плоду и тенденцией к «омоложению» [1—5]. По данным литературы, воспалительные заболевания женской половой системы, включая ОС, в структуре гинекологической патологии занимают первое место и составляют около 60—65% [6].

Высокая заболеваемость ОС среди девушек-подростков регистрируется в Российской Федерации [7]. При этом частота сальпингита и оофорита у девушек-подростков значительно повысилась — с 2119,3 случаев в 1999 г. до 2493 случаев на 100 000 девушек соответствующего возраста в 2008 г. и свидетельствует о негативных тенденциях в гинекологической заболеваемости рассматриваемого контингента [8].

ОС сопровождается выраженными нарушениями в иммунной системе, степень которых зависит от исходной функциональной активности иммунокомпетентных клеток, продукции ими тех или иных иммуноглобулинов [9]. В связи с этим актуальным является изучение гуморального иммунитета у больных ОС для обоснования его диагностики.

Цель работы — рационализация лабораторной диагностики ОС по информативным параметрам гуморального иммунитета.

**Материал и методы.** В рамках данной работы сформировано 2 клинические группы. Основная группа представлена 65 пациентками с ОС. Контрольную группу составили 32 здоровые женщины без ОС. Сравнимые группы сопоставимы по возрасту ( $28,5 \pm 2,8$  лет и  $27,2 \pm 2,1$  года соответственно). Всем пациенткам, включенным в исследование, проводились клиническое, гинекологическое и лабораторное обследования.

Содержание иммуноглобулинов в плазме крови определяли методом радиальной иммунодиффузии посредством набора ООО НЦП «Медицинская иммунология» (Москва). Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом.

В дальнейшем полученные результаты подвергались статистической обработке с определением среднеарифметических значений, их ошибок, информативности параметров. Информативность Кульбака рассчитывалась по методике В.М. Гублера [10]. Достоверность различий в сравниваемых группах больных производилась по критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** При диагностике ОС выявлены репрезентативные изменения в гуморальном имму-

нитете на системном уровне (табл. 1). Обращает внимание неодинаковая направленность изменений составляющих гуморального иммунитета. Так, абсолютное и относительное содержание в крови представителей популяции CD20+ достоверно снизилось. Уровень всех иммуноглобулинов оказался повышенным в основной группе. Аналогичное присуще и уровню циркулирующих иммунных комплексов, количество которых вследствие заболевания достоверно возросло в сравнении со здоровыми женщинами.

Изучение местного иммунитета у пациенток с ОС показало нарушение его функционирования за счёт увеличения почти в 2,5 раза IgG (до 1765 мкг/мл), а также IgM (до 22,5 мкг/мл), уменьшение или отсутствие sIgA, увеличение лизоцима (до  $11,3 \pm 6,6$  ЕД/мл) [9].

На системном уровне изменения иммунной системы у женщин в период обострения ХС лёгкой степени тяжести наблюдались в виде увеличения показателей функционально-метаболической активности нейтрофилов, концентрации компонентов C<sub>3</sub> и C<sub>4</sub> системы комплемента, IgG, а также фактора некроза опухоли-α и интерлейкина-1β [11]. При средней и тяжёлой степени ХС в период обострения наблюдались стойкие нарушения со стороны иммунной системы как на системном, так и локальном уровнях, сохранявшиеся в 100% случаев после лечения и в период ремиссии.

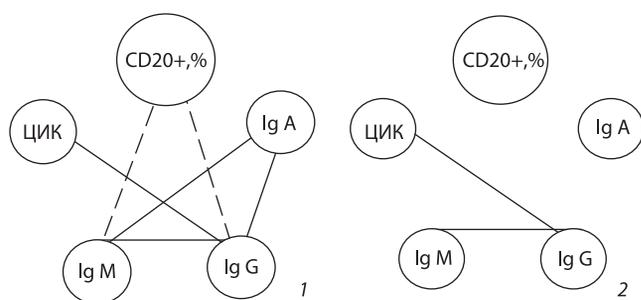
При развитии ХС в плазме крови снижается концентрация IgM и возрастает уровень IgA и IgG. Одновременно происходит снижение содержания противовоспалительных цитокинов — ИЛ-4 и ИЛ-10, повышение циркулирующих иммунных комплексов [9]. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови больных ХС по сравнению с контрольной группой изменяется различным образом и отличается от рассмотренных выше результатов [12]. Так, достоверно снижается уровень IgG, а уровень иммуноглобулинов А и М достоверно не изменяется. Изменений в содержании циркулирующих иммунных комплексов не выявлено [12]. У больных ХС, вызванным уреаплазменной, хламидийной инфекцией, в отношении IgG, IgA и sIgA получены однотипные изменения, сопровождающиеся более существенным снижением данных показателей, чем в группе больных ХС, вызванным неспецифической микрофлорой [13]. Всё это указывает на важное диагностическое исследование показателей гуморального звена иммунной системы как при ОС, так и ХС [14].

Указанные выше сдвиги в состоянии гуморального звена иммунитета при ОС приводят к перестройке корреляционных взаимоотношений (см. рисунок). В случае патологического процесса при ОС между всеми представителями

Таблица 2

**Мера информативности и распространенности изменений гуморального звена иммунитета у больных ОС**

Наименование показателя, единица измерения	Распространенность отклонений		Информативность
	основная группа	контроль	
CD20+ ниже 0,1 • 10 <sup>9</sup> /л	38,7 ± 4,23	2,1 ± 1,32	231,6
CD20+ ниже 6%	36,4 ± 4,18	1,8 ± 1,23	225,9
IgA выше 4 г/л	21,7 ± 3,58	0,7 ± 0,77	156,6
IgG более 17 г/л	54,9 ± 4,33	0,6 ± 0,71	532,5
IgM выше 2 г/л	47,3 ± 4,34	0,8 ± 0,82	407,5
Циркулирующие иммунные комплексы более 70 у.е.	45,8 ± 4,33	0,7 ± 0,77	409,5



Корреляционные взаимоотношения параметров гуморального иммунитета периферической крови у больных острым сальпингоофоритом (1) и здоровых женщин (2).

Сплошная линия — прямая достоверная связь, пунктирная линия — обратная достоверная связь.

иммуноглобулинов возникают прямые достоверные связи. Положительная корреляционная связь формируется и между уровнем IgG и циркулирующих иммунных комплексов. Обратные соотношения выявлены для процентного содержания в крови В-лимфоцитов и IgA, IgG, IgM. В контрольной группе имеются две достоверные прямые связи — между IgG и IgM, IgG и циркулирующими иммунными комплексами. Общее количество корреляционных связей в основной группе составило 7, а у здоровых женщин — 2 связи. Следовательно, ОС сопровождается усилением внутрисистемных ассоциаций параметров гуморального иммунитета на системном уровне.

У пациенток с ОС в вагинально-цервикальном секрете снижается концентрация интерлейкина-10, 18 и повышается уровень интерлейкина-1 $\beta$ , интерлейкина-2, 6, 8 [13]. Использование кластерного анализа позволило выявить, что в остром периоде имеет место сгруппированность показателей иммунного статуса по 4 кластерам, а в условиях обострения ХС таких кластеров 7.

У больных ОС высокая встречаемость отклонений в содержании в периферической крови IgG более 17 г/л, IgM выше 2 г/л и циркулирующих иммунных комплексов более 70 у.е. (табл. 2). Значительными являются также изменения в абсолютном и относительном содержании В-лимфоцитов ниже  $0,1 \cdot 10^9$ /л и ниже 6%. В группе показателей гуморального иммунитета системного уровня максимальная информативность установлена для IgG с содержанием более 17 г/л. К высокоинформативным параметрам гуморального звена иммунитета при ОС следует отнести уровень IgM выше 2 г/л и циркулирующих иммунных комплексов более 70 у.е.

В группе параметров местного гуморального иммунитета у больных ОС высокой информативностью обладают IgG (628,7), sIgA (541,3) и IgA (115,6). Минимальный показатель информативности свойственен концентрации IgM в вагинально-цервикальной слизи (21,7) [15].

**Заключение.** Проведенное исследование показало, что при ОС наиболее существенно повышается в плазме крови содержание IgA, IgG и циркулирующих иммунных комплексов. Данные показатели гуморального иммунитета обладают также высокой информативностью, что позволяет их рекомендовать для лабораторной диагностики ОС. Ведущее диагностическое значение IgA и IgG для ОС подтверждается и наличием наибольшего числа корреляционных связей на внутрисистемном уровне. Другие параметры гуморального иммунитета следует считать второстепенными для диагностики ОС.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Прилепская В.В., Кисина В.К., Соколовский Е.В. К вопросу о роли микоплазм в урогенитальной патологии. *Гинекология*. 2007; 9(1): 38—41.
2. Протопопова Н.В., Маранян А.Ю., Дружинина Е.Б. Особенности течения беременности и исхода родов при уреоплазменной инфекции. *Материалы 7 Российского форума «Мать и дитя»*. М.; 2005.
3. Эллиниди А.Н., Костючек Д.Ф., Дрышна Л.Б. Иммуноморфологическое исследование эндометрия при хроническом хламидийном сальпингоофорите. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2011; (1): 83—8.
4. Magnin G. Acute salpingitis. *Rev. Prat.* 2002; 52(16): 1763—7.
5. Schreuder H.W., van Dongen K.W., Roeleveld S.J., Schijven M.P., Broeders I.A. Face and construct validity of virtual reality simulation of laparoscopic gynecologic surgery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009; (200): 540—8.
6. Яглов В.В. Воспалительные заболевания органов малого таза. *Гинекология*. 2006; 8(4): 47—51.
7. Довганенко Р.С. Региональные особенности репродуктивного здоровья девушек-подростков Приморья. *Акушерство и гинекология*. 2008; (1): 53—6.
8. Орлова В.С., Калашникова И.В., Мощная О.В. Эпидемиология нарушений менструальной функции девушек-подростков на популяционном уровне на примере Белгородской области. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2009; (3): 67—74.
9. Авершина О.В., Конопля А.А., Лазарев А.И. Фармакологическая коррекция производными нуклеиновых кислот иммунных и оксидантных нарушений у больных хроническим сальпингоофоритом. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2008; (2): 62—8.
10. Гублер Е.В. *Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов*. Л.: Наука; 1993.
11. Евсеев А.А., Богинская Л.Н., Протопова Л.О. Затонских Л.В. Краснова И.А. Современные принципы диагностики и лечения острых воспалительных заболеваний придатков матки. *Акушерство и гинекология*. 2003; (2): 32—8.
12. Щетинина Ю.С., Константинова О.Д., Котова Л.И., Паршина А.А. Влияние природных факторов на гормональный статус женщин с хроническим сальпингоофоритом. *Оренбургский медицинский вестник*. 2015; 1(9): 29—34.
13. Конопля А.А., Демиденко В.А., Ликов В.Ф., Караулов А.В. Иммуноотерапия больных сальпингоофоритом в послеоперационном периоде. *Иммунология*. 2008; 29(5): 302—5.
14. Peltier M.R., Freeman A.J., Mu H.H., Cole B.C. Characterization of the macrophage-stimulating activity from Ureaplasma urealyticum. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007; (3): 186—92.
15. Агарков Н.М., Будник И.В. Информативность клинических симптомов, иммунологических, гематологических показателей и проявлений эндогенной интоксикации при остром неспецифическом сальпингоофорите. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2012; (4): 11—5.

#### REFERENCES

1. Prilepskaya V.V., Kisina V.K., Sokolovskiy E.V. To the question about the role of mycoplasmas in urogenital pathology. *Ginekologiya*. 2007; 9(1): 38—41. (in Russian)
2. Protopopova N.V., Maranyan A.Yu., Druzhinina E.B. features of the course of pregnancy and outcome of delivery in the case of Ureaplasma infection. *Materialy 7 Rossiiskogo foruma «Mat' i ditja»*. Moscow; 2005. (in Russian)
3. Jellinidi A.N., Kostyuchek D.F., Dryshna L.B. Immunomorphological study of endo-metry in chronic salpingoophoritis chlamidiya. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2011; (1): 83—8. (in Russian)
4. Magnin G. Acute salpingitis. *Rev. Prat.* 2002; 52(16): 1763—7.
5. Schreuder H.W., van Dongen K.W., Roeleveld S.J., Schijven M.P., Broeders I.A. Face and construct validity of virtual reality simulation of laparoscopic gynecologic surgery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009; (200): 540—8.

6. Yaglov V.V. Inflammatory diseases of the pelvic organs. *Ginekologiya*. 2006; 8(4): 47—51. (in Russian)
7. Dovganenko R.S. Regional features of reproductive health of adolescent girls Primorye. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2008; (1): 53—6. (in Russian)
8. Orlova V.S., Kalashnikova I.V., Motcnaya O.V. Epidemiology of menstrual dysfunction in adolescent girls at the population level, for example, the Belgorod region. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2009; (3): 67—74. (in Russian)
9. Avershina O.V., Konoplya A.A., Lazarev A.I. Pharmacological correction of derivatives of nucleic acids the immune and oxidant disorders in patients with chronic salpingoophoritis. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorovye»*. 2008; (2): 62—8. (in Russian)
10. Gubler E.V. *Computational methods of analysis and recognition of pathological processes*. Leningrad: Nauka; 1993. (in Russian)
11. Evseev A.A., Boginskaya L.N., Protopova L.O., Zatonskikh L.V., Krasnova I.A. Modern principles of diagnostics and treatment of acute inflammatory diseases of uterine appendages. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2003; (2): 32—8. (in Russian)
12. Schetinina Yu.S., Konstantinova O.D., Kotova L.I., Parshina A.A. Influence of natural factors on the hormonal status of women with chronic salpingoophoritis. *Orenburgskiy medicinskiy vestnik*. 2015; 1(9): 29—34. (in Russian)
13. Konoplya A.A., Demidenko V.A., Likov V.F., Karaulov A.V. Immunotherapy of patients with salpingoophoritis in the postoperative period. *Immunologiya*. 2008; 29(5): 302—5. (in Russian)
14. Peltier M.R., Freeman A.J., Mu H.H., Cole B.C. Characterization of the macrophage-stimulating activity from *Ureaplasma urealyticum*. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007; (3): 186—92.
15. Agarkov N.M., Budnik I.V. Informative value of clinical symptoms, immunological, hematological parameters and manifestations of endogenous intoxication in acute nonspecific salpingoophoritis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2012; (4): 11—5. (in Russian)

Поступила 01.06.17  
Принята к печати 15.06.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.248-06:616-002.828]-078.33-074

Ахунов В.М.<sup>1,2</sup>, Сизова Ж.М.<sup>1</sup>, Ахунова А. М.<sup>2</sup>, Лаврентьева Т. П.<sup>3</sup>, Айзина Н. Л.<sup>3</sup>

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ ПРИ ПЕЦИЛОМИКОЗЕ

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра медико-социальной экспертизы и поликлинической терапии Института профессионального образования, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.С. Юдина» Департамента здравоохранения г. Москвы, 115487, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Диагностический центр (Центр лабораторных исследований)» Департамента здравоохранения г. Москвы, 115580, Москва, Россия

*Актуальность проблемы обусловлена выявлением инфицированности крови пациентов грибами рода *Raecilotomus* в виде носительства или активации пециломикозной инфекции (ПИ) с клинической манифестацией аллергических заболеваний и бронхиальной астмы (БА).*

*Цель работы — изучить клинические и иммунологические особенности БА при пециломикозе, разработать новые подходы к ее лабораторной диагностике в условиях первичного звена здравоохранения. Проведено комплексное обследование пациентов, которое включает сбор аллергологического анамнеза, физикальный осмотр, проведение лабораторных, цитологических, иммунологических и микробиологических исследований. Диагноз пециломикоза ставили на основании экспресс-диагностики пециломикоза путём прямого подсчёта зрелых сферул и дрожжеподобных клеток гриба рода *Raecilotomus* в образце крови, выявления в сыворотке крови больных специфических IgE- и IgG-антител к аллергену гриба *Raecilotomus spp.* и культурального исследования. Изучены клинико-иммунологические характеристики атопической и эндогенной (неатопической) форм БА у 143 пациентов. У 120(83,9%) из них выявлена активация ПИ: содержание зрелых сферул гриба рода *Raecilotomus* в крови колебалось от 8000 до 55 000 (в среднем  $17\ 500 \pm 755$ ) в 1 мкл при норме 1000—6000 (в среднем  $3417 \pm 433$ ) в 1 мкл; выявлены специфические IgE- и IgG-антитела к аллергену гриба *Raecilotomus spp.* (57 и 81% соответственно). Развитие БА индуцировано активацией ПИ в крови: на фоне острой респираторной вирусной инфекции у 74(62%) пациентов, сезонных и возрастных колебаний иммунного статуса у 34(28%) пациентов, под влиянием стрессового воздействия у 12(10%) пациентов. Иммунный ответ на инфекцию грибом рода *Raecilotomus* опосредован механизмами неспецифической резистентности и специфического иммунитета. К санации крови от грибных клеток нефагоцитируемых размеров с помощью антител-посредников специфических IgE- и IgG-антител к аллергену гриба *Raecilotomus* в качестве эффекторных клеток в реакции антителозависимой опосредованной клетками цитотоксичности привлечены эозинофилы и естественные киллеры (NK). Выявлен фагоцитоз мелких грибных форм - эндоспор моноцитами, нейтрофилами, эозинофилами и цитоллиз грибных клеток эритроцитами. Полученные данные позволяют дифференцировать носительство или активацию ПИ в крови у пациентов с БА, выделять лиц с атопическим или неатопическим профилем иммунного реагирования, определяющим специфику их иммунной защиты от возбудителя грибной инфекции и клиническую картину заболевания. Предложен алгоритм диагностики БА пециломикозной этиологии в условиях первичного звена здравоохранения.*

**Ключевые слова:** бронхиальная астма; диагностика; грибы рода *Raecilotomus*; пециломикоз; иммунитет.

**Для цитирования:** Ахунов В.М., Сизова Ж.М., Ахунова А.М., Лаврентьева Т.П., Айзина Н.Л. Клинико-иммунологическая характеристика и лабораторная диагностика бронхиальной астмы при пециломикозе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (11): 693-698. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-693-698>

**Для корреспонденции:** Ахунов Василий Михайлович, канд. мед. наук, ассистент каф. медико-социальной экспертизы и поликлинической терапии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет); e-mail: [vaahunov@mosmedzdrav.ru](mailto:vaahunov@mosmedzdrav.ru)

Akhunov V.M.<sup>1, 2</sup>, Sizova ZH.M.<sup>1</sup>, Akhunova A.M.<sup>2</sup>, Lavrenteva T.P.<sup>3</sup>, Aizina N.L.<sup>3</sup>

THE CLINICAL IMMUNOLOGIC CHARACTERISTIC AND LABORATORY DIAGNOSTIC OF BRONCHIAL ASTHMA UNDER PECILOMYCOSIS

<sup>1</sup>The Federal state autonomous educational institution of higher education "The I.M. Sechenov first Moscow state medical university" of Minzdrav of Russia, 119992 Moscow, Russia

<sup>2</sup>The state budget institution of health care "The S.S. Yudin municipal clinical hospital" of the Moscow health department, 115580 Moscow, Russia

<sup>3</sup>The state budget institution of health care "The diagnostic center (The laboratory analysis center)" of the Moscow health department, 115580 Moscow, Russia

*The actuality of the problem is conditioned by detection of infection of patients' blood with fungi genus paecilomyces in the form of carriage or activation of pecilomycosis infection with clinical manifestation of allergic diseases and bronchial asthma. The purpose of study is to analyze clinical and immunologic characteristics of bronchial asthma under pecilomycosis and to develop new approaches to its laboratory diagnostic in conditions of the primary health care unit. The complex examination of patients that included collection of allergy anamnesis, physical examination, application of laboratory, cytology, immunology and microbiology analysis was carried out. The diagnosis of pecilomycosis was established at the basis of express-diagnostic using direct count of mature spherules and yeast-like cells of fungi genus Paecilomyces in blood sample, detection of specific IgE- and IgG antibodies to allergen of fungus Paecilomyces spp. in blood of patients and cultural analysis. The clinical immunological characteristics of atopic and endogenous (non-atopic) forms of bronchial asthma in 143 patients were examined. The activation of pecilomycosis was established in 120 (83.9%) patients: the content of mature spherules of fungus genus Paecilomyces in blood varied from 8 000 to 55 000 (in average 17 500±755) in 1 mkl at the standard 1000-6000 (in average 3417±433) in 1 mkl. The specific IgE- and IgG antibodies to allergen of fungus Paecilomyces spp. were detected (57% and 81% correspondingly). The development of bronchial asthma is induced by activation of pecilomycosis in blood: it occurred against the background of acute respiratory viral infection in 74 patients (62%), seasonal and age fluctuations of immune status in 34 patients (28%), under stress impact in 12 patients (10%). The immune response to infection with fungus genus Paecilomyces is conditioned by mechanisms of non-specific resistance and specific immunity. The eosinophils and natural killers are involved into sanation of blood from fungal cells of non-phagocytizing sizes using antibodies-mediators of specific IgE and IgG antibodies to allergen of fungus Paecilomyces as effector cells in reaction of antibody-dependent and cell mediated cytotoxicity. The phagocytosis of small fungal forms was detected: endospores by monocytes, neutrophils, eosinophils and cytolysis of fungal cells by erythrocytes. The obtained data permits to differentiate carriage or activation of pecilomycosis in blood of patients with bronchial asthma, to mark out individuals with atopic or non-atopic profile of immune reaction determining specificity of their immune defense from agent of fungal infection and clinical picture of disease. The algorithm is proposed concerning diagnostic of bronchial asthma of pecilomycosis etiology in conditions of primary health care unit.*

**Key words:** bronchial asthma; diagnostic; fungus Paecilomyces; pecilomycosis; immunity

**For citation:** Akhunov V.M., Sizova ZH.M., Akhunova A.M., Lavrenteva T.P., Aizina N.L. The clinical immunologic characteristic and laboratory diagnostic of bronchial asthma under pecilomycosis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (11): 693-698. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-693-698>

**For correspondence:** Akhunov V.M., candidate of medical sciences, assistant of the chair of medical social expertise and poly-clinic therapy of the Federal state autonomous educational institution of higher education "The I.M. Sechenov first Moscow state medical university". e-mail: [vaahunov@mosmedzdrav.ru](mailto:vaahunov@mosmedzdrav.ru)

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

**Acknowledgment.** The authors are grateful to Vladimir Steblitsky, the photographer, for his top professionalism making possible to reflect pathomorphological alterations in blood and tissues of the organs with pecilomycosis.

Received 21.06.2017

Accepted 02.07.2017

**Введение.** Бронхиальная астма (БА) — хроническое заболевание дыхательных путей. Одним из основных патогенетических механизмов ее развития является специфический воспалительный процесс в бронхиальной стенке, инициирующий повышенную реактивность гладкой мускулатуры бронхов и ее обструкцию в ответ на воздействие различных факторов риска — триггеров [1]. В соответствии с результатами клинического и аллерго-иммунологического исследования принято выделять атопическую и эндогенную (неатопическую) формы БА. Несмотря на то, что эндогенная форма БА имеет разный с атопией клинический профиль, четких иммунопатологических различий между ними до настоящего времени не выявлено. В биоптатах тканей бронхов больных эндогенной формой БА обнаружен такой же профиль вырабатываемых Th<sub>2</sub> — хелперами цитокинов и клеток воспаления, как и при атопической форме БА [2]. В клеточном составе воспаления дыхательных путей при БА в слизистой оболочке и просвете бронхов преобладают активированные лимфоциты и эозинофи-

лы. Предполагается, что в основе патогенеза эндогенной формы БА лежат аутоиммунные или аутоаллергические механизмы, триггерами которых являются инфекции. Перспективы в диагностике и лечении БА связывают с открытием новых фактов, раскрывающих патогенез заболевания.

Гриб рода *Paecilomyces* вида *Paecilomyces variotii* Bainier (1907), известный как частый загрязнитель воздуха жилых помещений и пищевых продуктов, в настоящее время признан одним из новых возбудителей оппортунистического микоза у лиц с дисфункцией иммунной системы; на основании филогенетического анализа идентифицирован как анаморфа (бесполое состояние) *Byssoschlamys spectabilis*.

Сопоставление результатов молекулярного и морфологического анализа 26 клинических изолятов, которые ранее на основании морфологических признаков были идентифицированы как *P. variotii*, выявили среди них три разных вида: *P. variotii* (14 штаммов), *P. formosus* (11 штаммов) и *P. dactylethromorphus* (1 штамм). Разновидность *P. variotii*

*Bainnier* (1907) var. *zaaminella*, выделенная от пациентов — жителей Узбекистана, на основании филогенетического анализа идентифицирована как *P. formosus* [3].

Клинические проявления пециломикоза полиморфны. Описаны поражения ногтей, кожи, синусит, эндофтальмит, септический эндокардит [4, 5], сепсис, пневмония, анемия, инфекционно-аллергический бронхоальвеолит, БА [6—9].

*Грибы рода Paecilomyces* — возбудители врожденной, хронической, персистирующей инфекции крови, обладают диморфизмом и условно-патогенными свойствами. Резервуаром пециломикозной инфекции (ПИ) в природе является почва, а в организме человека — кровь. Основной путь передачи ПИ — трансплацентарный [10, 11]. По данным обращаемости в аллергологический кабинет городской поликлиники Москвы выявлена инфицированность крови грибами рода *Paecilomyces* в виде носительства или активации пециломикозной инфекции с клинической манифестацией аллергических заболеваний и/или БА [12].

Цель работы — выявить клинические и иммунологические особенности БА при пециломикозе, предложить новые подходы к ее лабораторной диагностике, доступные в условиях первичного звена здравоохранения.

**Материал и методы.** Обследованы 143 пациента с БА (59(41%) мужчин и 84(59%) женщины), которые находились на диспансерном наблюдении и лечении в аллергологическом кабинете городской поликлиники Москвы. Наибольшее число больных в возрасте от 41 года до 70 лет — 88(65%), среди которых преобладали женщины старшей возрастной группы (69%). Анамнестическая длительность заболевания, оцененная с момента постановки диагноза, варьировала от 7 дней до 5 лет. Диагноз и степень тяжести БА устанавливали в соответствии с критериями GINA.

Комплексное обследование пациентов включало: сбор аллергологического анамнеза, физикальный осмотр, клинико-лабораторные, иммунологические, биохимические, микробиологические и функциональные методы исследования. Диагноз пециломикоза устанавливали методом экспресс-диагностики пециломикоза [13], серологическим и культуральным исследованиями. Для определения общего IgE и специфических IgE-антител к аллергенам окружающей среды и грибу *Paecilomyces spp.*, общего IgG и специфических IgG-антител к аллергену гриба *Paecilomyces spp.* использовались наборы для диагностики аллергических заболеваний и установления спектра причинно-значимых аллергенов фирмы Dr. Fooke laboratorien GmbH, Германия.

У 18 пациентов БА с активацией ПИ в крови изучен в динамике цитологический состав мокроты. Образцы мокроты наносили на предметные стекла, фиксировали в спирто-формалиновой смеси и окрашивали гематоксилином и эозином. Исследования цитологического состава мокроты осуществляли в момент взятия мокроты и через 24 ч после инкубации её в питательной среде 199 (4,5 мл) с гепарином (500 ЕД) при температуре 37 и 25°C.

**Результаты и обсуждение.** По данным обращаемости в аллергологический кабинет городской поликлиники установлена поголовная инфицированность больных БА грибом рода *Paecilomyces*. В соответствии с результатами аллергологического анамнеза, данных физикального осмотра, экспресс-диагностики пециломикоза, лабораторных и аллерго-диагностических исследований пациентов с БА разделили на 2 группы. 1-ю группу со-

ставили 23(16%) пациента БА с атопией, в образцах крови которых были обнаружены тканевые формы гриба рода *Paecilomyces* без признаков активации пециломикозной инфекции (табл. 1). Среди них 14(61%) мужчин и 9(39%) женщин в возрасте от 16 до 29 лет (средний возраст  $24,5 \pm 4,2$  года). Длительность БА, по данным анамнеза, в этой группе варьировала от 1 года до 5 лет (в среднем  $3,0 \pm 1,9$  года). У всех пациентов данной группы в сыворотке крови выявлены повышенное содержание общего IgE и специфические IgE-антитела к аллергенам окружающей среды. По данным аллергологического анамнеза, 11(47,8%) пациентов имели наследственную предрасположенность к аллергическим заболеваниям.

На повышенную чувствительность к домашней пыли, проявлявшуюся заложенностью носа, чиханием, зудом глаз, слезотечением и приступами удушья, указали 13% больных. Контакт с домашними животными (кошка, собака, хомяк и др.) провоцировал развитие симптомов аллергии и астмы у 17,4% больных. 35% пациентов указали на сезонные проявления ринита, конъюнктивита, приступов удушья, связанных с цветением деревьев и трав. У 34,6% больных отмечена повышенная чувствительность одновременно к разным группам аллергенов окружающей среды. Кроме того, у отдельных пациентов имелись указания на высыпания и зуд кожи при употреблении в пищу орехов, яиц, коровьего молока. У пациентов с аллергией на пыльцу березы — яблок, моркови, черешни. Имелись также указания на медикаментозную непереносимость к витаминам группы В. Количественное содержание зрелых сферул и дрожжеподобных клеток гриба рода *Paecilomyces* в крови больных данной группы колебалось от 1000 до 6000 (в среднем  $3608 \pm 328$ ) в 1 мкл и было сопоставимо с показателями контрольной группы ( $p > 0,05$ ), что позволило отнести их к группе носителей (см. табл. 1).

Во 2-ю группу включены 120(84%) больных БА с признаками активации ПИ в крови, средний возраст их составил  $51 \pm 7$  лет. У 74(61,1%) пациентов этой группы приступы удушья впервые возникли на 2—3-й неделе от начала ОРВИ. Острые симптомы респираторной инфекции в виде повышения температуры тела до 38—40°C в течение 1—3 дней, озноба, недомогания, затрудненного носового дыхания и выделения водянистого секрета из носовых ходов, сменялись редким сухим кашлем, который на 7—10 день от начала развития становился приступообразным и сопровождался аускультативной картиной удлиненного выдоха и сухими свистящими хрипами по всей поверхности легких. Приступы удушья возникали ежедневно, преимущественно в ночное время или ранним утром, характеризовались затяжным течением. У 34(28%) пациентов старшей возрастной группы, с активацией ПИ в крови, приступы удушья развились впервые и в последующем обострялись в периоды сезонных колебаний иммунной системы (ранней весной и поздней осенью). У 12(10%) пациентов, с активацией ПИ в крови, БА развилась на фоне стрессового воздействия.

Наследственная предрасположенность к развитию аллергических заболеваний была отмечена у 18(15%) пациентов второй группы. 15(12,5%) пациентов указали на медикаментозную непереносимость антибиотиков пенициллинового ряда и аспирина. У 5(7%) пациентов приём амоксициллина инициировал развитие системной реакции в виде генерализованной сыпи и приступов удушья. На повышенную чувствительность к пыли заплесневелого дерева и старых бумаг, проявлявшуюся зудом кожи, заложенностью носа, чиханием, зудом глаз,

слезотечением и приступами удушья, указали 35(29%) пациентов. Пищевой аллергией страдали 10% пациентов. Среди пищевых аллергенов преобладали продукты красного цвета, в том числе, красная рыба.

Анамнестическая давность заболевания составила от 7 дней до 12 нед, в среднем  $4,1 \pm 1,2$  нед. Среднее содержание зрелых сферул гриба рода *Paecilomyces* в крови составило в целом по группе  $17\,500 \pm 755$  в 1 мкл. Посев крови на питательные среды у 42(35%) больных выявил рост грибов рода *Paecilomyces*. У 49(40%) больных БА с активацией ПИ отмечалось лёгкое персистирующее течение, у 71(59%) — средней тяжести. Количественное содержание зрелых сферул гриба рода *Paecilomyces* в крови у больных с лёгкой степенью БА колебалось от 8000 до 17 000 (в среднем  $14\,020 \pm 416$ ) в 1 мкл крови при норме 1000—6000 (в среднем  $3417 \pm 433$ ) ( $p < 0,001$ ). В гемограммах пациентов выявлены эозинофилия от 5 до 8% и/или лимфоцитоз.

Клинические симптомы заболевания у больных со средней тяжестью БА пециломикозной этиологии изучены у 71(59%) пациента — у 28(39%) мужчин и у 43(61%) женщин. Количественное содержание зрелых сферул гриба рода *Paecilomyces* в 1 мкл крови у больных БА средней тяжести определялось от 17 000—23 000 и выше. В гемограммах пациентов выявлялось увеличение количественного содержания базофилов, лимфоцитоз и моноцитоз (см. табл. 1). Из 120 больных БА с активацией ПИ у 67(55%) уровень общего IgE колебался в пределах нормальных значений или был сниженным. Специфические IgE-антитела к аллергенам окружающей среды выявлены в сыворотке крови 10(14%) больных. У 7(8%) пациентов отмечена гиперпродукция IgE без связи с атопией, у 46(38%) больных БА с активацией ПИ зафиксированы повышенный уровень общего IgE и специфические IgE-антитела к аллергенам разных групп окружающей среды. Аллергические проявления и/или приступы удушья у пациентов этой группы наблюдались с детских лет и случались эпизодически при контакте с аллергеном.

Характер и тяжесть течения БА изменились на 2—3-й неделе от начала ОРВИ или гриппа: приступы удушья участились, возникали преимущественно в ночное время или ранним утром и имели склонность к затяжному течению. В гемограммах данных больных выявлялась эозинофилия, базофилия, лимфоцитоз и моноцитоз (см. табл. 1). Для всей группы пациентов с активацией ПИ в крови характерно развитие респираторных симптомов с сопутствующей патологией других органов и признаками инфекции и общей интоксикации в виде общей слабости, недомогания, потливости. У 60% пациентов этой группы выявлены сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы, у 15% — артралгия, у 9% — полинейропатия. У 32(26%) больных на фоне активации ПИ наблюдались кожные проявления в виде локализованного или распространённого поражения. Отмечены: эритема, мелкоузелковая сыпь, местами сливного характера, уртикарные высыпания с отёком типа Квинке, буллёзные поражения под твёрдой покрывкой и псориазические бляшки. Как правило, появление кожных высыпаний предшествовало развитию приступов удушья.

Среди 26 больных с атопическим профилем БА и активацией пециломикозной инфекции в крови специфические IgE-антитела к аллергену гриба *Paecilomyces spp.* отмечались у 15(57%) больных, специфические IgG-

Таблица 1

**Клеточный состав периферической крови у больных БА с различным профилем иммунного реагирования при инфекции грибом рода *Paecilomyces***

Иммунологический профиль больных БА	Содержание зрелых сферул гриба рода <i>Paecilomyces</i> в 1 мкл крови	Клеточный состав периферической крови (%)
Атопический, без активации ПИ. Пецилоносители	$3608 \pm 328$	Э. $3,4 \pm 0,29$ Б.0 Лимф. $26,4 \pm 0,87$ Мон. $5,8 \pm 0,15$
Атопический, с активацией ПИ в крови. Пециломикоз	$17\,580 \pm 326^*$	Э. $14,4 \pm 0,58^*$ Б. $1,7 \pm 0,12^*$ Лимф. $39 \pm 1^*$ Мон. $8 \pm 0,3^*$
Неатопический, с активацией ПИ в крови. Пециломикоз	$17500 \pm 755^*$	Э. $5 \pm 0,48$ Б. $1,6 \pm 0,99^*$ Лимф. $40 \pm 0,99^*$ Мон. $11 \pm 0,5^*$

Примечание. \* — достоверные различия с показателями группы контроля.

антитела — у 21(80%) пациента, сочетание специфических IgE- и IgG-антител к аллергену гриба *Paecilomyces spp.* обнаружено у 14(53%) и только специфические IgG-антитела — у 7(26%) пациентов (табл. 2). У 4(15%) пациентов данной группы с острой фазой активации ПИ в крови наличия специфических IgE- и IgG-антител к грибу *Paecilomyces spp.* в сыворотках крови не выявлено. В группе из 20 больных (см. табл. 2), с неатопическим профилем БА и активацией ПИ в крови специфические IgE-антитела к грибу *Paecilomyces spp.* выявлены у 2(10%) пациентов, аллергенспецифические IgG-антитела — у 11(55%), их сочетание — у 1(5%) больного. У четырёх больных данной группы в острой фазой активации ПИ аллергенспецифические IgE- и IgG-антитела в сыворотках крови не обнаружены.

Преобладание содержания специфических IgG-антител в сыворотках крови пациентов БА обеих групп с различными клинико-иммунологическими характеристиками указывает на доминирующую роль IgG в процессе защиты от инфекции грибом рода *Paecilomyces*. По данным литературных источников, развитие или обострение течения БА при пециломикозе наблюдалось у пациентов с пониженным уровнем IgG [14]. Низкий уровень IgG был также отмечен в сыворотках крови рожениц и их новорожденных детей с внутриутробной пневмонией, инициированной грибом рода *Paecilomyces* [10].

Таблица 2

**Сводные данные показателей специфических IgE- и IgG-антител к аллергену гриба *Paecilomyces spp.* в сыворотках больных БА при пециломикозе**

Показатели	Больные БА атопической формы с активацией ПИ (n = 26)	Больные БА неатопической формы с активацией ПИ (n = 20)
IgE+	15(57,69)	2(10)
IgG+	21(80,7)	11(55)
IgE+ IgG+	14(53,84)	1(5)
IgE-IgG-	4(15,3)	4(20)

Примечание. В скобках указан процент.

Таблица 3

**Сводные данные показателей результативности лабораторных исследований на выявление ПИ у больных БА**

Метод	Количество исследованных	Положительные результаты, %	Сроки получения результатов
Экспресс-диагностика пециломикоза	120	100	15 мин
Количественное определение специфических IgE-антител к аллергену гриба <i>Paecilomyces spp.</i>	46	57,69	24 ч
Количественное определение специфических IgG-антител к аллергену гриба <i>Paecilomyces spp.</i>	46	80,7	7 ч
Культуральное исследование	120	35	4—7 (до 30) дней

В процессе санации крови от возбудителя грибной инфекции принимают участие эозинофилы, базофилы, лимфоциты, моноциты и эритроциты. К деструкции клеток-мишеней нефагоцитируемых размеров с помощью специфических антител-посредников привлекаются эозинофилы и NK [15]. В наших наблюдениях, у пациентов с различными клиническими характеристиками атопической и неатопической форм БА, деструкцию грибных клеток осуществляют оба вида эффекторных клеток. Однако у лиц с атопическим профилем БА отмечено преобладание эозинофильного механизма защиты (рис. 1, а, см. обложку), при неатопической форме БА — лимфоцитарного (рис. 1, б, см. обложку). Выявление эндоспор, фиксированных к клеточной мембране эритроцитов, а также присутствие в цитоплазме эритроцитов грибных клеток или их цитоскелетов, указывает на участие эритроцитов в процессе санации крови от возбудителя ПИ. Возможно, путем цитолиза за счет неферментативного свободно-радикального окисления (рис. 1, в, г, см. обложку). Поскольку, количественное содержание грибных клеток при активации ПИ в крови может превышать содержание лейкоцитов, доминирующая роль в санации крови от возбудителя грибной инфекции, в рамках неспецифической защиты, по-видимому, осуществляется эритроцитами.

По данным аллерго-иммунологического анализа выраженность положительных реакций на аллергены окружающей среды у больных с атопией и активацией ПИ в крови колебалась на уровне 4—6 классов (+), а положительных реакций с аллергеном гриба *Paecilomyces spp.* — преимущественно на уровне 1—2 классов (+). Пониженная реакция немедленного типа по отношению к аллергену гриба рода *Paecilomyces*, по-видимому, была обусловлена генерализованным распространением патогена, что индуцировало активацию иммуносупрессорных регуляторных механизмов. Последовавшее подавление выработки специфических IgE-антител к аллергену гриба исключало возможность развития системных реакций анафилактического типа.

При цитологическом исследовании мокроты пациентов с неатопической формой БА и активацией ПИ в крови обнаружены сферулы и дрожжеподобные клетки гриба рода *Paecilomyces*, подвергнутые киллерному воздействию эозинофилами. Визуально они представляли собой неокрашенные клетки с зернистым содержимым,

на поверхности которых располагались эозинофилы (рис. 2, а, см. обложку). Аналогичная картина взаимодействия активированных эозинофилов и клеток тканевых форм гриба рода *Paecilomyces* наблюдалась в мокроте у больных с атопическим профилем БА и активацией ПИ в крови (рис. 2, б, см. обложку). Однотипность морфологического состава мокроты у пациентов с различными клинико-иммунологическими характеристиками БА может быть обусловлена их общей инфицированностью грибом рода *Paecilomyces* и присутствием в мокроте клеток гриба нефагоцитируемых размеров. Это индуцирует защитную реакцию, в которой эозинофилы и натуральные киллеры выступают в качестве эффекторных клеток, а тканевые формы гриба — клеток-мишеней. Исследование образцов мокроты, помещенных в среду 199 с гепарином, через 24 ч инкубации при температуре 37°C выявило тканевые формы грибов рода *Paecilomyces* (рис. 2, в, см. обложку). В образцах мокроты, инкубированных в среде 199 с гепарином при температуре 25°C, через 24 ч были обнаружены нити мицелия, внутри которых располагались споры (рис. 2, г, см. обложку). У 4(22%) пациентов, наряду с тканевыми формами грибов рода *Paecilomyces*, в мокроте обнаружено присутствие бактериальной флоры; это указывает на ведущую роль ПИ в патогенезе БА. Сопоставление результативности используемых методов диагностики БА при пециломикозе в условиях клинической лаборатории первичного звена здравоохранения показало наибольшую практическую значимость экспресс-диагностики пециломикоза и выявления специфических IgE- и IgG-антител к аллергену гриба *Paecilomyces spp.* (табл. 3). Обнаружение возбудителя и его количественный учет в сочетании со специфическим аллерго-иммунологическим исследованием ускоряет диагностику БА пециломикозной этиологии и, вместе с тем, служит обоснованием для проведения этиотропного лечения. По нашим наблюдениям, включение системных антимикотиков в комплексное лечение больных БА с активацией ПИ, восстанавливает иммунный контроль за численностью грибных клеток в крови с достижением длительной ремиссии заболевания или клинического выздоровления [13].

Длительное персистирование тканевых форм гриба рода *Paecilomyces* в крови человека без признаков инфекционного процесса может свидетельствовать о слабых патогенных свойствах грибов рода *Paecilomyces* и супрессии иммунного ответа хозяина. Имунитет при инфекции грибом рода *Paecilomyces* является не стерильным. Переход пецилоносительства в клинически выраженный пециломикоз инициируют различные факторы, подавляющие активность клеточного и гуморального иммунитета, тесная взаимосвязь которых определяет резистентность к инфекции грибом рода *Paecilomyces*. Развитие патологического процесса при неконтролируемом размножении грибных клеток может быть опосредована липидными медиаторами метаболитов гриба и механизмами повышенной чувствительности, индуцированной возросшим уровнем грибкового аллергена. Клинические проявления пециломикоза в форме БА могут быть опосредованы аллергической реакцией 1-го типа с участием аллерген-специфических IgE-антител к грибу рода *Paecilomyces*. Аллергенспецифические IgE-антитела при этом могут выполнять двоякую роль: а) вызывать дегрануляцию тучных клеток с выходом биологически активных веществ, в том числе гистамина, инициирующих развитие аллергических симптомов и приступов удушья, и б) обеспечить

фиксацию эозинофилов на капсулах грибных клеток для реализации АЗКЦТ. В развитии обструктивного синдрома принимает участие и гиперреактивность стенок бронхов, опосредованная специфическим иммунным воспалением в стенке бронха и перибронхиальной ткани с исходом в склероз, направленного на уничтожение грибных клеток и ограничение распространения их в лёгочную ткань. В процессе формирования гиперреактивности бронхиальных стенок могут также участвовать липидные медиаторы метаболитов паразитических форм гриба рода *Paecilomyces*, в частности, экзогенная грибная фосфолипаза А<sub>2</sub> [17]. Воздействие фосфолипазы А<sub>2</sub> на фосфолипиды клеточных мембран вызывает освобождение арахидоновой кислоты, продукты метаболизма которой действуют непосредственно на клетки-мишени, включая афферентные и эфферентные нервные окончания, которые способны усиливать спазм гладкой мускулатуры [18]. Отсутствие в образцах мокроты обследованных пациентов БА в 78% наблюдений другой микрофлоры свидетельствует о моноинфекции бронхиального дерева грибами рода *Paecilomyces* и их роли в этиологии развития БА. БА при пециломикозе характеризуют наличие внутренней инфекции грибом рода *Paecilomyces*, преобладание клинико-иммунологических признаков неатопического профиля и связь её возникновения с острой респираторной вирусной инфекцией, что позволяет отнести её к подразделению эндогенной формы БА.

Переход носительства в клинически выраженный пециломикоз с развитием БА пециломикозной этиологии может отягощать течение атопической формы БА, развитие которой предшествует активации ПИ у носителя. В патогенезе развития приступов удушья у данных пациентов участвуют экзоаллергены внешней среды и эндоаллергены грибов рода *Paecilomyces*, гиперреактивность бронхиальных стенок, обусловленная хроническим иммунным воспалением защитного типа и липидными медиаторами метаболитов грибов рода *Paecilomyces*.

Высокая результативность и практическая значимость метода экспресс-диагностики пециломикоза в сочетании со специфической диагностикой инфекции грибом рода *Paecilomyces* в условиях клинической лаборатории диктует необходимость их использования в повседневной работе аллергологов, пульмонологов и врачей общей практики.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность фотографу Владимиру Стеблицкому, высокий профессионализм которого позволил отобразить патоморфологические изменения в крови и тканях органов при пециломикозе.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1—5, 13, 16, 18 см. в REFERENCES)

- Дехкан Ходжаева Н.А., Шамсиев С.Ш., Шакирова Р.Ю., Макарова Г.И., Мингабаева Ш.Н. Роль *Paecilomyces* в этиологии тяжелых и рецидивирующих бронхолегочных заболеваний у детей. *Педиатрия*. 1982; (9): 12—4.
- Алимджанова Р.Ю. Клинические варианты в развитии грибкового заболевания, вызываемого грибом рода *Paecilomyces*. *Терапевтический архив*. 1993; 65(11): 53—5.
- Ахунова А.М., Шустова В.М. Пециломикоз. *Проблемы туберкулеза*. 1989; (8): 38—42.

- Ахунова А.М. Инфекционно-аллергический бронхолегочный пециломикоз. *Терапевтический архив*. 1991; 63(10): 19—24.
- Абдухалик-заде Г.А. Роль *Paecilomyces* в развитии внутриутробной пневмонии. Дисс. ... канд. мед. наук. Самарканд; 1997.
- Ахунова А.М., Абдухалик-заде Г.А., Абдусалымов А.А., Атакулов Б.М., Бекирова Т.Л., Хайдарова Г.М., Саидова С.М. Данные эпидемиологического обследования на пециломикоз рожениц и новорожденных Самаркандского региона. В кн.: *Успехи медицинской микологии*. Т. 10. Сергеев Ю.В., ред. М.: Национальная академия микологии; 2007.
- Ахунов В.М., Сизова Ж.М. Распространенность бронхиальной астмы пециломикозной этиологии и возможности фармакотерапии в амбулаторно-поликлинических условиях. *Биомедицина*. 2010; (3): 28—9.
- Ахунова А.М., Шустова В.И. Клиническая и иммунологическая характеристика пециломикоза. *Клиническая медицина*. 1991; (3): 64—7.
- Хайтов Р.М. *Иммунология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006.
- Юлаев М.Ф., Ахунова А.М. Некоторые свойства экзогенной фосфолипазы А<sub>2</sub>, продуцируемой мицелием гриба *Paecilomyces viridis*. *Вопросы медицинской химии*. 1999; 45(3): 223—6.

#### REFERENCES

- Global Strategy for Asthma Management and Prevention*.; 2007. <http://ginasathma.org/2016-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.
- Humbert M., Menz G., Ying S., Corrigan C.J., Robinson D.S., Durhan R.S. et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today*. 1999; 20: 528—33.
- Jos Houbraken, Paul E. Verweij, Antonius J.M. M. Rijs, Andrew M. Borman, R.A. Samson Identification of *Paecilomyces variotii* in Clinical Samples and Settings. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(8): 2754—61.
- Aguilar C., Pujol I., Sala J., Guarro J. Antifungal susceptibilities of *Paecilomyces* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42(7): 1601—4.
- Pastor F.J., Guarro J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12(10): 948—60.
- Dehkan-Khodjaeva N.A., Shamsiev S.S., Shakirova R.Y., Makarova G.I., Mingbaeva S.N. The role of *Paecilomyces* in the etiology of prolonged and recurrent bronchopulmonary diseases in children. *Pediatriya*. 1982; 60(9): 12—4. (in Russian)
- Alimdzhanova R.Y. Clinical variants in the development of fungal diseases caused by fungi of the genus *Paecilomyces*. *Terapevticheskiy arkhiv*. 1993; 65(11): 53—5. (in Russian)
- Ahunova A.M., Shustova V.I. Peacilomycosis. *Problemy tuberkuleza*. 1989; 66(8): 38—42. (in Russian)
- Akhunova A.M. Infectious-allergic Bronchopulmonary Paecilomycosis. *Terapevticheskiy arkhiv*. 1991; 63(10): 19—24. (in Russian)
- Abduhalikzade G.A. *The Role of Paecilomyces in the Development of Intrauterine Pneumonia*. Diss. Samarkand; 1997. (in Russian)
- Akhunova A.M., Abduhalikzade G.A., Abdusalymov A.A., Atakulov B.M., Bekirova T.L., Khaydarova G.M., Saidova S.M. Data of the epidemiologic study on maternal and neonatal paecilomycosis in the Samarkand region. In: *Sergeev Y.V., ed. Advances of Medical Mycology*. Moscow: The National Academy of Mycology; 2007. (in Russian)
- Akhunov V.M., Sizova Z.M. The prevalence of asthma of the *Paecilomyces* etiology and possible pharmacotherapy for outpatients. *Biomeditsina*. 2010; 5(3): 28—9. (in Russian)
- Akhunov V.M. *Features of Bronchial Asthma with Paecilomycosis*. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing; 2014.
- Akhunova A.M., Shustova V.I. Clinical and immunological characteristics of paecilomycosis. *Klinicheskaya meditsina*. 1991; 69(3): 64—7. (in Russian)
- Haitov R.M. *Immunology [Immunologiya]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006.
- Clark I.A., Richomond J.E., Wills E.J., Allison A.C. Intraerythrocytic death of the parasite in micerecovering from infection with *Babesia microti*. *Parasitology*. 1977; 75: 189.
- Yulaev M.F., Akhunova A. Some properties of the exogenous phospholipase A<sub>2</sub> produced by the mycelium of the fungus *Paecilomyces viridis*. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1999; 45(3): 223—6.
- Gershwin M.E., ed. *Bronchial Asthma*. New-York: Crun & Stratton; 1981.

Поступила 21.06.17

Принята к печати 02.07.17

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 579.842.16:579.253]:577.21.088

Алексеева А.Е.<sup>1</sup>, Бруснигина Н.Ф.<sup>1</sup>, Солнцев Л.А.<sup>1</sup>, Гординская Н.А.<sup>2</sup>

### МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ

<sup>1</sup>ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава РФ, 603950, Нижний Новгород, Россия

С целью молекулярного типирования исследованы карбапенемустойчивые изоляты *K. pneumoniae* (4 штамма), выделенные из раневого отделяемого пациентов ожогового отделения. Проведено полногеномное секвенирование на высокопроизводительном секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Установлена принадлежность трех изолятов *K. pneumoniae* к сиквенс-типу 395 — серотипу K2. Показано, что один изолят имеет уникальное сочетание сиквенс-типа 23 — серотипа K57. Определены генетические детерминанты основных факторов патогенности и антимикробной резистентности и установлена их локализация. Все штаммы характеризовались наличием генов, детерминирующих проявление инвазивных свойств (фимбрии I-го и 3-го типов, белки-сидерофоры), обуславливающих быстрое размножение в тканях человека. Гены, ответственные за синтез инвазивных и токсических веществ, таких как  $\alpha$ -гемолизин, энтерогемолизин, шигаподобных энтеротоксинов, цитотоксического некротизирующего фактора, а также проявление гипермукоидного фенотипа не обнаружены. В составе хромосомы установлены гены, кодирующие синтез  $\beta$ -лактамаз группы SHV-1, гены устойчивости к хинолонам и фосфомицину. В структуре мобилома выявлен набор генов резистентности, включающий детерминанты бета-лактамаз расширенного спектра действия CTX-M-15 и сериновых карбапенемаз OXA-48 (изоляты ST395), у штамма ST23 — только CTX-M-55. Ранее продуценты CTX-M-55 цефалоспоринов среди российских изолятов *Klebsiella pneumoniae* не выявлялись. У всех штаммов присутствуют гены  $\beta$ -лактамаз OXA-1 и TEM-1, гены устойчивости к аминогликозидам, фторхинолонам, фениколам, сульфаниламидам и триметоприму. Дополнительно у одного изолята выявлены гены, детерминирующие устойчивость к макролидам. Полученные результаты дают дополнительную информацию о молекулярно-генетической характеристике БЛРС-продуцирующих штаммов *Klebsiella pneumoniae*, циркулирующих на территории Российской Федерации.

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae*; полногеномное секвенирование; сиквенс-типы; детерминанты патогенности и антибиотикорезистентности; OXA-48 карбапенемаз;  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра; мобилом.

**Для цитирования:** Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф., Солнцев Л.А., Гординская Н.А. Молекулярное типирование клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(11): 699-704. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-699-704>

Alekseeva A.E.<sup>1</sup>, Brusnigina N.F.<sup>1</sup>, Solntsev L.A.<sup>1</sup>, Gordinskaya N.A.<sup>2</sup>

THE MOLECULAR TYPING OF CLINICAL ISOLATES *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCING BETA-LACTAMASES OF EXTENDED SPECTER OF ACTION

<sup>1</sup>The Federal budget institution of science "The I.N. Blokhina Nizhny Novgorod research institute of epidemiology and microbiology" of the Rospotrebnadzor, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>The Federal state budget scientific institution "The Privolzhskiy federal medical research center" of Minzdrav of Russia, 603950 Nizhny Novgorod, Russia

The carbapenem resistant isolates of *K. pneumoniae* (4 strains) isolated from wound discharge of patients of burn department were analyzed with the purpose of molecular typing. The whole genome sequencing was implemented using highly productive sequenator MiSeq (Illumina, USA). Belonging of three isolates *K. pneumoniae* to sequence-type 395-serotype K2 is established. It is demonstrated that one isolate has a unique combination of sequence-type 23-serotype K57. The genetic determinants of main factors of pathogenicity and anti-microbial resistance are established and their localization is determined. All strains were characterized by availability of genes determining manifestation of invasive characteristics (fimbriae type I and III, proteins-siderophors), conditioning fast propagation in human tissues. The genes responsible for synthesis of invasins and toxic substances such as  $\alpha$ -hemolysin, enterohemolysin, shiga-like enterotoxins, cytotoxic necrotic factor, and hypermucoid phenotype regulator were not detected. In the structure of chromosome genes coding synthesis of  $\beta$ -lactamases of group SHV-1 and genes of resistance to quinolones and phosphomycin were detected. In the structure of mobilome a set of genes of resistance was detected including

*determinants of  $\beta$ -lactamases of larger specter of action CTX-M-15 and serin carbapenemases OXA-48 (ST395 isolates), in strain ST23 - only CTX-M-55. Previously, producers of CTX-M-55 of cephalosporinases among Russian isolates of Klebsiella pneumoniae were not detected. In all strains genes of  $\beta$ -lactamases OXA-1 and TEM-1, genes of resistance to aminoglycoside, fluoroquinolone, phenicol, sulfonamides and trimethoprim are present. Additionally, in one isolate were detected genes determining resistance to macrolid. The obtained results provide supplementary information about molecular genetic characteristic of carbapenem resistant strains of Klebsiella pneumoniae circulating in the Russian Federation.*

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae; whole genome sequencing, sequence-type, determinants of pathogenicity and antibiotic resistance, OXA-48 carbapenemases, extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, mobilom.*

**For citation:** *Alekseeva A.E., Brusnigina N.F., Solntsev L.A., Gordinskaya N.A. The molecular typing of clinical isolates Klebsiella pneumoniae producing beta-lactamases of extended specter of action. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (11): 699-704. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-699-704>*

**For correspondence:** *Alekseeva A.E.*, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of metagenomics and molecular indication of pathogens of the Federal budget institution of science "The I.N. Blokhina Nizhny Novgorod research institute of epidemiology and microbiology". e-mail: [a.e.alexeeva79@mail.ru](mailto:a.e.alexeeva79@mail.ru)

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 07.07.2017  
Accepted 17.07.2017

**Введение.** В настоящее время в этиологической структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ведущую роль занимают условно-патогенные микроорганизмы. Особое место принадлежит энтеробактериям, таким как *Klebsiella pneumoniae*, включенным ВОЗ в список наиболее приоритетных для изучения патогенов [1]. Представители данного семейства обладают высокой скоростью приобретения плазмидно-кодируемых детерминант антимикробной резистентности и в первую очередь  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС). Распространение полирезистентных госпитальных штаммов *K. pneumoniae* приобретает эпидемический характер, при этом отмечается региональная особенность доминирования определённых геновариантов, отличающихся по характеру фенотипических проявлений [2, 3]. Так, в ряде стационаров США, Франции, Англии, Италии и других стран пандемическое распространение получила генетическая линия *K. pneumoniae*, относящаяся к клональной группе 258 [4, 5]. Показано, что в странах Прибалтийского региона и в Санкт-Петербурге доминируют штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие NDM-1 металло- $\beta$ -лактамазу и относящиеся к сиквенс-типу 340 [3, 6]. Исследования, проведенные в крупных городах России (Москва, Нижний Новгород, Екатеринбург, Ижевск, Смоленск, Казань и др.) позволили обнаружить штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие бета-лактамазы групп SHV, CTX-M, TEM, OXA, OXA-48, KPC [2]. Следует отметить, что информация о циркуляции определенных генотипов (сиквенс-типов) в большинстве регионов России практически отсутствует. Также недостаточно сведений о детальной молекулярно-генетической характеристике БЛРС-продуцирующих штаммов, в частности *K. pneumoniae*, включающей описание факторов патогенности и резистентности, анализ структуры мобилома. Последний играет ключевую роль в распространении генов, кодирующих БЛРС.

Наиболее полную информацию о структуре генома микроорганизма можно получить с использованием полногеномного секвенирования на высокопроизводительных секвенаторах.

Цель работы — молекулярное типирование штаммов *K. pneumoniae*, выделенных у пациентов ожогового отделения.

**Материал и методы.** В работе исследовались четыре изолята *K. pneumoniae*, выделенные из раневого отделя-

емого пациентов ожогового отделения ФГБУ «Приволжского федерального медицинского исследовательского центра». Штаммы культивировали на колумбийском агаре с 5% бараньей кровью (Sredoff, СПб). Видовую идентификацию проводили на масс-спектрометре Autoflex (Bruker Daltonics). Антибиотикорезистентность оценивалась с помощью SENSI-LAtest (Erba Mannheim), к отдельным препаратам — на анализаторе VITEC-2 (BioMereux, Франция) и диско-диффузионным методом на агаре Мюллера—Хинтона (Oxoid, Англия) с использованием сенси-дисков и анализатора ADAGIO (BioRad, США) (табл. 1).

Полногеномное секвенирование карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae* проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). ДНК чистых культур *K. pneumoniae* выделяли с помощью набора АмплиПрайм ДНК-сорб-В (ЦНИИЭ, Россия). При подготовке библиотеки ДНК для секвенирования использовали набор Nextera XT Sample Preparation kit (Illumina, США), секвенирование проводили с использованием набора MiSeq reagent kit v2 (Illumina, США) на 500 циклов.

Выравнивание и сборку полученных коротких чтений относительно референса осуществляли с использованием встроенного в секвенатор программного обеспечения. Референсом являлась нуклеотидная последовательность штамма *K. pneumoniae* HS11286 (номер GenBank CP003200.1). С целью поиска нуклеотидных последовательностей, принадлежащих мобильным элементам (плазмиды, транспозоны, интроны и т. д.), дополнительно проводили сборку полученных чтений *de novo* с помощью программного обеспечения SPAdes версия 3.9.1 (<http://spades.bioinf.spbau.ru/release3.9.1/manual.html>).

NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation\\_prok/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/)) и сервер Rapid Annotation using Subsystem Technology (RAST) (<http://rast.nmpdr.org/>) использовали для аннотации нуклеотидных последовательностей исследуемых штаммов *K. pneumoniae*.

Определение сиквенс-типов, поиск детерминант антибиотикорезистентности и патогенности осуществляли с использованием специализированной для *K. pneumoniae* базы данных Klebsiella Sequence Typing (<http://bigsd.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>) и сервера Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>). Наличие интронов и IS-элементов определяли дополни-

тельно с помощью web-сервисов Integrall (<http://integrall.bio.ua.pt/>) и IS-finder (<https://www-is.biotoul.fr/>).

**Результаты.** Основные результаты полногеномного секвенирования и аннотирования клебсиелл представлены в табл. 2.

Молекулярно-генетическое типирование *K. pneumoniae* включает выявление генетических детерминант факторов патогенности и антибиотикорезистентности, определение сиквенс-типа по схеме мультилокусного секвенирования (MLST), анализ генетической структуры мобильных элементов.

При типировании штаммов по схеме MLST [7] установлено, что штамм *K. pneumoniae* KP254 относится к сиквенс-типу (ST) 23, остальные три штамма — к сиквенс-типу 395. Серотиповую принадлежность проводили на основании анализа структуры гена *wzi*, входящего в состав кластера генов, кодирующих капсульные полисахариды К-антигенов [8]. Штамм *K. pneumoniae* KP254 принадлежит серотипу K57 (аллельный вариант гена *wzi-77*), другие три штамма — серотипу K2 (аллельный вариант гена *wzi-2*).

Известно, что штаммы, принадлежащие серотипам K2 и K57, проявляют инвазивные свойства [9, 10]. У всех исследуемых штаммов *K. pneumoniae* в структуре хромосомы обнаружены гены, ответственные за синтез фимбриальных адгезинов 1-го и 3-го типов (*fimA* и кластер генов *mrk* соответственно). Выявлены также гены *irp1* (штамм KP254), *irp2* (штаммы KP59, KP314, KP 1083), *fyuA* и группа генов *ybt*, контролирующая синтез, транспорт и регуляцию белка-сидерофора иерсинеобактина. Штамм *K. pneumoniae* KP254 обладает дополнительной системой транспорта железа в виде белка-сидерофора аэробактина (ген *iutA* и кластер генов *iuc*).

По данным литературы многие штаммы *K. pneumoniae* серотипов K2 и K57 имеют в структуре генома гены *rmpA* и *magA*, отвечающие за проявление гипермукоидного фенотипа [9, 10]. Однако эти гены у исследуемых нами штаммов не обнаружены ни в составе основного генома, ни мобилома. Не установлено наличие генов, ответственных за синтез инвазинов и токсических веществ, таких как  $\alpha$ -гемолизин, энтерогемолизин, шига-подобных энтеротоксинов, цитотоксического некротирующего фактора.

Анализ резистома исследуемых штаммов показал, что в составе хромосом трех штаммов *K. pneumoniae* присутствует ген *bla<sub>SHV-11</sub>*, а у штамма KP254 — *bla<sub>SHV-1</sub>*. Оба аллельных варианта гена кодируют сериновые  $\beta$ -лактамазы, относящиеся согласно классификации Bush (2010) к функциональной группе 2b и обеспечивающие устойчивость к пенициллинам и некоторым цефалоспорином. У всех штаммов выявлены также гены устойчивости к хинолонам — гены эффлюксных насосов *oqxA*, *oqxB* и ген *fosA*, обуславливающий проявление устойчивости к фосфомицину.

В структуре ДНК мобильных элементов исследуемых штаммов выявлено значительное количество различных детерминант антибиотикорезистентности (табл. 3).

При типировании мобилома *in silico* с помощью сервера Plasmid Finder [10] выявлено наличие плазмид различных групп несовместимости. У штаммов *K. pneumoniae* KP59, KP314 и KP1083 обнаружены плазмиды групп несовместимости IncR и IncL/M. Штамм KP1083 дополнительно несёт плазмиды групп IncFIB, IncHI1B. У штамма KP254 выявлены плазмиды групп

IncFII и IncFIA(HI1) + IncFII(K). Наличие комбинированных плазмид, принадлежащих одновременно нескольким группам несовместимости, является характерной особенностью клинических изолятов [11].

Установлено, что детерминанты ОХА-48 карбапенемаз у всех этих штаммов *K. pneumoniae* ассоциированы с плазмидами группы несовместимости IncL/M.

Важным фактором, способствующим распространению антибиотикорезистентности, являются интегроны — генетические структуры, улавливающие и встраивающие гены, обеспечивающие их активное функционирование [11]. Из исследуемых нами культур только штамм KP1083 имеет интегрон первого класса, несущий генные кассеты, детерминирующие устойчивость к триметоприму и аминогликозидам.

С помощью сервера IS-finder выявлены последовательности инсерционных IS-элементов, относящихся к различным семействам. Так, в структуре хромосом определено 6 (3 штамма) и 5 (KP314) IS-элементов, а в мобиломе обнаружены 11 (KP314, KP59), 13 (KP254) и 22 (KP1083) инсерционные структуры. Установлено, что гены, кодирующие СТХ-М цефалоспорины, находятся в составе IS семейства Tn3, а ген *bla<sub>оха-48</sub>* карбапенемазы ассоциирован с мобильным элементом, относящимся к семейству IS4.

**Обсуждение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что три штамма имеют схожие значения длин основного генома, в структуре которого обнаружены последовательности двух профагов. У штамма *K. pneumoniae* KP254 последовательности профага отсутствуют, что объясняет более короткую длину генома. Существенные различия у исследуемых изолятов выявлены в размере мобилома: так, у двух штаммов он составил около 138 тыс. п.н., у штамма KP254 — более 300 тыс. п.н. и у штамма KP1083 — более 400 тыс. п.н.

Таблица 1

Антибиотикочувствительность штаммов *K. pneumoniae*

Антибиотик	Штамм <i>K. pneumoniae</i>			
	KP59	KP254	KP314	KP1083
Дорипенем	R	R	R	R
Имипенем	I	R	R	S
Меропенем	I	R	R	I
Эртапенем	R	R	R	S
Нетилмицин	S	I	S	S
Тигециклин	S	I	S	I
Тикарциллин/клавулановая кислота	R	S	R	R
Цефепим	R	S	R	R
Цефокситин	R	R	R	R
Цефоперазон/сульбактам	R	R	R	R
Цефотаксим	R	R	R	R
Цефтазидим	R	R	R	R
Цефтриаксон	R	R	R	R
Цефуроксим	R	R	R	R
Ципрофлоксацин	R	R	R	R

Примечание. R — устойчив; I — умеренно устойчив; S — чувствителен.

Таблица 2

**Общие результаты полногеномного секвенирования штаммов *K. pneumoniae***

Характеристика	Штамм <i>K. pneumoniae</i>			
	КР59	КР254	КР314	КР1083
Размер генома, п.н.	5 141 870	4 874 354	5 139 919	5 176 368
ГЦ, %	57,8	58	57,8	57,8
Количество тРНК	84	84	85	84
Количество рРНК	25	25	25	25
Количество белок-кодирующих последовательностей	5 118	4 802	5 139	5 177
Количество профайгов	2	Нет	2	2
Размер мобилома, п.н.	137 828	138 593	312 272	433 633

При определении сиквенс-типа и серотиповой принадлежности установлено, что штамм *K. pneumoniae* КР254 относится к ST23 и серотипу K57. Согласно источникам литературы генетические линии *K. pneumoniae*, относящиеся к ST23, характеризуются глобальным распространением, наиболее часто обнаруживаются у пациентов с абсцессом печени, реже с пневмонией, и относятся к серотипу K1 [4, 5]. Штаммы *K. pneumoniae* серотипа K57 (определение сиквенс-типа не проводилось) впервые были выявлены у больных с абсцессом печени в Тайване [12]; описан случай обнаружения клебсиелл такого же серотипа и сиквенс-типа 185 у коров в США

[5]. Таким образом, мы описываем первый случай обнаружения *K. pneumoniae* ST23 серотипа K57.

Спектр выявленных детерминант патогенности обусловливает проявление исследуемыми штаммами исключительно инвазивных свойств, что является отличительным признаком от описанных ранее представителей серотипов K2 и K57.

Следует отметить сходство аллельного профиля детерминант антибиотикорезистентности трёх исследуемых штаммов *K. pneumoniae* (КР59, КР314, КР1083). Гены *bla<sub>OXA-1</sub>* и *bla<sub>TEM-1</sub>* кодируют бета-лактамазы широкого спектра и относятся к функциональной группе 2b. Такие гены, как *bla<sub>CTX-M-15</sub>* и *bla<sub>OXA-48</sub>*, кодируют СТХ-М-15 цефалоспорины (группа 2be) и ОХА-48-тип карбапенемазы (группа 2d) соответственно, которые относятся к бета-лактамазам расширенного спектра [12]. Аллотип *bla<sub>CTX-M-15</sub>* относится к эволюционной группе СТХ-М-1 цефалоспоринов, имеет глобальное распространение и является наиболее эпидемически значимым (выявляется в 87% случаев) [13, 14]. Исследования, проведённые российскими учеными, показали, что продуцентами ОХА-48 карбапенемаз на территории Российской Федерации являются штаммы клебсиелл, относящиеся к сиквенс-типам 395 и 147 [15, 16].

У штамма КР254 выявлены гены, кодирующие продукцию бета-лактамаз широкого спектра ОХА-1, LAP-2 (аналог TEM-1) и одного типа БЛРС — СТХ-М-55 цефалоспорины. Данные о циркуляции аллотипа *bla<sub>CTX-M-55</sub>* относящегося к группе СТХ-М-9, среди российских изолятов *K. pneumoniae* отсутствуют [13, 14, 17].

У всех исследуемых штаммов выявлены детерминанты резистентности к фторхинолонам: гены *qnrS* (обеспечивает защиту мишени) и *aac(6')-Ib-cr*, кодирующий аминогликозидацетилтрансферазу. Последняя

Таблица 3

**Детерминанты резистентности штаммов *K. pneumoniae*, локализованные на мобильных элементах**

Антибактериальные препараты	Детерминанты антибиотикорезистентности штаммов <i>K. pneumoniae</i>			
	КР59	КР254	КР314	КР1083
β-Лактамные				
цефалоспорины	<i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-55</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i>
оксациллины	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>
карбапенемы	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>		<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>
пенициллины и некоторые цефалоспорины	<i>bla<sub>TEM-1</sub></i>	<i>bla<sub>LAP-2</sub></i>	<i>bla<sub>TEM-1</sub></i>	<i>bla<sub>TEM-1</sub></i>
Хинолоны/фторхинолоны	<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i>
	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
Аминогликозиды	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
				<i>ant(2'')-Ia</i>
				<i>ant(3'')-Ia</i>
				<i>armA</i>
Тетрациклин	<i>tetA</i>	<i>tetA</i>	<i>tetA</i>	<i>tetA</i>
Фениколы	<i>catA1c</i>	<i>catA1</i>	<i>catA1</i>	<i>catA1</i>
	<i>atB3</i>	<i>catB3</i>	<i>catB3</i>	<i>catB3</i>
Сульфониламиды	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>sul1</i>	<i>sul1</i>
Триметоприм	<i>dfrA1</i>		<i>dfrA1</i>	<i>dfrA1</i>
Макролиды				<i>msrE</i>
				<i>mphE</i>

является бифункциональным ферментом, модифицирующим также аминогликозидные антибиотики. У штамма *K.pneumoniae* KP1083 установлены дополнительные гены *ant(2»)-Ia* и *ant(3»)-Ia* -аминогликозидмодифицирующих ферментов аденилилтрансфераз, а также ген *armA*, кодирующий метилазу 16S рРНК.

Все изоляты обладали генами устойчивости к тетрациклину, фениколам и сульфаниламидам, у трёх выявлены гены резистентности к триметоприму, а у штамма *K.pneumoniae* KP1083 обнаружены также гены эффлюксного транспорта макролидов.

В целом набор маркёров антибиотикорезистентности представителей ST395 в нашем исследовании практически полностью совпадает с таковыми, описанными В.А. Агеевцем (2016), для штамма клебсиелл ST395, выделенного в Москве.

Следует отметить, что штамм *K.pneumoniae* KP1083, обладающий наибольшим набором детерминант устойчивости к различным классам антибиотиков, характеризуется высокой чувствительностью. Так, при наличии у него гена *bla<sub>OXA-48</sub>* наблюдается чувствительность к таким карбапенемам, как имипенем и эртапенем в отличие от штаммов KP59 и KP314. Несмотря на присутствие трёх детерминант устойчивости к аминогликозидам, штамм *K.pneumoniae* KP1083 сохраняет чувствительность к нетилмицину, как и другие три штамма, обладающие только одним геном резистентности. С другой стороны, штамм *K.pneumoniae* KP254, не имеющий гены карбапенемаз, является устойчивым к дорипенему и эртапенему. Таким образом, наличие (или отсутствие) генетических детерминант антимикробной резистентности не всегда соответствует фенотипическим свойствам патогена, обусловленным функционированием других механизмов, связанных с регуляцией экспрессии генов резистентности, наличием эффлюксных систем или снижением уровня проницаемости мембраны клеток бактерий [18].

**Заключение.** Впервые в Нижнем Новгороде проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов БЛРС-продуцирующих штаммов *K.pneumoniae*, что позволило осуществить молекулярное типирование по широкому спектру маркеров.

Получены новые данные о представителях *K.pneumoniae*, относящихся к ST395 серотипа 2 и ST23 серотипа K57, отличающихся от известных ранее по патогенным свойствам. Установлено, что все исследуемые штаммы не являются высокопатогенными, поскольку у них отсутствуют гены, ответственные за синтез токсинов и проявление гипермукоидного фенотипа. Однако наличие генов, контролирующих синтез фимбриальных адгезинов, белка иерсинеобактина и аэробактина (*K.pneumoniae* KP254), обуславливает проявление инвазивных свойств штаммов клебсиелл, способствуя быстрому размножению в тканях человека. Впервые описан представитель *Klebsiella pneumoniae* ST23, принадлежащий серотипу K57.

У всех штаммов выявлены детерминанты множественной антибиотикоустойчивости, основной вклад в формирование резистентности вносят генетические структуры, находящиеся на мобильных элементах.

Все изоляты являются продуцентами бета-лактамаз групп SHV-1, TEM-1, OXA-1, CTX-M. У трёх изолятов, относящихся к ST395, выявлены гены *OXA-48* карбапенемаз.

Подобные исследования позволяют оценивать попу-

ляционную структуру БЛРС-продуцирующих патогенов на локальном и глобальном уровнях, способствуют пониманию механизмов распространения экстремально- и панрезистентных штаммов и осуществлению эффективного контроля за ними.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

---

#### ЛИТЕРАТУРА (пп.1, 4—13, 15, 16 см. REFERENCES)

2. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С., исследовательская группа «МАРАФОН». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011—2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16(4): 254—65.
3. Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Шлякто Е.В. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K.pneumoniae* в Санкт-Петербурге. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2016; 18(3): 196—200.
4. Фурсова Н.К., Прячук С.Д., Абаев И.В., Ковалев Ю.Н., Шишкова Н.А., Печерских Э.И. и др. Генетическое окружение генов *bla<sub>CTX-M</sub>*, локализованных на конъюгативных плаزمидов нозокомиальных изолятов *Enterobacteriaceae*, выделенных в России в 2003—2007 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010; 55: 3—10
17. Агеев В.А. Молекулярная характеристика продуцентов карбапенемаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных в Санкт-Петербурге. Дисс. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург; 2016.
18. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясетская М.Ф., Курчикова Т.С. и др. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и металло-β-лактамазу NDM-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона. *Инфекция и иммунитет*. 2013; 3(1): 29—36.
19. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам. *Успехи биологической химии*. 2004; 44: 263—306.

---

#### REFERENCES

1. Tacconelli E., Magrini N. *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. Available at: [http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short\\_Summary\\_25Feb-ET\\_NM\\_WHO.pdf](http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf) (accessed February 2017)
2. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Shek E.A., Dekhnic A.V. et al. Antimicrobial Resistance of Nosocomial Enterobacteriaceae Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011—2012. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2014; 16(4):254—65. (in Russian)
3. Barantsevich E.P., Barantsevich N.E., Shlyakhto E.V. Production of Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* Isolated in Saint-Petersburg. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2016; 18(3):196—200. (in Russian)
4. Bialek-Davenet S., Criscuolo A., Ailloud F., Passet V., Jones L., Delannoy-Vieillard A. et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20(11): 1812—20.
5. Holt K.E., Wertheim H., Zadoks R.N., Baker S., Whitehouse C.A., Dance D. et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015; 112(27): 3574—81.
6. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilina E.N., Lobzina Y.V.,

- Shlyapnikov S.A. et al. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2014; 44: 152—5.
7. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 4178—82.
  8. Brisse S., Passet V., Haugaard A.B., Babosan, Kassis-Chikhani N., Struve C. et al. wzi gene sequencing, a rapid method for determination of capsular typing for *Klebsiella* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(12): 4073—8.
  9. Brisse S., Fevre C., Passet V., Issenhuth-Jeanjean S., Tournebize R. et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS ONE*. 2009; 4(3). Available at: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0004982> (accessed 18 May 2017).
  10. Hsu C.R., Liao C.H., Lin T.L., Yang H.R., Yang F.L., Hsieh P.F. et al. Identification of a capsular variant and characterization of capsular acetylation in *Klebsiella pneumoniae* PLA-associated type K57. *Sci. Rep.* 2016; 6:31946. Available at: <https://www.nature.com/articles/srep31946> (accessed 15 May 2017).
  11. Bush K., Jacoby G.A. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 969—76.
  12. Carattoli A., Zankari E., Garcia-Fernandez A., Voldby Larsen M., Lund O., Villa L. et al. PlasmidFinder and pMLST: in silico detection and typing of plasmids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(7): 3895—903.
  13. Yu W.L., Ko W.L., Cheng K.C., Lee C.C., Lai C.C., Chuang Y.C. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 62: 1—6.
  14. Fursova N.K., Pryamchuk S.D., Abaev I.V., Kovalev Yu.N., Shishkova N.A., Pecherskikh E.I. et al. Genetic Environments of bla<sub>CTX-M</sub> Genes Located on Conjugative Plasmids of *Enterobacteriaceae* Nosocomial Isolates Collected in Russia within 2003—2007. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2010; 55: 3—10. (in Russian).
  15. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(12): 3724—32.
  16. Fursova N.K., Astashkin E.I., Knyazeva A.I., Kartsev N.N., Leonova E.S., Ershova O.N. et al. The spread of bla<sub>OXA-48</sub> and bla<sub>OXA-244</sub> carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter* spp. isolated in Moscow, Russia. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2015; 14: 46. Available at: <https://annclinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12941-015-0108-y> (accessed 15 May 2017).
  17. Ageevets V.A. Molecular characteristics of carbapenemases producers of the *Enterobacteriaceae* family isolated in St. Petersburg [Molekulyarnaya kharakteristika producentov karbapenemaz semejstva *Enterobacteriaceae*, vydelennyh v Sankt-Peterburge]. Diss. St. Petersburg; 2016. (in Russian)
  18. Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S. et al. Enterobacteriaceae, producing ESBLs and metallo- $\beta$ -lactamase NDM-1, isolated in hospitals of Baltic region countries. *Infektsiya I immunitet*. 2013; 3(1): 29—36. (in Russian)
  19. Sidorenko S.V., Tishkov V.I. Molecular basis of antibiotic resistance. *Uspekhi biologicheskoi khimii*. 2004; 44: 263—306. (in Russian)

Поступила 07.07.17

Принята к печати 17.07.17

## Уважаемые читатели!

На сайте Научной Электронной Библиотеки  
**www.elibrary.ru** можно подписаться на электронную версию  
нашего журнала и других журналов издательства «Медицина» на 2018 год.

Архив журналов Издательства «Медицина»  
находится в открытом (бесплатном) доступе на сайтах  
Научной электронной библиотеки **www.elibrary.ru**  
и Киберленинки **www.cyberleninka.ru**

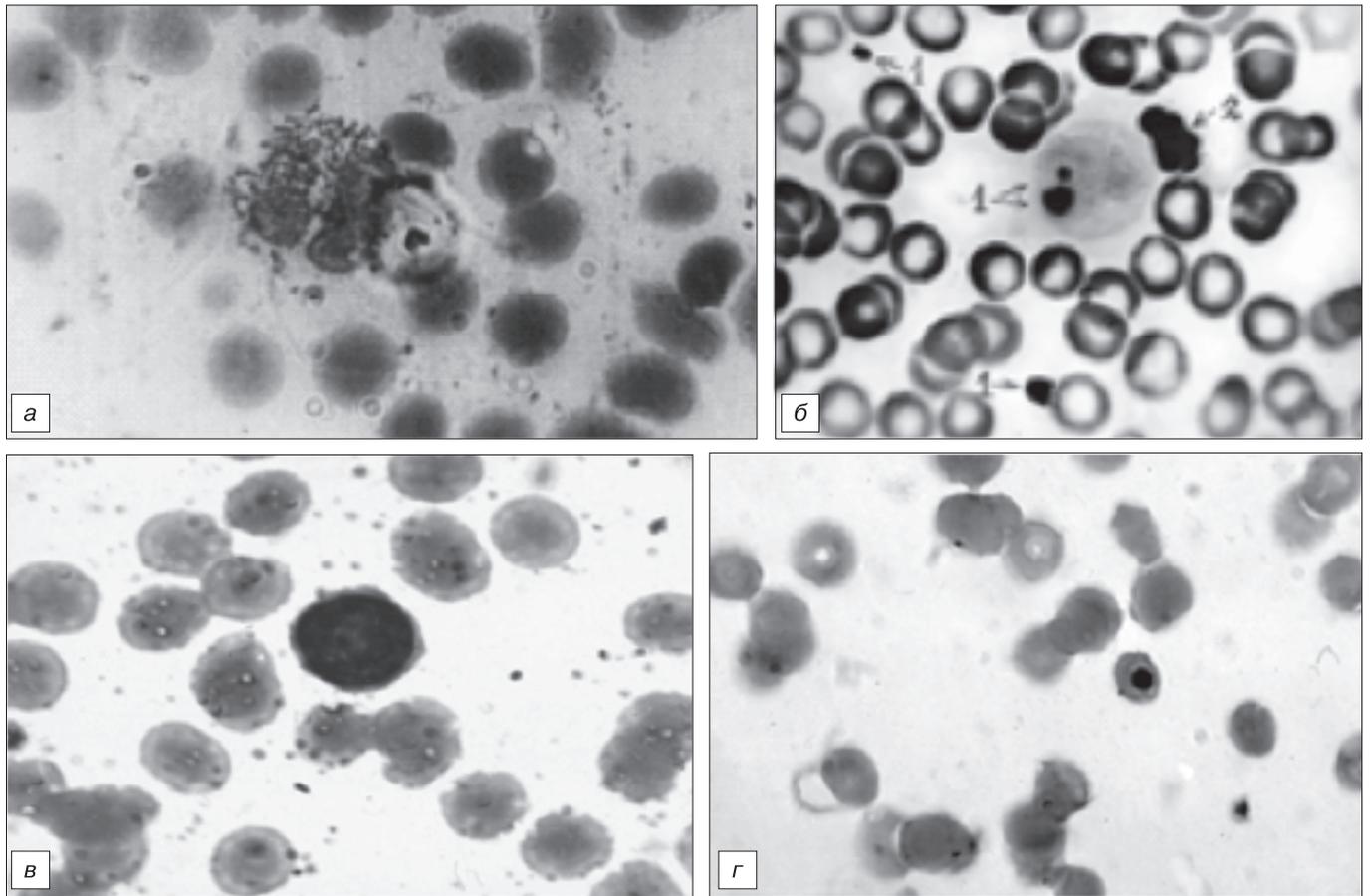


Рис. 1. Картина периферической крови у больных БА при пециломикозе.

*а* — больные с атопическим профилем БА при пециломикозе; в поле зрения эозинофил, распланный по поверхности сферулы с концентрацией гранул вокруг её капсулы. Окраска по Романовскому—Гимзе. Ув. 1000;

*б* — больные с неатопическим профилем БА при пециломикозе; в поле зрения мононуклеар, реализующий фагоцитарную и цитотоксическую функции, в цитоплазме которого отчётливо видны поглощенные им эндоспоры (1), видна крупная дрожжеподобная клетка (2), фиксированная на его поверхности. Окраска по Граму—Вейгерту. Ув. 900;

*в* — больные БА в острой фазе активации ПИ; всё поле зрения представлено эритроцитами с фиксированными к их клеточной мембране эндоспорами округлой или дрожжеподобной формы; в центре клетка гриба с двухконтурной капсулой и заключенными в ней эндоспорами — сферула. Окраска по Романовскому—Гимзе. Ув. 900;

*г* — больные БА с активацией пециломикозной инфекции в крови; в цитоплазме отдельных эритроцитов обнаруживаются грибные клетки или их цитоскелеты. Окраска по Романовскому—Гимзе. Ув. 900.

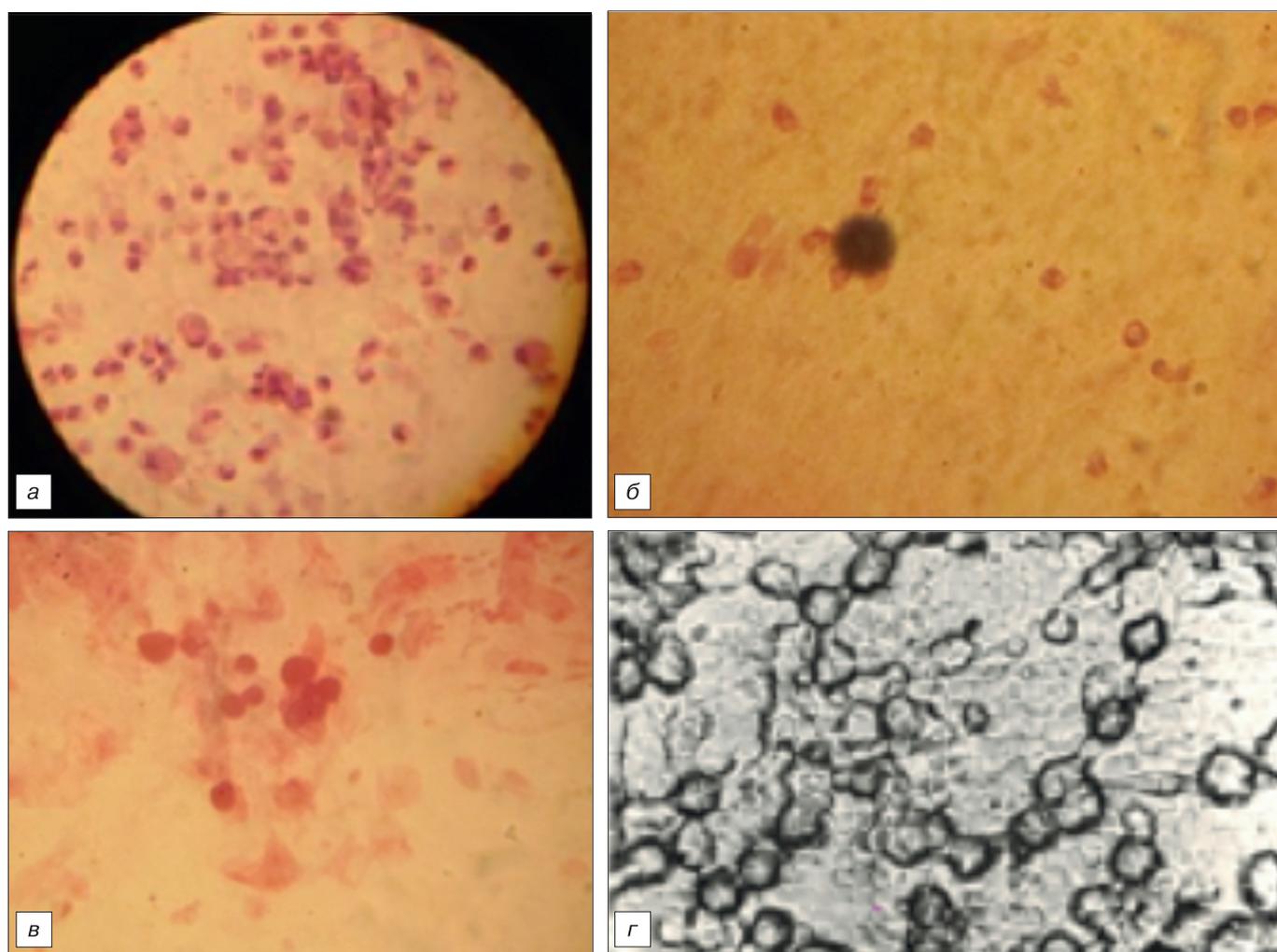


Рис. 2. Цитологический состав мокроты больных БА при пеницилломикозе.

а — больной А. с неатопической формой БА при пеницилломикозе; в поле зрения цитоскелеты грибных клеток покрытые эозинофилами. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 800;

б — больной Х. с атопической формой БА и активацией ПИ; в поле зрения зрелая сферула и фиксирующиеся к её поверхности активированные эозинофилы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400;

в — морфологический состав тканевых форм гриба рода *Paecilomyces* в образце мокроты больной с неатопической формой БА после суточной инкубации в питательной среде 199 с гепарином в термостате при температуре 37°C; в поле зрения сферулы и дрожжеподобные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400;

г — неокрашенный образец мокроты больного БА при пеницилломикозе после суточной инкубации в питательной среде 199 с гепарином при температуре 25°C.

В поле зрения нити мицелия, внутри которых определяются споры. Ув. 400.