



№2 (49) июнь 2014

КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Директор
научно-практического журнала
«Клинико-лабораторный консилиум»:
Ковальчук Ю. П., к. м. н.

Главный редактор:

Эмануэль В. А., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Ответственный секретарь:

Джавлах Е. С.

Адрес редакции:

**197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8**

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

eivcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации:
ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

**ГОУ ВПО «СПб Государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
Федерального агентства
по здравоохранению
и социальному развитию»
(197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8)**

Журнал издается при поддержке
ООО «АкваТест СПб»

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

Подготовка к печати и печать:

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

Санкт-Петербург,
Новочеркасский пр., д. 58

Тираж 2000 экз.

Заказ № 314



*С тобой мы, помнишь, друг, когда-то
Давали клятву Гиппократа?
Пусть пролетели эти дни,
Мы ей по-прежнему верны.*

*Герои шприца и бинта
Спешим на помощь мы всегда.
Мы, словно магии адепты,
Напишем справки и рецепты.*

*Тебе желаю в этот день
Колпак поправить набекрень,
Залезть в халат, надеть бахилы
И танцевать, пока есть силы!*



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

- | | |
|--|---|
| Айламазян Э.А.,
академик РАН,
д. м. н., профессор,
з. д. н. РФ (Санкт-Петербург) | Мазуров В.И.,
академик РАН, д. м. н., профессор,
з. д. н. РФ (Санкт-Петербург) |
| Афанасьев Б.В.,
д. м. н., профессор,
з. д. н. РФ (Санкт-Петербург) | Полушин Ю.С.,
член-корр. РАМН, д. м. н., профессор
(Санкт-Петербург) |
| Багненко С.Ф.,
академик РАН, д. м. н.,
профессор (Санкт-Петербург) | Сухоруков В.С.,
д. м. н., профессор (Москва) |
| Дубина М.В.,
член-корр. РАН,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Смирнов А.В.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |
| Звартау Э.Э.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Шляхто Е.В.,
академик РАН, д. м. н., профессор,
з. д. н. РФ (Санкт-Петербург) |
| Зыбина Н.Н.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Эмануэль В.Л.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |
| Лиознов Д.А.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Ягмуров О.Д.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |
| | Яременко А.И.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |

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

- | | |
|---|--|
| Антонова И.Н.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Карпищенко А.И.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |
| Бринкманн Т.,
Университет Рура в Бохуме
(Германия) | Ларионова В.И.,
д. м. н., профессор,
ИЭМ (Санкт-Петербург) |
| Вавилова Т.В.,
д. м. н., профессор,
ФГБУ «ФМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ | Петришев Н.Н.,
д. м. н., профессор,
з. д. н. РФ (Санкт-Петербург) |
| Власов Т.Д.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Сапрыгин Д.Б.,
д. м. н., профессор, РМАПО (Москва) |
| Дидур М.Д.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Соколовский Е.В.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |
| Дюк В.А.,
д. м. н., профессор, СПб НИИ РАН | Хоровская Л.А.,
д. м. н. (Санкт-Петербург) |
| Жлоба А.А.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) | Чухловин А.Б.,
д. м. н., профессор (Санкт-Петербург) |

Содержание

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ	2
<i>В.Н. Титов</i> КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ. ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА	4
<i>В. В. Дорофейков, Л. В. Ширинян, И. Е. Зазерская</i> РОЛЬ ВИТАМИНА D И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ И СОВРЕМЕННЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ.....	16
<i>В.К. Козлов</i> СЕПСИС, ТЯЖЕЛЫЙ СЕПСИС, СЕПТИЧЕСКИЙ ШОК: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИАГНОЗА, КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ, ПРИНЦИПЫ И МЕТОДОЛОГИЯ ДИАГНОСТИКИ	20
<i>А. А. Аскеров</i> ГИСТОМОРФОЛОГИЯ ОПУХОЛИ И МИОМЕТРИЯ ПРИ МИОМЭКТОМИИ	41
<i>В. С. Эмануэль, А. К. Емельянов, П. А. Андоскин</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА SNCA ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ	45
<i>Е. О. Комлева</i> ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЙ АНТИГЕН СА19-9 В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	50

КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ. ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА

В.Н. ТИТОВ

Лаборатория клинической биохимии липидов и липопротеинов,
ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава РФ

Резюме. В пятидесятых — шестидесятых годах прошлого века повышенный интерес к патогенезу атеросклероза и внедрение в научные исследования новых физико-химических методов (аналитическое и препаративное ультрацентрифугирование, ядерная магнитная резонансная спектроскопия, электронная микроскопия, методы высокоэффективной хроматографии) привели к становлению нового раздела биохимии и клинической химии — липидологии, липидомики. Это был важный этап в выяснении патогенеза атеросклероза, дифференциальной диагностике фенотипов гиперлипидемии и начало становления гиполипидемической терапии. Активное участие в работе приняли биохимики, биофизики, химики и клиницисты.

Однако за прошедшую половину века не все гипотезы, методические разработки, диагностические приемы и теоретические положения выдержали испытание временем. Некоторые факты, как и прежде, остаются пока за пределами понимания; назрела необходимость пристально посмотреть на то, что было сделано ранее, внести коррективы, дополнить объем знаний новыми фактами и теоретическими положениями.

1. Не выдерживает критики предложенная структура липопротеинов (ЛП). По сути, это биофизическая модель, сформированная *in vitro* и к биологии ЛП отношения не имеющая; сформирована она при действии ультразвука, в условиях, которые невозможны *in vivo*. К тому же такое построение ЛП не соответствует положениям общей биологии и филогенетической теории. Все ЛП сформировались на разных ступенях филогенеза последовательно, по единому биологическому принципу бислоя белок: липид. К тому же невозможно смешать триглицериды (ТГ) и этерифицированные спиртом холестерином полиеновые жирные кислоты (ПНЖК, поли-ЭХС); в структуре ЛП они располагаются рядом, но всегда изолированно.

2. Все представления о функции ЛП высокой плотности (ЛПВП) почему-то авторы ограничивают функцией реверсивного переноса спирта холестерина (ХС) от клеток к печени. В то же время сотни миллионов лет *in vivo* функционировали только ЛПВП и они переносили (и сейчас переносят) к клеткам все ЖК. Основной же функцией ЛПВП в филогенезе является перенос к клеткам всех экзогенных (эндогенных) ЖК в форме полярных липидов и пассивное поглощение их клетками, а также перенос спирта ХС от клеток к печени.

3. Не до конца понята биологическая роль апоЕ: а) формирование ими на ступенях филогенеза кооперативных рецепторов; б) перенос и активное поглощение клетками ЖК в ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП) и ЛПВП; в) роль апоЕ в резистентности к атероматозу на модели экзогенной гиперхолестеринемии; г) биологическое взаимоотношение апоЕ и инсулина.

4. Мы до сих пор не смогли понять, почему на модели экзогенной гиперхолестеринемии столь быстро формируется атероматоз интимы аорты у кроликов и столь резистентны в этой модели крысы. Почему выбывание апоЕ выражено активирует формирование атероматоза у крыс?

5. До сих пор не понято, как действуют статины, а выражение «статины ингибируют синтез ХС» является в большей мере декларативным, как и способность препаратов ингибировать биологическую функцию эндозологии, биологическую реакцию воспаления.

Все это мы предлагаем обсудить с позиций предложенной нами филогенетической теории общей патологии, проследив становление на ступенях филогенеза последовательно функции ЛПВП, далее ЛПНП и самых последних ЛПОНП вместе с действием инсулина.

Ключевые слова: липопротеины, филогенез, функции.

CLINICAL BIOCHEMISTRY OF FATTY ACIDS, LIPIDS AND LIPOPROTEINS, HYPOLIPIDEMIC THERAPY AND ATHEROSCLEROSIS PREVENTION

V.N. TITOV

Laboratory of lipids and lipoproteins clinical biochemistry, Federal State Institution Russian cardiological scientific industrial complex, Ministry of Health Care, Russian Federation

Summary. *In fifties-sixties of past century the new branch of biochemistry and clinical chemistry appeared. It was named as lipidology and lipidomics and was born due to high interest to pathogenesis of atherosclerotic process and introduction of new physical chemical methods as analytic and preparative ultracentrifugation, nuclear magnetic resonance spectroscopy, electron microscopy, methods of highly effective chromatography.*

This period became the important stage for understanding of atherosclerosis pathogenesis, differential diagnosis of hyperlipoproteinemias phenotypes and start of hypolipidemic treatment. These concepts were the result of the active work of biochemistry, biophysics, chemistry and clinical medicine specialists.

However the subsequent development of sciences lead to the review of some hypotheses, diagnostic approaches and theoretical concepts. Some facts still remain unclear and the new approaches are to be worked out.

1. The structure of lipoproteins (LP) is to be reviewed. It is a biophysical model which was created in vitro in presence of ultrasonic influence, in conditions, which are not possible in vivo and thus is not related to real biology of LP and basic rules of general biology and theory of phylogenesis. All LP were formed subsequently at different stages of phylogenesis according to the general biological bilayer principle: protein:lipid. It is impossible to mix the triglycerides (TG) and etherified polienic fatty acids. In structure of lipoproteins these are localized closely but always isolated.

2. All the functions of high density LP (HDLP) are usually limited by the reversive transfer of cholesterol from cells to liver. However, for thousands of millions years in vivo existed only HDLP transferring to cells all the fatty acids. The same functions exist till present time. The main HDLP function from point of view of phylogenesis is the transfer to cells of all exogenous (endogenous) fatty acids in form of polar lipids as well as the functions of their passive consummation by cells and cholesterol transfer from cells to liver.

3. Biological role of apoE is not finally understood: a) to form the cooperative receptors at the stages of phylogenesis; b) to transfer and actively consume by cells of fatty acids in lipids of high (HDLP) and very low (VLDP) density; c) role in resistance to atheromatosis in model of exogenous hypercholesterolemia; d) biological interaction of apoE and insulin.

4. Untill now it is not understood why in model of exogenous hypercholesterolemia aortic intima atheromatosis is rapidly formed in rabbits, but rats are remain resistant in this model. Why ApoE exclusion seriously activate the atheromatosis in rats?

5. Untill now statins mechanism of action is still not understood. The phrase "statins inhibit cholesterol synthesis" is more declarative, as well as statins peculiarities to inhibit of biological function of endoecology, biological reaction of inflammation.

Thus, we propose to describe these concept basing on the position of the phylogenetic theory of general pathology, and discuss the phylogenetic development of HDLP functions, then subsequently LPLD and LPVLD together with insulin action.

Keywords: lipoproteins, phylogenesis, functions.

Данные для корреспонденции

Титов Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор,
руководитель лаборатории клинической биохимии липидов и липопротеинов
ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России;
122551, г. Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15а; тел. +7 (495) 414-63-10; e-mail: vn_titov@mail.ru

Продолжение.

Начало см. КЛК №1 (48)

ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ

ЕДИНЫЙ АЛГОРИТМ ДЕЙСТВИЯ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ. ОСНОВЫ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ АТЕРОСКЛЕРОЗА И АТЕРОМАТОЗА

Клиническое применение гиполипидемических препаратов, по данным мультицентровых протоколов, выявило достоверное снижение риска атеросклероза, атероматоза и атеротромбоза (деструктивное воспалительное поражение интимы) коронарных артерий, частоты, выраженности инфаркта миокарда. Среди кооперативных протоколов многоцентровой оценки гиполипидемических препаратов доминируют работы, посвященные статинам и фибратам. Меньшее число работ описывают результаты клинического применения пробукола, действие на мембране ядер агонистов РАПП (глитазоны, α -липовая кислота, флаваноиды, изофлавоны) и ингибиторов панкреатической липазы. Менее четкие результаты получены при оценке гиполипидемического действия ω -3 С20:5 эйкозапентаеновой, ω -3 С22:6 докозагексаеновой и ω -6 С20:4 арахидоновой эссенциальных ПНЖК. Менее эффективным оказалось повышение содержания в пище С18:2 линолевой, С18:3 линоленовой ННЖК; эффективно увеличение содержания в пище МЖК — ω -6 С18:1 олеиновой и С22:1 эруковой МЖК. Сообщены первые данные о применении в клинике гиполипидемических препаратов — синтетических ингибиторов БПЭХ. Результаты лечения пациентов с ГЛП неоднозначны, как и понимание физиологической роли белка в переносе в ЛП и активном поглощении клетками ЖК.

Увеличение содержания в пище и в липидах плазмы крови НЖК, особенно Пальм, рассматривают как достоверный проатерогенный и пролипидемический фактор; это явное нарушение биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии — внешнего питания. С позиций филогенетической теории общей патологии, система ЛП — перенос в межклеточной среде и поглощение клетками ЖК, хоть и претерпела в филогенеза три «основных» этапа, биологически является единой. В ЛП, в рамках биологической реакции экзотрофии (внешнего питания), сосредоточено действие всех гиполипидемических препаратов.

Основная биологическая роль ЛП — перенос в межклеточной среде, пассивное, активированное и активное (рецепторное) поглощение клетками ЖК в форме полярных и неполярных липидов. Липидами являются ЖК и все соединения, в состав которых ЖК входят. В клинической химии определять содержание в плазме крови индивидуальных ЖК сложно; измерять содержание ТГ, моно- и поли-ЭХС мы тоже не можем. Поэтому вместо определения содержания ЖК в плазме крови мы измеряем концентрацию спиртов, которые связаны с ЖК в липидах; методически это проще. Вместо ТГ мы опре-

деляем спирт ГЦ, а вместо ЖК в ЭХС — спирт ХС. Действие гиполипидемических препаратов мы оцениваем на основании снижения содержания спиртов ГЦ и ХС в плазме крови, а также в ЛП: ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП.

В межклеточной среде и в плазме крови ЖК циркулируют в невысокой концентрации в форме НЭЖК, которые связывает альбумин. ЖК в форме эфиров со спиртом ГЦ формируют полярные липиды (фосфолипиды и диглицериды), а также и неполярные — ТГ. Этерификация МЖК со спиртом ХС формирует неполярные моно-ЭХС. Этерификация со спиртом ХС эссенциальных ПНЖК с четырьмя — шестью ДС образует поли-ЭХС. Линолевая и линоленовая ННЖК формируют неполярные липиды со спиртом ГЦ. Физико-химически необходимость образования из ЖК полярных и неполярных липидов продиктована тем, что, имея клеточную мембрану в форме бислоя полярных липидов, клетки могут пассивно, активированно поглощать ЖК только в форме полярных липидов. Филогенетически же более поздним активным, рецепторным путем клетки поглощают ЖК в неполярных липидах — ТГ и ЭХС.

Три этапа становления в филогенезе переноса в межклеточной среде и поглощения клетками ЖК

На первом, филогенетически раннем этапе становления ЛП *in vivo* сформировался перенос ЖК в межклеточной, гидрофильной среде в ЛПВП, в полярных ФЛ, ДГ и НЭЖК; клетки поглощали полярные липиды только пассивно. ЛПВП относили и полярный спирт ХС от клеток вначале к энтероцитам, а много позже к гепатоцитам.

На втором этапе иные ЛП стали переносить ЖК в ассоциации с апоВ-100 и апоВ-48 в неполярных липидах — ТГ и ЭХС в ЛПОНП, которые в крови при гидролизе части ТГ превращались в ЛПНП; клетки активно поглощали их путем апоВ-100 эндоцитоза. ЛПВП стали отвозить от клеток ХС не в форме свободного спирта, а как эфиры с эндогенной олеиновой МЖК, в моно-ЭХС.

На третьем этапе в филогенезе сформировались перенос и поглощение клетками ЖК в рамках становления новой биологической функции — функции локомоции, при действии гуморальной системы инсулина. Это перенос больших количеств НЖК+МЖК в ТГ в составе пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП и активное поглощение их клетками путем апоЕ/В-100 эндоцитоза. Таким образом; на ранних ступенях филогенеза клетки поглощали ЖК только пассивно и в полярных липидах; позже сформировалось активное поглощение

ПНЖК + ННЖК в линолевых и линоленовых ЛПНП и, в последнюю очередь, рецепторное поглощение клетками НЖК + МЖК в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза. Согласно биологической преемственности становления в филогенезе биологических функции и реакций, в переносе и поглощении клетками ЖК у человека одновременно функционируют все варианты переноса в ЛП и поглощения клетками ЖК, которые сформированы в филогенезе.

При становлении ЛП и ведущей роли инсулина в метаболизме ЖК на поздних ступенях филогенеза у животных сформировались перенос и поглощение клетками ЖК. Они различаются у животных, чувствительных и резистентных к экзогенной гиперхолестеринемии. У нечувствительных к повышению содержания ХС в пище крыс, мышей и собак клетки поглощают ПНЖК в поли-ЭХС путем апоЕ/А-I эндоцитоза. У кроликов, морских свинок, приматов и человека, которые при увеличении ХС в пище формируют ГЛП и атероматоз интимы аорты, клетки поглощают ПНЖК через филогенетически более ранние апоВ-100 рецепторы. У крыс перенос к клеткам НЖК + МЖК и ННЖК + ПНЖК реализуют разные апо — апоВ-100 и апоА-I и клетки поглощают их отдельно. Поглощение клетками НЖК + МЖК у крыс реализует апоЕ/В-100 эндоцитоз, а поглощение ННЖК + ПНЖК опосредовано через апоЕ/А-I рецепторы. У кроликов, приматов, человека и НЖК + МЖК и ННЖК + ПНЖК переносит к клеткам последовательно один и тот же апоВ-100. АпоВ-100 переносит НЖК + МЖК в ЛПОНП; далее он же переносит и ННЖК + ПНЖК в составе ЛПНП. Клетки человека поглощают НЖК + МЖК в пальмитиновых и олеиновых лигандных ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза, а ННЖК + ПНЖК в линолевых и линоленовых ЛПОНП при апоВ-100 эндоцитозе.

Последовательный перенос одним апоВ-100 вначале ПЖК + МЖК и далее ННЖК + ПНЖК у человека является причиной того, что нарушение переноса и рецепторного поглощения клетками НЖК + МЖК блокирует поглощение клетками ННЖК + ПНЖК. Патология переноса в ЛП и поглощения клетками НЖК + МЖК понижает «биодоступность» для клеток ПНЖК, которые в физиологических количествах содержат в плазме крови ЛПНП; однако они не формируют апоВ-100 лиганд. Клетки не могут поглотить безлигандные ЛПНП; в крови такие ЛПНП становятся «биологическим мусором». Следовательно, у человека избыток в пище Пальм НЖК нарушает перенос в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП и поглощение клетками НЖК + МЖК; вторично это формирует блокаду поглощения клетками ННЖК + ПНЖК.

Патофизиологические основы формирования атероматоза интимы артерий эластического типа

Если в пище афизиологично высоко содержание НЖК, главным образом Пальм, это нарушает физиологичное поглощение клетками НЖК + МЖК; вторично

при этом блокировано поглощение клетками ННЖК + ПНЖК. Афизиологичное накопление (ретенция) в крови вначале пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП и далее линолевых, линоленовых и пальмитиновых ЛПНП является причиной: а) ГЛП с повышением концентрации в плазме крови ТГ, ХС и б) деструктивного, воспалительного поражения интимы артерий эластического типа по типу атероматоза (накопление в интимае поли-ЭХС) и атеротромбоза (наличие *in situ* много и ТГ). Полагаем, что основу патогенеза синдрома атеросклероза составляет дефицит в клетках ПНЖК по причине выраженного снижения «биодоступности» их для клеток.

Атеросклероз развивается во всех клетках *in vivo*, которые испытывают дефицит ПНЖК, по причине нарушения: а) синтеза биологически активных, гуморальных медиаторов (эйкозаноидов) и б) наличия аминофосфолипидов (фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин) в составе плазматических мембран. Это нарушает функцию каждой из клеток *in vivo*, каждого паракринно регулируемого сообщества, органов и эндотелийзависимую вазодилатацию, филогенетически раннюю гуморальную регуляцию артериол мышечного типа. Накопление ПНЖК в форме поли-ЭХС в цитозоле оседлых макрофагов интимы, в пуле сбора и утилизации «биологического мусора» из внутрисосудистой среды, формирование «пенистых» клеток — это патофизиологичный процесс атероматоза. Атеросклероз и атероматоз — разные процессы. При нарушении биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии, при избытке в пище пальмитиновой НЖК в первую очередь возрастает содержание в крови ТГ и позже спирта ХС.

Далее при активации Толл-подобных рецепторов, функции нейтрофилов, опсонизации безлигандных ЛПНП компонентами комплемента клетки моноцита эндотелия, реализуя биологическую реакцию транскрипции, выводят безлигандные ЛПНП со всеми ПНЖК в интиму артерий. Физиологично интима — локальный пул сбора и утилизации «биологического мусора» из внутрисосудистой среды. Утилизируют ЛПНП оседлые макрофаги интимы; они функционируют с ранних ступеней филогенеза, когда клетки поглощали ПНЖК только пассивно из ЛПВП. Макрофаги интимы поглощают безлигандные ЛПНП как макромолекулы белка через сквенджер-рецепторы, рецепторы-мусорщики.

Гибель пенистых клеток по типу некроза запускает в интимае деструктивно-воспалительный процесс по типу атероматоза или атеротромбоза. Определено это тем, сколь высоко содержание триглицеридов в безлигандных ЛПНП; если в пище избыток Пальм НЖК, в безлигандных ЛПНП остается много ТГ. Они формируют в интимае мягкие, склонные к разрыву бляшки; это и дало основание назвать поражение интимы по типу атеротромбоза. Если в безлигандных ЛПНП мало ТГ, в интимае артерий они формируют деструктивно-воспалительное поражение по типу атероматоза: бляшки, сформированные из поли-ЭХС, редко подвержены разрыву.

Основа патогенеза атеросклероза состоит в том, что ПНЖК, которые столь необходимы каждой из клеток, оказываются в пуле сбора и утилизации «биологического мусора» в интиме артерий. ПНЖК каждый день превращаются в атероматозные массы, стенозируя при этом просвет артерий.

Атероматоз не развивается в печени, в оседлых макрофагах Купфера, хотя они поглощают, выводя из кровотока, тоже много безлигандных ЛПНП. Происходит это в силу того, что инсулинзависимые, оседлые макрофаги Купфера являются филогенетически поздними, функционально совершенными клетками, которые специализированы и анатомически. Макрофаги Купфера располагаются в субэндотелиальных пространствах Диссе, которые имеет только печень. В них оседлые макрофаги контактируют с монослоем фенестрованного эндотелия, который локализован на перфорированной базальной мембране. При этом макрофаги Купфера непосредственно в пространствах Диссе, в синусоидальных, обменных капиллярах контактируют с плазмой крови. Для реализации ими сквенджер-эндоцитоза безлигандных ЛПНП не нужна биологическая реакция трансцитоза через монослой эндотелия. Инсулинзависимые, филогенетически поздние макрофаги Купфера имеют на мембране апоВ-100 рецепторы, а в лизосомах — кислые гидролазы для поли-ЭХС. Вместе с тем, пока нет лекарственного препарата, который бы активировал сквенджер-эндоцитоз макрофагами Купфера безлигандных ЛПНП.

Патофизиологические основы гиполипидемической терапии и действия гиполипидемических препаратов

Гиполипидемическую терапию в клинике применяют для того, чтобы: а) понизить (нормализовать) в плазме крови и межклеточной среде содержание ЖК в неполярных липидах, которые переносят ЛПОНП и ЛПНП; в) сформировать в крови лигандные пальмитиновые, олеиновые ЛПОНП и линолевые, линоленовые ЛПНП и г) восстановить рецепторное поглощение лигандных ЛПОНП через апоЕ/В-100 рецепторы и лигандных ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза. Гиполипидемические препараты «призваны» действовать таким образом, чтобы: а) все секретированные гепатоцитами пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП сформировали апоЕ/В-100 лиганд; б) все образованные в крови линолевые и линоленовые ЛПНП сформировали апоВ-100 лиганд и в) все ЛП активно поглощали клетки. Следовательно, все гиполипидемические препараты действуют по единому алгоритму, добиваясь единой цели — нормализации активного поглощения клетками НЖК+МЖК+ННЖК и ПНЖК. Однако механизмы действия препаратов разные.

Различие гиполипидемического действия фармпрепаратов в системе липопротеинов

Как же получается, что, действуя разными механизмами, гиполипидемические препараты осуществляют

единое действие? И есть ли такие препараты, которые избирательно воздействуют на поглощение клетками НЖК+МЖК+ННЖК и ПНЖК?

Гиполипидемическими препаратами являются: 1. статины; 2. фибраты; 3. пробукол; 4. ингибиторы белка, переносящего эфиры холестерина; 5. ω-3 эссенциальные ПНЖК; 6. глицазоны; 7. сорбенты — квестраны; 8. ингибиторы панкреатической липазы; 9. эстрогены; 10. никотиновая кислота; 11. ω-6 С18:2 линолевая, ω-3 С18:3 α-линоленовая ННЖК, α-липоевая циклическая тио-ЖК, С14:0 миристиновая НЖК, а также соки плодов растений с высоким содержанием кверцетина. Гиполипидемическое действие проявляет и инсулин. Действуют они по-разному, в разной мере, но по единому алгоритму. В конечном итоге, все они усиливают рецепторное поглощение клетками физиологических экзогенных и эндогенно синтезированных клетками ЖК в составе ЛПОНП и ЛПНП. На рисунке 3.1 отображено наше схематичное представление о системе ЛП, которое не в полной мере соответствует общепринятому, начиная со структуры ЛП. АпоВ-100 липопротеины, мы полагаем, является деформированным в гидратированной среде бислоем белок : липид.

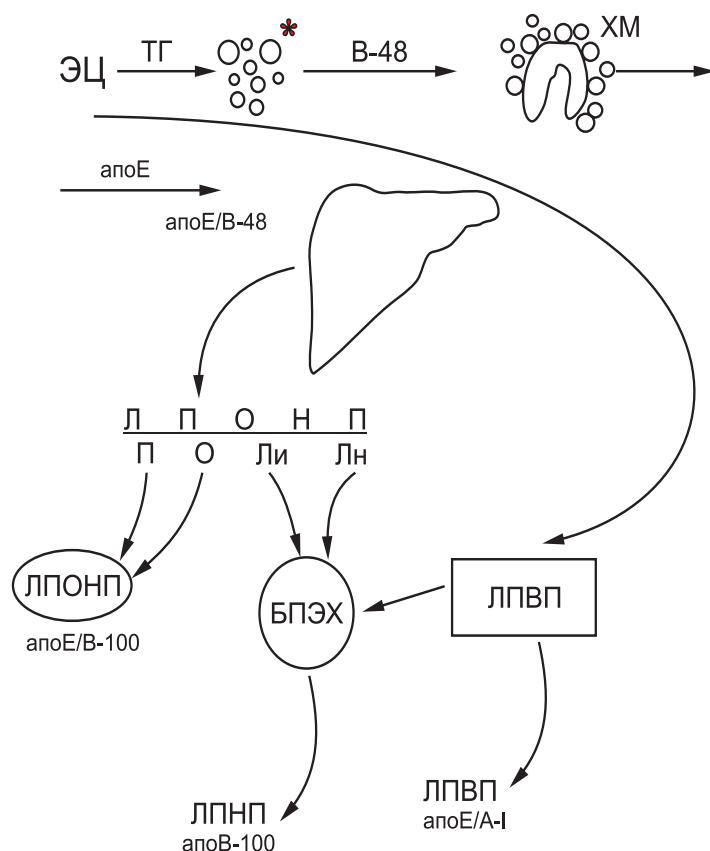


Рис. 3.1. Активное, рецепторное поглощение гепатоцитами НЖК+МЖК, активный эндоцитоз НЖК+МЖК и два варианта активного поглощения клетками ПНЖК путем апоВ-100 и апоЕ/А-I эндоцитоза

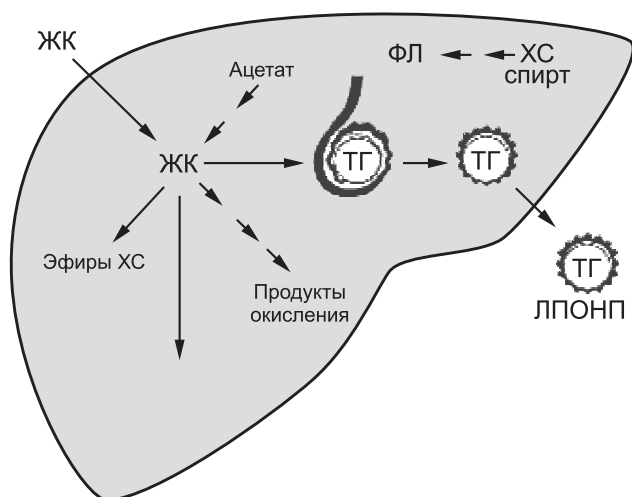


Рис. 3.2. Формирование полярного монослоя из ФЛ и полярного XС на поверхности массы неполярных TG, связанных апоВ-100 в ЛПОНП

Статины. Статины стали гиполипидемическими препаратами по воле «его величества случая». Микробиологи Японии пытались выделить новый антибиотик из розовой плесени, которая в период дождей поражала запасы риса в Индии. Этого не получилось; однако исследователи в США обратили внимание на способность препарата понижать содержание спирта XС в плазме крови человека. Так в клинике появился новый гиполипидемический препарат мевастатин. Далее химически синтезировано несколько поколений статинов, из которых только один (ципрофибрат) был позже изъят из клиники по причине частого побочного действия; гидрофобность молекулы его намного превышала таковую для всех иных статинов.

Приверженцы статинов полагают, что фразы «статины ингибируют синтез клетками спирта холестерина путем блокады ключевого фермента β -гидрокси, β -метил-3-глутарил-КоА-редуктазы» достаточно для объяснения всего. Это не так: на ранних и более поздних ступенях филогенеза *in vivo* сформировалось много локальных, функционально разных пулов спирта XС, и какой же из них ингибируют статины? Почему, пусть нечасто, но развивается побочное действие препаратов? *In vivo* дифференцированы разные пулы XС: реализация клетками биологической функции адаптации, пул синтеза стероидных гормонов, пул XС в переносе его от клеток к гепатоцитам и синтез желчных кислот. И это еще не все пулы, какой же из них ингибируют статины? Статины одновременно понижают в плазме крови содержание XС и TG, XС-ЛПНП и повышают XС-ЛПВП.

Мы полагаем, что статины блокируют в гепатоцитах синтез локального, специфичного пула спирта XС, который предназначен для формирования полярного монослоя липидов при секреции ЛПОНП. Если кормить животных одной глюкозой, они будут синтезировать и секретировать в кровь пальмитиновые и олеиновые

ЛПОНП; масса эндогенных TG в них всегда будет покрыта монослоем ФЛ + полярный XС в отношении $\approx 2:1$. При отсутствии в пище XС для секреции ЛПОНП в кровь стерол облигатно синтезируют гепатоциты *in situ de novo* из уксусной кислоты. Синтез этого-то малого пула холестерина ЛПОНП и ингибируют статины (рис. 3.2).

Гидролиз TG в крови в ЛПОНП сопряжен с «физико-химическими трудностями»; реакция проходит на разделе фаз липид: вода. Постгепариновая ЛПЛ и ее кофактор апоС-II располагаются в гидрофильной плазме крови, а гидрофобный субстрат – TG в ЛПОНП. Разделяет их монослой полярных липидов ФЛ+XС; чем меньше в нем XС, тем более он проницаем, тем доступность субстрата для фермента больше. Чем меньше XС в поверхностном монослое ЛПОНП, тем быстрее проходит липолиз, апоВ-100 принимает активную конформацию (пространственную форму) и в кооперации с апоЕ образует, выставляет на поверхность апоЕ/В-100 лиганд (рис. 3.3). Клетки быстрее поглощают пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП, а линолевые и линоленовые ЛПОНП более быстро, при активации статины липолиза, превращаются в одноименные ЛПНП. И в этом – все действие статинов как гиполипидемических препаратов. Побочное действие начинается, когда одновременно с ингибированием малого пула XС в ЛПОНП статины начинают ингибировать и синтез пула XС биологической функции адаптации. Это афизиологично увеличивает проницаемость плазматических мембран

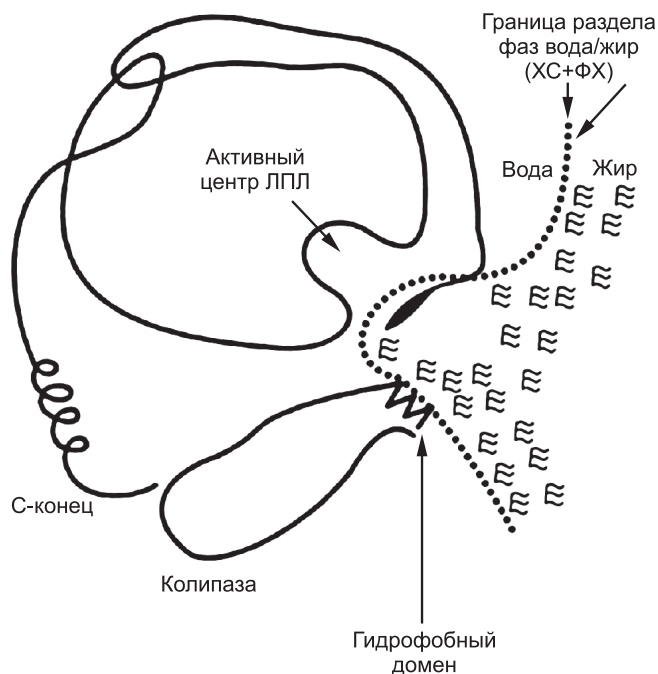


Рис. 3.3. Полярный монослой из ФЛ и XС отделяет постгепариновую ЛПЛ + апоС-II от субстрата гидролиза от субстрата – TG в ЛПОНП

гепатоцитов, скелетных миоцитов и формирует синдром цитолиза — истечение в межклеточную среду цитозоля со всеми органоспецифичными ферментами. В итоге статины активируют поглощение клетками пальмитиновых+олеиновых ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндцитоза, а также поглощение линолевых и линоленовых ЛПНП через апоВ-100 рецепторы. Именно в первую неделю приема статины выражено понижают в плазме крови содержание ТГ.

Фибраты. В отличие от статинов, применение фибратов обусловлено особенностями метаболизма ЖК *in vivo*. В разных регионах мира растительная и экзотическая животная пища может содержать несколько сотен разных ЖК; в метаболизме же ЖК у приматов и человека задействовано не более трех десятков. Все остальные ЖК являются афизиологичными; ЛПОНП к клеткам их не переносят. Таковыми в пище приматов и человека являются: 1. ЖК с нечетным числом атомов углерода; 2. транс-формы МЖК; 3. конъюгированные ННЖК растений с необычным расположением ДС в цепи атомов углерода; 4. очень длинноцепочечные ЖК — С24 и более; 5. ЖК с более чем шестью ДС в цепи; 6. ЖК с разветвленной цепью; 7. дикарбоновые ЖК и 8. ЖК с циклическими кольцами (пяти- и шестичленными) в цепи.

Только гепатоциты поглощают ХМ; они формируются в потоке лимфы и плазме крови при действии апоВ-48; клетки поглощают их активно путем апоЕ/В-48 эндцитоза. После гидролиза ТГ внутриклеточными липазами в гепатоцитах проходят реакции оптимизации ЖК; реализуют их клеточные органеллы — пероксисомы и РАПП на мембране ядра клеток. Активируя одновременно синтез α -, β - и ω -оксидаз, пероксисомы катаболизируют все афизиологичные ЖК. Если образуются фрагменты ЖК, которые можно окислить в митохондриях, члены большого семейства белков, связывающих ЖК в цитозоле, переносят их в митохондрии; последние окисляют их с образованием АТФ. Экспрессируют синтез комплекса оксидаз сами же афизиологичные ЖК пищи; они как агонисты связываются в гепатоцитах на мембране ядра с РАПП. Пальмитиновая НЖК, даже при

избыточном содержании ее в пище, с РАПП не связывается. Одновременно активаторы пероксисом, как ω -3 ПНЖК, инициируют окисление и части экзогенной пальмитиновой НЖК.

Первым синтетическим агонистом РАПП стал клофибрат — этил- α - (п-хлорфенокси) -изобутират, производное масляной С4 масляной ЖК. Это эфир синтетической, циклической С4:0 фиброевой ЖК и изобутилового спирта (рис. 3.4). Все более поздно синтезированные фибраты — это афизиологичные ЖК и их эфиры со спиртами. В кишечнике эстеразы (липазы) поджелудочной железы гидролизуют эфиры синтетических ЖК; энтероциты всасывают фибраты как неэтерифицированные, афизиологичные ЖК, этерифицируя их далее в ТГ; гепатоциты поглощают фибраты в ХМ как афизиологичных ЖК — этерифицированные в ТГ. Фибраты как агонисты РАПП выражено активируют пролиферацию пероксисом, окисление афизиологичных ЖК и избыток экзогенной Пальм НЖК. У крыс при выраженной пролиферации пероксисом может развиваться и гепатомегалия. Биодоступность фибратов, всасывание их энтероцитами являются низкими; дозы фибратов исчисляются граммами в сутки. Полагаем, что *in vivo* пероксисомы призваны катаболизировать все вещества, которые синтезированы из ацетата, включая ЖК, спирт ХС, желчные кислоты, С21, С19 и С18 стероидные гормоны, эйкозаноиды, афизиологичные ЖК с очень длинными цепями ЖК и большим числом ДС, в том числе и избыточное количество в пище ω -3 и ω -6 ПНЖК. Наименьшее количество побочных действий *in vivo* свойственно фенофибрату.

РАПП — группа рецепторов на мембране ядра, которые действуют как факторы транскрипции. Рецепторы реализуют снабжение всех клеток *in vivo* только физиологичными ЖК, реализуя не только биологическую функцию трофологии и гомеостаза, но и биологическую функцию локомоции. Выделено 3 класса РАПП: РАПП- α , РАПП- β (дельта) и РАПП- γ . Пероксисомы и РАПП — в филогенезе первые, которые, хотя и не оптимально, но понижают реализацию *in vivo* малоэффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК и синтеза АТФ.

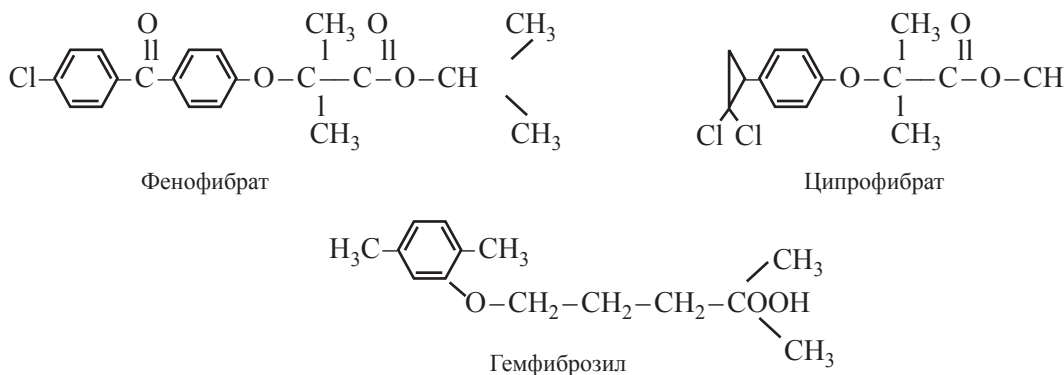


Рис. 3.4. Фибраты — производные фенофибровой кислоты — афизиологичные циклические, синтетические, гидрофобные ЖК и их эфиры со спиртами

Для окисления митохондриями Пальм НЖК характерны низкие каталитические параметры реакции. При увеличении потребности *in vivo* в энергии, в синтезе АТФ, окисление в митохондриях Пальм НЖК не может обеспечить высокую скорость наработки ацетил-КоА. На ранних ступенях филогенеза только активация функции пероксисом и окисления ими части Пальм НЖК — единственный способ *in vivo* увеличить окисление в митохондриях олеиновой МЖК. Кинетические параметры окисления олеиновой МЖК и наработки АТФ в цикле Кребса в десятки раз выше, чем для Пальм НЖК.

РАПП- α экспрессированы в печени, сердце, почках, скелетных миоцитах, адипоцитах подкожной жировой клетчатки. РАПП- β (дельта) синтезируют клетки печени, жировой ткани сальника и кожи. РАПП- γ -1 имеют на мембране ядра клетки всех органов и тканей, включая селезенку, поджелудочную железу и толстый кишечник. РАПП- γ -2 синтезируют инсулинозависимые адипоциты; РАПП- γ -3 имеют макрофаги толстого кишечника и жировые клетки висцеральной РСТ. Действуют фибраты одним механизмом; все они — агонисты РАПП. В зависимости от особенностей питания (индукции субстратом), генетических нарушений эффективность действия фибратов может быть разной. Фибраты: а) активируют в гепатоцитах окисление экзогенной Пальм НЖК; б) уменьшают синтез ТГ с этерифицированными НЖК; в) увеличивают секрецию гепатоцитами олеиновых ЛПОНП и г) активируют поглощение клетками олеиновых и пальмитиновых ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза и д) линолевых и линоленовых ЛПНП и всех ПНЖК через апоВ-100 рецепторы. Конечный итог — фибраты нормализуют (улучшают) поглощение клетками ПНЖК в составе ЛПНП при апоВ-100 эндоцитозе.

Столь же активными агонистами РАПП являются природные вещества — флаваноиды, в частности, кверцетин. Его характеризует действие как радиопротектора, антигистаминного и противоопухолевого препарата. Специфичное действие высокого содержания в пище флаваноидов, таких как кверцетин, именуют «французский парадокс». У французов, которые по сравнению с жителями Средиземноморья, потребляют с пищей больше Пальм НЖК, частота патологии сердечно-сосудистой системы остается тем не менее относительно низкой. Это объясняют наличием в пище больших количеств флаваноидов; особенно много их в красном вине, ярко окрашенных фруктах, гречневой крупе. Они являются лигандами для РАПП, пролифераторами пероксисом, которые из всех физиологичных ЖК активируют окисление в пероксисомах только Пальм НЖК.

Тиазолиденидионы, глитазоны. По химической структуре они сходны с кверцетинами. Препараты быстро оказывали положительное действие на перенос в ЛП и активное поглощение клетками ЖК и глюкозы, улучшая состояние сердечно-сосудистой системы у пациентов с синдромом ИР. Их так и называют — сенситайзеры инсулина; они реально повышают чувствительность кле-

ток к инсулину. В первую очередь гипополидемическое и во вторую — гипогликемическое действие препаратов, как и кверцетина, реализовано как пролифераторов пероксисом, агонистов РАПП на мембране ядра гепатоцитов. Это улучшает потенциальную активность митохондрий в синтезе АТФ, понижает количество Пальм НЖК в ТГ и секретированных пальмитиновых ЛПОНП.

Нормализация переноса в ЛП и активное поглощение клетками всех ЛПОНП позитивно влияет на синдром ИР. Эндокринологи поставили гипогликемическое действие глитазонов впереди гипополидемического; на самом деле все гипогликемические препараты, в первую очередь, являются гипополидемическими. Троглитазон понижает в плазме крови содержание НЭЖК + альбумин, ТГ, глюкозы, инсулина, увеличивает на мембране инсулинзависимых клеток число глюкозных транспортеров 4 (ГЛЮТ-4). Однако самое главное, что глитазоны нормализуют поглощение клетками ПНЖК в поли-ЭХС в составе ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза. Агонистом РАПП является и α -липовая, афизиологичная, циклическая, серосодержащая ЖК, которая оказывает позитивное действие при синдроме ИР.

Пробукол. Молекула пробукола синтезирована как антиоксидант, как «захватчик» активных форм O_2 . Первое же применение его в эксперименте выявило гипохолестеринемическое действие. *In vivo* активность пробукола проявляется только физико-химически; экскреция его с желчью происходит на 98% без каких-либо изменений в молекуле. И только 2% катаболитов пробукола указывает, что он действует как антиоксидант. Если изменить структуру пробукола, гидрофобность его и пространственную форму молекулы, снижение в плазме крови содержания ХС и ХС-ЛПНП становится меньше (рис. 3.5).

Определение физико-химических свойств пробукола показало, что гидрофобность препарата равна той, что и у поли-ЭХС арахидоновой и эйкозапентаеновой ПНЖК. Когда при препаративном ультрацентрифугировании плазмы крови добровольцев выделили ЛПНП, провели их делипидирование и вместо поли-ЭХС «наполнили» пробуколом, фибробласты добровольцев в культуре ткани более активно поглощали полусинтетические, чем нативные ЛПНП. Много лет ранее, используя метод жидкостной хроматографии, мы показали, что 70% пробукола циркулирует в крови в ЛПНП и 30% — в ЛПВП. Когда мы провели такое же определение через 2 месяца после отмены препарата, в крови оставалась половина терапевтической его дозы.

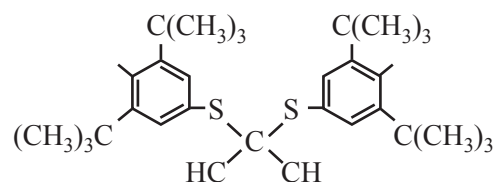


Рис. 3.5. Формула пробукола; препарат оказывает *in vivo* только физико-химическое воздействие

Мы полагаем, что накопление пробуккола происходит в ЛПВП, в которых физиологично проходит переэтерификация ПНЖК из полярных фосфолипидов в неполярные поли-ЭХС. Далее пробуккол и поли-ЭХС при действии БПЭХ переходит из ЛПВП в ЛПНП. Повышение гидрофобности неполярных липидов, связанных с апоВ-100, ускоряет образование активной конформации белка, выставление на поверхность ЛПНП апоВ-100 лиганда и инициирует поглощение клетками ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза. Это и есть основное действие пробуккола, активация поглощения клетками ЛПНП со всеми ПНЖК, которые они переносят. Одновременно препарат усиливает экскрецию с желчью ХС. И опять-таки, по большому счету, пробуккол активирует поглощение клетками ПНЖК, которые проявляют присущее им биологическое действие.

Ω-3 полиеновые жирные кислоты. Увеличение содержания в пище оказывает позитивное действие на этапах переноса и поглощения клетками всех ЖК. Ω-3 ПНЖК *in vivo* с ранних ступеней филогенеза активирует в клетках превращение экзогенной (эндогенной) С16:0 Пальм НЖК в С16:1 пальмитолеиновую МЖК при активации пальмитоил-КоА-десатуразы. Будучи натуральными агонистами РАПП, пролифераторами пероксисом, ω-3 ПНЖК активируют окисление в пероксисомах экзогенной Пальм НЖК. Ω-3 ПНЖК, которые к клеткам переносят ЛПВП в ФЛ: а) повышают ХС-ЛПВП; б) увеличивают в ЛПВП переэтерификацию ПНЖК из полярных ФЛ в неполярные поли-ЭХС; в) активируют (при действии БПЭХ) переход поли-ЭХС из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП; г) ускоряют превращение их в лигандные ЛПНП, которые клетки поглощают апоВ-100 рецепторным эндоцитозом; д) увеличивают поглощение клетками ПНЖК и ж) понижают ХС-ЛПНП.

Биодоступность для клеток ПНЖК снижает (блокирует) высокий уровень в пище Пальм НЖК; для повышения доступности для клеток ω-3 ПНЖК необходимо максимально ограничить содержание ее в пище. Если оно высоко, ПНЖК в поли-ЭХС из ЛПВП перейдут не в линолевые и линоленовые ЛПОНП → ЛПНП, а в пальмитиновые ЛПОНП, которых в кровотоке во много раз больше и которые сформируют афизиологичные пальмитиновые ЛПНП. Далее эти ЛПНП оказываются безлигандными и в интима артерий увеличивают атероматозную массу липидов. Трактовать увеличение содержания ω-3 ПНЖК в плазме крови, в ЛПВП и ЛПНП сложно; то ли это позитивное, повышенное поступление их с пищей; то ли это результат низкой биодоступности для клеток. Согласно Кейтсу, грамм Пальм НЖК блокирует *in vivo* действие 2 г ПНЖК.

Инсулин. Выраженное гипополипидемическое действие проявляет инсулин; биологически это основа его регуляторной активности, обеспечение энергией биологической функции локомоции. Инсулин начал регулировать биологическую функцию локомоции на поздних

ступенях филогенеза, когда регуляция метаболизма глюкозы была давно завершена; для инсулина места не осталось. Биологическая роль инсулина — обеспечение энергией биологической функции локомоции. Инсулин обеспечивает субстратами для наработки энергии все клетки, которые имеют на плазматической мембране рецепторы к инсулину: поперечнополосатые, скелетные миоциты, кардиомиоциты, перипортальные гепатоциты, адипоциты подкожной жировой клетчатки и макрофаги Купфера. При реализации биологической функции локомоции субстратом для наработки клетками энергии являются НЖК + МЖК.

Для реализации биологической функции локомоции, максимальной наработки митохондриями макроэргических АТФ инсулин формирует кинетически эффективный олеиновый вариант метаболизма НЖК + МЖК — субстратов для наработки энергии. Параметры окисления олеиновой МЖК в физико-химических системах являются в десятки раз более высокими по сравнению с Пальм НЖК. Филогенетически поздний инсулин не может уменьшить количество *in vivo* экзогенной Пальм НЖК. Гормон специфично активирует пальмитоилэлонгазу, стеарил-КоА-десатуразу и инициирует превращение всей синтезированной *in situ de novo* (из глюкозы) Пальм НЖК в олеиновую МЖК. Синтез *in vivo* эндогенной олеиновой МЖК увеличивает образование олеиновых ТГ, одноименных ЛПОНП, кинетику гидролиза ТГ, формирование лигандных ЛПОНП, ЛПНП и рецепторное поглощение их клетками. Выраженное гипополипидемическое действие ИНС, понижение уровня ТГ и НЖК+МЖК в форме НЭЖК, ХС-ЛПНП и повышение ХС-ЛПВП проходит в период постпрандиальной ГЛП после приема пищи. Филогенетически поздний инсулин регулирует метаболизм ЖК, блокирует липолиз в инсулинозависимых адипоцитах подкожных жировых депо, поглощение клетками НЖК+МЖК в форме НЭЖК и вынуждает митохондрии окислять ацетил-КоА, образованный из глюкозы. Пока в межклеточной среде и цитозоле клеток есть НЭЖК, они конкурентно ингибируют метаболические превращения в клетках глюкозы, инициируя гипергликемию и гиперинсулинемию. Инсулин биологически призван в первую очередь регулировать метаболизм ЖК и во вторую — метаболизм глюкозы. Действие инсулина и ω-3 ПНЖК является сходным; инсулин активирует превращение эндогенно синтезированной Пальм НЖК в олеиновую МЖК, а ω-3 ПНЖК уменьшают *in vivo* количество экзогенной НЖК.

Блокаторы активности белка, переносящего эфиры холестерина. В последние годы в качестве гипополипидемического препарата стали применять блокаторы БПЭХ. Никто из авторов не излагает механизмы гипополипидемического их действия, указывая, что они блокируют перенос (обмен) ЭХС и триглицеридов между ЛПВП и ЛПНП. Авторы указывают, что БПЭХ нарушает перенос моно-ЭХС, т. е. спирта ХС в форме эфира с олеино-

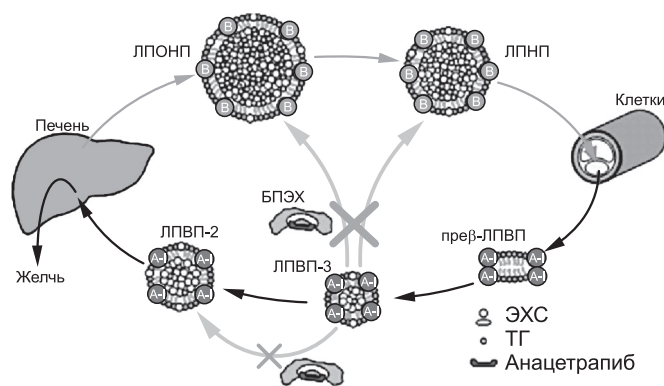


Рис. 3.6. Блокаторы БПЭХ прерывают переход ПНЖК в форме поли-ЭХС из ЛПВП в ЛПНП и активное, apoB-100 поглощение клетками

вой МЖК. Выше изложены наши представления о двух филогенетических способах активного поглощения клетками ПНЖК; филогенетически более раннее поглощение ПНЖК в составе ЛПНП путем apoB-100 эндоцитоза и более позднего apoE/A-I активного поглощения ПНЖК в ЛПВП.

Авторы указывают, что БПЭХ участвует в переносе ЭХС, но никто не уточняет: участвует ли он в переходе от ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП только поли-ЭХС, т.е. этерифицированных спиртом холестерином ПНЖК. БПЭХ является ключевым в поглощении клетками ПНЖК в лигандных ЛПНП при apoB-100 эндоцитозе (рис. 3.6). Одновременно препарат активизирует филогенетически поздний вариант поглощения клетками ПНЖК — в поли-ЭХС в ЛПВП при действии БПЭХ. Поли-ЭХС переходят в линолевые и линоленовые ЛПОНП, превращают их в одноименные лигандные ЛПНП; далее клетки активно поглощают их путем apoB-100 эндоцитоза. Клетки активно поглощают ПНЖК по пути: энтероциты → ЛПВП → переэтерификация из фосфолипидов в поли-ЭХС → переход (при действии БПЭХ) поли-ЭХС из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП → формирование одноименных ЛПНП → apoB-100 эндоцитоз ПНЖК.

Многоэтапный последовательный перенос ПНЖК в apoB-100 ЛПНП блокирует избыточное количество в пище Пальм НЖК, как это изложено выше. Как следствие развивается дефицит в клетках ПНЖК и синдром атеросклероза, а безлигандные ЛПНП, становясь «биологическим мусором», формируют атероматоз интимы артерий. Однако на более поздних ступенях филогенеза, мы полагаем, сформировалось и иное, более стабильное и с меньшим числом этапов активное поглощение клетками ПНЖК по пути: энтероциты → ЛПВП → переэтерификация ПНЖК из полярных ФЛ в неполярные поли-ЭХС → накопление поли-ЭХС в ЛПВП → поглощение клетками ПНЖК в ЛПВП путем → apoE/A-I активного эндоцитоза. Полагаем, что apoE/A-I эндоцитоз ЛПВП

функционирует не только у животных, резистентных к экзогенной гиперхолестеринемии, но и у тех видов, которые к ней чувствительны. Никто, кроме нас, такую возможность не обсуждает. Мы же полагаем, что всегда гиполипидемическое действие блокаторов БПЭХ, понижение ХС-ЛПНП и увеличение ХС-ЛПВП есть следствие нормализации поглощения клетками ПНЖК путем apoE/A-I рецепторном эндоцитозе, однако вероятно не у всех.

Никотиновая кислота. Включение в перечень гиполипидемических препаратов никотиновой кислоты требует пояснения. Все гиполипидемические препараты нормализуют биологическую функцию экзотрофии (питания), биологическую реакцию внешнего питания (экзотрофии), а также иную биологическую функцию эндоэкологии. Действуют они, главным образом, в период постпрандиальной ГЛП после приема пищи. Никотиновая кислота оказывает действие тоже в биологической функции трофологии, но в биологической реакции эндотрофии, вне приема пищи. Она ингибирует липолиз в жировых клетках висцерального депо, на которые не действует инсулин, и в инсулинозависимых адипоцитах подкожной жировой клетчатки в период биологической реакции эндотрофии, когда секреция инсулина в β -клетках островков не происходит. Никотиновая кислота вмешивается в реализацию не только биологической функции трофологии, биологической реакции эндотрофии, но и в биологической функции адаптации; есть много оснований для того, чтобы рассматривать ее действие отдельно. Дело в том, что все гиполипидемические препараты активизируют *in vivo* одни и те же реакции — перенос в ЛП и поглощение клетками ЖК. Никотиновая кислота уменьшает поступление в кровоток НЖК+МЖК в форме НЭЖК с альбумином. Они конкурентно ингибируют окисление в митохондриях ацетил-КоА, образованный из глюкозы.

Гиполипидемическими являются и препараты, которые действуют на ранних этапах биологической реакции экзотрофии, при гидролизе в тонком кишечнике экзогенных липидов и всасывании освобожденных НЭЖК. Поскольку основными участниками этого являются: а) субстрат гидролиза — экзогенные липиды; б) панкреатическая липаза и в) желчные кислоты — эндогенные детергенты; воздействовать можно на каждый из них. Активно энтероциты экзогенный спирт ХС не всасывают; но если концентрация его в кишечнике высока, пассивно, по градиенту концентрации, стерол оказывается в энтероцитах. Холестирамин — ионообменная смола, активно, необратимо связывает полярный ХС, препятствуя пассивному его поглощению. Связывает смола и желчные кислоты; снижение содержания детергента уменьшает гидролиз липидов, всасывание ЖК и увеличивает выведение с калом. Олистар, ксеникал — ингибиторы панкреатической липазы; ингибируя активность фермента, они понижают освобождение из ТГ полярных НЭЖК, уменьшают всасывание ЖК и увеличивают выведение

их с калом. В плазме крови понижается содержание ХС, ТГ, ХС-ЛПНП и увеличивается ХС-ЛПВП. Умеренное снижение этих параметров происходит при увеличении в пище содержания олеиновой МЖК, миристиновой С14:0 НЖК, линолевой и линоленовой ННЖК. ГЛП развивается при высоком содержании в пище пальмитиновой НЖК и транс-форм МЖК.

Можно обоснованно говорить, что гипополипидемические препараты, несмотря на различие в механизмах, действуют по единому алгоритму. Все они, в итоге, нормализуют активное, рецепторное поглощение клетками ПНЖК и восстанавливают их функциональное, регуляторное и структурное действие. Это дает реальные возможности комбинировать гипополипидемические препараты; среди них нет явных лидеров. В этих условиях выбор первого оптимального препарата определяют особенности первичной или вторичной ГЛП и индивидуальные особенности пациента. Атеросклероз, мы полагаем, патология *in vivo* каждой из клеток, которые лишены возможности активно поглощать ПНЖК. Атеросклероз — синдром дефицита в клетках ω -3 и ω -6 ПНЖК. Компенсаторный же синтез биологически активных гуморальных медиаторов (эйкозаноидов) из эндогенной ω -9 С 20:3 дигомо- γ -линоленовой (мидовой) ННЖК наделяет их столь афизиологичными свойствами, что это нарушает активность *in vivo* всех функциональных процессов, функцию каждой из клеток и формирует многоплановую клиническую картину патологии.

Обоснованно полагать, что ни статины, ни иные гипополипидемические препараты не обладают многосторонним, плейотропным действием. Препараты нормализуют активное поглощение клетками ПНЖК; последние же и проявляют присущую им плейотропную активность в каждой из клеток *in vivo*. Ω -3 эйкозаноиды в океане и ω -6 позже на суше. С ранних ступеней филогенеза эйкозаноиды являются основными гуморальными медиаторами метаболизма с уровня паракринно регулируемых сообществ клеток; это на миллионы лет опережает регуляцию функции органов и систем органов *in vivo*.

Список литературы

1. Амелюшкина В.А., Рожкова Т.А., Титов В.Н. Пальмитиновый и олеиновый варианты метаболизма жирных кислот. Экзогенный синдром резистентности к инсулину при нарушении биологической функции питания (трофологии) // *Клин. лаб. диагностика*. 2013; 7: 3.
2. Ариповский А.В., Титов В.Н. Физиология среднепечочечных жирных кислот, особенности метаболизма и применение в клинике // *Клин. лаб. диагностика*. 2013; 6: 3.
3. Добрецов Г.Е., Дергунов А.Д. Пространственная структура дискоидальных липопротеинов высокой плотности // *Биол. мембраны*. 2001; 18 (5): 339.
4. Колчанов Н.А., Воевода М.И., Кузнецова Т.Н., Мордвинов В.А., Игнатьева Е.В. Генные сети липидного метаболизма // *Бюлл. СО РАМН*. 2006; 2: 29.
5. Кухарчук В.В., Малышев П.П., Мешков А.Н. Семейная гиперхолестеринемия: современные аспекты диагностики, профилактики и лечения // *Кардиология*. 2009; 49: 76.

6. Поляков Л.М., Панин Л.Е. Аполипопротеин Е: структура и функции // *Успехи совр. биологии*. 1998; 118 (6): 743.
7. Творогова М.Г., Васин П.В., Рожкова Т.А., Кухарчук В.В., Титов В.Н. Липидный состав липопротеинов высокой плотности при наследственных гиперлипопротеинемиях // *Вопросы мед. химии*. 1998; 44 (5): 452–458.
8. Титов В.Н. Атеросклероз — проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и эндозологии // *Успехи совр. биологии*. 2009; 129 (2): 124.
9. Титов В.Н. Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище — основная причина повышения холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий // *Атеросклероз и дислипидемии*. 2012; 3: 48.
10. Титов В.Н. Атеросклероз и артериолосклероз — патология проксимального и дистального отделов артериального русла / Изданная рукопись. М., 2010: 424 с.
11. Титов В.Н. Единение физико-химического и биологического действия спиртов глицерина и холестерина в поглощении клетками жирных кислот. Особенности патогенеза «метаболических пандемий» // *Клин. лаб. диагностика*. 2013; 1: 3.
12. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз // М.: ИНФРА-М, 2014: 236 с.
13. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий. Сахарный диабет // М.: ИНФРА-М, 2014: 222 с.
14. Титов В.Н., Востров И.А., Ширяева Ю.К., Каба С.И. Становление в филогенезе липопротеинов низкой, очень низкой плотности и инсулина. Липотоксичность жирных кислот и липидов. Позиционные изомеры триглицеридов // *Успехи совр. биологии*. 2012; 132 (5): 516.
15. Annema W., Dikkers A., Freark de Boer J., Gautier T., Gautier T., Rensen P.C., Rader D.J., Tietge U.J. ApoE promotes hepatic selective uptake but not RCT due to increased ABCA1-mediated cholesterol efflux to plasma // *J. Lipid. Res.* 2012; 53 (5): 929.
16. Bestel C., Heinrich K., Rohrer L., Doerries C., Riwanto M., Shih D.M., Chroni A., Yonekawa K., Stein S. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease // *J. Clin. Invest.*, 2011; 121 (7): 2693.
17. Bestel C., Luscher T.F., Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of high-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease // *EMBO Mol. Med.* 2012; 4: 251.
18. Crook M.A. A place for assaying serum apolipoprotein AI and B? // *Ann. Clin. Biochem.* 2011; 48 (5): 485.
19. Demignot S., Beilstein F., Morel R. Triglyceride-rich lipoproteins and cytosolic lipid droplets in enterocytes: Key players in intestinal physiology and metabolic disorders // *Biochimie*. 2013; 96: 48.
20. Dmitriev L.F., Titov V.N. Lipid peroxidation in relation to ageing and the role of endogenous aldehydes in diabetes and other age-related diseases // *Ag. Res. Rev.* 2010; 9 (2): 200.
21. Fujiwara S., Amisaki T. Fatty acid binding to serum albumin: molecular simulation approaches // *Biochim. Biophys. Acta*. 2013; 1830 (12): 5427.
22. Goldberg I.J., Bornfeldt K.E. Lipids and the endothelium: bidirectional interactions // *Curr. Atheroscler. Rep.* 2013; 15 (11): 365.
23. Hoofnagle A.N., Heinedie J.W. Lipoproteomics: using mass spectrometry-based proteomics to explore the assembly, structure, and function of lipoproteins // *J. Lipid. Res.* 2009; 50 (10): 1967.
24. Hopkins P.N. Molecular biology of atherosclerosis // *Physiol. Rev.* 2013; 93 (3): 1317.
25. Hussain M.M., Rava P., Walsh M., Rana M., Iqbal J. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein // *Nutr. Metab.* 2012; 9: 14.

26. Jensen M.K., Rimm E.B., Furtado J.D., Sacks F.M. Apolipoprotein C-III as a Potential Modulator of the Association Between HDL-Cholesterol and Incident Coronary Heart Disease // *J. Am. Heart. Assoc.* 2012; 1 (2): 232.
27. Karupaiah T., Sundram K. Modulation of human postprandial lipemia by changing ratios of polyunsaturated to saturated (P/S) fatty acid content of blended dietary fats: a cross-over design with repeated measures // *Nutr. J.* 2013; 12 (1): 122.
28. Koivuniemi A., Sysi-Aho M., Oresic M., Ollila S. Interfacial properties of high-density lipoprotein-like lipid droplets with different lipid and apolipoprotein A-I compositions // *Biophys. J.* 2013; 104 (10): 2193.
29. Kontush A., Lhomme M., Chapman M.J. Unraveling the complexities of the HDL lipidome // *J. Lipid. Res.* 2013; 54 (11): 2950.
30. Maiga S.F., Kalopissis A., Chabert M. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animals and clinical outcomes // *Biochimie.* 2014; 96: 56.
31. Martinez L.R., Santos R.D., Miname M.H., Deus D.F., Lima E.S., Maranhão R.C. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia // *Metabolism.* 2013; 62 (8): 1061.
32. Nakajima K., Nakano T., Tokita Y., Nagamine T., Inazu A., Kobayashi J., Mabuchi H., Stanhope K.L., Havel P.J., Okazaki M., Ai M., Tanaka A. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons // *Clin. Chim. Acta.* 2011; 412 (15–16): 1306.
33. Namayandeh S.M., Kaseb F., Lesan S. Olive and sesame oil effect on lipid profile in hypercholesterolemic patients, which better? // *Int. J. Prev. Med.* 2013; 4 (9): 1059.
34. Ng T.W., Ooi E.M., Watts G.F., Chan D.C., Barrett P.N. Effect of fenofibrate and atorvastatin on VLDL apoE metabolism in men with the metabolic syndrome // *Curr. Opin. Lipidol.* 2010; 21 (2): 141.
35. Niesor F.J., Magg C., Ogawa N., Okamoto H., von der Mark E., Matile H., Schmid G. Modulating cholesteryl ester transfer protein activity maintains efficient pre-beta-HDL formation and increases reverse cholesterol transport // *J. Lipid. Res.* 2010; 51 (12): 3443.
36. Palm W., Sampaio J.L., Brankatschik W., Carvalho M., Mahmoud A.J., Eaton S. Lipoproteins in *Drosophila melanogaster* – assembly, function, and influence on tissue lipid composition // *PLoS Genet.* 2012; 8 (7): 100.
37. Rajagopal G., Suresh V., Sachan A. High-density lipoprotein cholesterol: How High // *Indian. J. Endocrinol. Metab.* 2012; 16, Suppl. 1: 236.
38. Ramasamy I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 12: 1.
39. Redondo S., Martinez-Gonzalez J., Urraca C., Tejerina T. Emerging therapeutic strategies to enhance HDL function // *Lipids. Health. Dis.* 2011; 10 (10): 175.
40. Saito H., Dhanasekaran P., Nguyen D., Holvoet P., Lund-Katz S., Phillips M.C. Domain structure and lipid interaction in human apolipoproteins A-I and E, a general model // *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 23227.
41. Siebel A.L., Natoli A.K., Yap F.Y., Carey A.L., Reddy-Luthmoodoo M., Sviridov D., Weber C.I. Effects of high-density lipoprotein elevation with cholesteryl ester transfer protein inhibition on insulin secretion // *Circ. Res.* 2013; 1113 (2): 167.
42. Sugiuchi H., Matsushima K., Akiyoshi Y., Maeds K., Ando Y. Development of the HDL-C and LDL-C direct methods and the subsequent evolution // *Rinsho. Byori.* 2012; 60 (7): 632.
43. Titov V.N. Conformation of apolipoprotein B-100, structure of low density lipoproteins (LDL), and LDL functional classification: a review // *Biochemistry.* 1996; 61 (1): 1.
44. Titov V.N. Formation of biological function of locomotion and insulin system in phylogenesis: biological basis of hormone action // *Biol. Bull. Rev.* 2012; 2 (4): 318.
45. Titov V.N. Role of cholesterol esters in triglyceride transport // *Biochemistry.* 1995; 60 (9): 1045.
46. Tomkin G.H., Owens D. The chylomicron: relationship to atherosclerosis // *Int. J. Vasc. Med.* 2012; 2012: 78.
47. Usa S., Spolitu S., Angius F., Collu M., Accossu S., Banni S., Murru E., Sanna F., Batetta B. Role of HDL in cholesteryl ester metabolism of lipopolysaccharide-activated P388D1 macrophages // *J. Lipid. Res.* 2013; 54 (11): 3158.
48. Wang H., Eckel R.H. Lipoprotein lipase: from gene to obesity // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 297 (2): E271.
49. Watanabe S., Tsuneyama K. Eicosapentaenoic acid attenuates hepatic accumulation of cholesterol esters but aggravates liver injury and inflammation in mice fed a cholate-supplemented high-fat diet // *J. Toxicol. Sci.* 2013; 38 (3): 379.
50. Welty F.K. How do elevated triglycerides and low HDL-cholesterol affect inflammation and atherothrombosis? // *Curr. Cardiol. Rep.* 2013; 15 (9): 400.
51. Ye D., Lammers B., Zhao Y., Meurs I., van Berkel T.J., van Eck M. ATP-binding cassette transporters A1 and G1, HDL metabolism, cholesterol efflux, and inflammation: important targets for the treatment of atherosclerosis // *Curr. Drug. Targets.* 2011; 12 (5): 647.
52. Zhao C., Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism. *J. Endocrinol.* 2010; 204: 233.

РОЛЬ ВИТАМИНА D И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ И СОВРЕМЕННЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ

В. В. ДОРОФЕЙКОВ¹, Л. В. ШИРИНЯН², И. Е. ЗАЗЕРСКАЯ²

¹ Лаборатория биохимии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН

² НИЛ репродукции и здоровья женщины Института перинатологии и педиатрии ФМИЦ им. В. А. Алмазова

Резюме. Витамин D является частью сложной гормональной системы, участвуя не только в костном метаболизме, но и в многочисленных физиологических процессах, оказывая влияние на репродуктивную и иммунную системы. В настоящем обзоре обобщены современные представления о распространенности дефицита витамина D и его связи с неблагоприятным течением беременности: невынашиванием, гестационным диабетом, преэклампсией, инфекционными заболеваниями. Обсуждается оптимальный уровень насыщения организма витамином D во время беременности и возможности лабораторной диагностики гиповитаминоза.

Ключевые слова: невынашивание, концентрация витамина D (ОН) в крови, холекальциферол.

VITAMIN D AND ITS METABOLITS IN PREGNANCY: PATHOGENETIC ROLE AND MODERN METHODS OF LABORATORY CONTROL

V.V. DOROFEIKOV¹, L.V. SHIRINIAN², I.E. ZAZERSKAYA²

¹ Biochemical laboratory, D. O. Ott Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology North-West Department of Russian Medical Sciences Academy

² Scientific Research Laboratory of reproduction and women's health, Institute of Perinatology and Pediatrics, V. A. Almazov Federal Medical Research Center

Summary. Vitamin D is part of a complex hormonal system, participating not only in bone metabolism, but also in numerous physiological processes and affecting the reproductive and immune systems. This review summarizes the current ideas about the prevalence of vitamin D deficiency and its association with adverse pregnancy: miscarriage, gestational diabetes, preeclampsia, infectious diseases. The optimal level of saturation of the organism with vitamin D during pregnancy and the possibility of laboratory diagnosis of hypovitaminosis are discussed.

Keywords: miscarriage, blood concentration of vitamin D (OH), cholecalciferol.

Данные для корреспонденции

Дорофейков Владимир Владимирович — д. м. н., зав. лабораторией биохимии с клинико-диагностическим отделением НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3, e-mail: vdorofeykov@ya.ru

Дефицит витамина D в настоящее время является распространенным состоянием во всем мире, приобретает не только медицинское, но и медико-социальное значение. По данным ряда исследователей [1, 2, 3], от 30 до 70% людей в популяции живут в условиях дефицита витамина D. Гиповитаминоз D приводит к ряду хронических заболеваний зрелого возраста (сахарный диабет, ожирение, онкологические заболевания) [2]. Доказано, что гиповитаминоз D широко распространен и среди женщин репродуктивного возраста [1, 3, 4]. Многочисленные исследования доказывают взаимосвязь между дефицитом витамина D и осложнениями беременности: преждевременными родами, анемией, преэклампсией, развитием гестационного сахарного диабета, бактериального вагиноза [5, 6, 7, 8, 9].

Хорошо известны «классические» функции витамина D — участие в метаболизме костной ткани [10]. «Неклассическое» действие витамина D реализуется по-

средством связи с рецептором к витамину D (VDR). Известно более 30 тканей человека, которые экспрессируют рецептор к витамину D (VDR) и способны взаимодействовать с его метаболитами: 1,25 (ОН)₂ D и 25 (ОН) D [14]. VDR определяются в гипоталамусе, гипофизе, яичниках, матке, маточных трубах, молочных железах и плаценте, где метаболиты витамина D действуют как регуляторы имплантации, клеточной пролиферации, дифференцировки клеток и секреции ряда гормонов, продуцируют цитокины и участвуют в иммунном ответе на инфекцию [11, 12]. Активация противовоспалительного иммунитета ограничена, если VDR-рецепторы заблокированы или концентрация 25 (ОН) витамина D в сыворотке является недостаточной. Витамин D называют одним из «регуляторов» женской репродуктивной функции [13]. Дефицит витамина D ассоциируется с бактериальным вагинозом, преэклампсией, нарастанием резистентности к инсулину, гестационным

сахарным диабетом и нарушением сократительной активности матки, приводящим к операции кесарева сечения [5, 6, 7, 8, 9]. У женщин с ожирением были обнаружены значительно более низкие уровни витамина D, чем у пациенток с нормальным индексом массы тела [3].

Влияние витамина D на репродукцию было изучено в экспериментальных работах на животных. У самок крыс с дефицитом витамина D было выявлено снижение уровня рождаемости, нарушение развития потомства [14, 15]. В 2012 г. В. Rudick и S. Ingles (Нью-Йорк) выполнили исследование, целью которого являлась оценка взаимосвязи между уровнем витамина D и результатами цикла ЭКО. У женщин европеоидной расы вероятность беременности после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) уменьшается со снижением уровня витамина D (от 51% среди тех, у кого уровень витамина D соответствовал норме (> 30 нг/мл), до 44% при недостаточном уровне (20–30 нг/мл) и 19% с дефицитом витамина D (менее 20 нг/мл)). Среди женщин азиатской расы уровень витамина D был обратно пропорционален успеху ЭКО [16]. В других исследованиях было показано, что у женщин с более высоким уровнем 1,25 (ОН)₂ D или 25 (ОН) D в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости вероятность наступления беременности при применении ВРТ выше по сравнению с женщинами с дефицитом витамина D в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости [17, 18, 19]. Однако А. Aleyasin, G. M. Anifandis и соавторы не получили каких-либо отличий в качестве эмбрионов среди пациенток с низким (менее 50 нмоль/л) и умеренным (50–75 нмоль/л) уровнем 25 (ОН) D в фолликулярной жидкости [20, 21]. Evans и соавт., 2004; Viganò et al., 2006 указывают на взаимосвязь между уровнем витамина D и маркерами эмбрионального качества, на основании чего эти исследователи делают вывод об активном участии витамина D в формировании качества эмбрионов и их выживаемости. В ряде исследований низкий уровень витамина D был отмечен как фактор неблагоприятного исхода беременности и бесплодия [22, 23]. Другие работы демонстрируют ассоциацию между низким уровнем витамина D с увеличенным риском невынашивания беременности [24, 25]. Результаты исследования, проведенного в Санкт-Петербурге в 2013 году, показали, что дефицит 25-ОН витамина D выявлен у 48% женщин с угрозой прерывания беременности в основной группе, по сравнению с 11,4% пациенток с физиологически протекающей беременностью, что позволяет предположить возможную роль витамина D в невынашивании беременности, поскольку распространенность дефицита витамина D в группе с угрозой прерывания в I триместре в 4,3 раза выше, чем у женщин с физиологическим течением беременности [26]. В исследовании А. D. Gernand и соавт. (n = 2048) измеряли уровень 25 (ОН) витамина D до 26 недель беременности. В 240 случаях при концентрации витамина менее 50 нмоль/л была выявлена плацентарная недостаточность, в том числе инфаркт,

гипоксия, децидуальная васкулопатия или тромбоз сосудов плода. Последующий анализ показал, что при беременности плодом женского пола сосудистая патология приводила к рождению маловесных детей, когда у беременной уровень 25 (ОН) D был менее 30 нмоль/л. Такой связи не наблюдалось при концентрации 25 (ОН) витамина D более 30 нмоль/л или у плодов мужского пола, независимо от 25 (ОН) D-статуса беременной [25]. В США в 2004–2006 гг. проведено многоцентровое исследование, целью которого явилось определение ассоциации между концентрацией материнского 25-(ОН) витамина D и преждевременными родами в сроки менее 35 недель при многоплодных беременностях. Преждевременные роды произошли у 49,4% женщин с концентрацией 25 (ОН) D менее 75 нмоль/л. Аналогичные ассоциации наблюдались при изучении преждевременных родов в сроки менее 32 недель беременности и после токолитической терапии [24]. Риск преждевременных родов доказан и на достаточно большом количестве наблюдений (n = 4225) в США (2004–2009 года). В первом триместре беременности дефицит витамина D являлся более распространенным у женщин, которые имели спонтанные преждевременные роды в анамнезе. Распространенность дефицита витамина D в первом триместре 25 (ОН) D менее 50 нмоль/л была выше у женщин, которые впоследствии доставлены с преждевременными родами, по сравнению с контролем. Нормальный уровень витамина D был выявлен у 73% беременных женщин, родивших в срок [27]. Приведенные данные свидетельствуют о многогранном влиянии метаболитов витамина D на течение беременности. Очевидно, что имплантация, развитие зародыша и некоторые гестационные осложнения (невынашивание, преэклампсия, нарушение сократительной активности матки) связаны с дефицитом витамина D, поэтому актуальным вопросом для обсуждения являются трудности лабораторной диагностики и верификация диагноза между нормой, недостаточным уровнем и дефицитом витамина D.

Референсным методом определения витаминов, в том числе и витамина D служит высокоэффективная жидкостная хроматография с последующей масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). Метод требует высокой квалификации персонала, наличия дорогостоящей аппаратуры и особо чистых реактивов, достаточно трудоемок. Поэтому в большинстве клинико-диагностических лабораторий используют методы с применением иммунохимического принципа. Чаще концентрацию 25 (ОН) витамина D в сыворотке крови определяют методами конкурентного белкового связывания с использованием антител. Концентрация 25 (ОН) витамина D у большинства людей, по данным разных лабораторий, варьирует от 5 до 80 нг/мл. У людей, подвергающихся интенсивному солнечному облучению, концентрация 25 (ОН) D может достигать 150 нг/мл без какого-либо отрицательного влияния на обмен кальция. Те методы, в которых перед оценкой связывания проводят хроматографию

ческое разделение определяемых соединений, часто дают более низкие показатели нормы. Это, вероятно, объясняется тем, что белок связывает и другие метаболиты витамина D. Проблемы стандартизации лабораторных тестов по определению витамина D (ОН) до конца не решены. Использование моноклональных антител против одновременно (ОН) -производных витамина D₂ и D₃ ведущими производителями лабораторного оборудования («Abbott», «Siemens», «Roche»), а также использование автоматизированных иммунохимических методик способствует улучшению качества и сопоставимости результатов анализов в последние годы.

Для рутинного измерения концентрации 25 (ОН) D в крови, на наш взгляд, лучше всего использовать автоматизированные методики хемилюминесцентного или электролюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах, например, с помощью автоматизированного иммунохимического анализатора «Architect» (Abbott, США) или аппаратуры фирмы «Siemens» (Германия). Иммунохимический автоматизированный анализ имеет ряд неоспоримых преимуществ перед «плащечным» иммуноферментным анализом:

- нет необходимости накапливать анализируемые пробы, длительность анализа составляет менее 20 минут;
- высокая точность (коэффициент вариации теста ниже 8%);
- практически отсутствует человеческий фактор, хорошая стандартизованность калибровочных и контрольных материалов у ведущих производителей лабораторного оборудования, что позволяет сравнивать результаты пациентов в течение многих месяцев и лет наблюдения.

Методы иммуноферментного анализа используют во многих лабораториях РФ, однако погрешность методики (CV теста) возрастает вдвое при использовании другого планшета даже одной серии того же производителя, а при использовании наборов реагентов разных фирм — еще больше. Даже учитывая более низкую себестоимость данной группы методов, мы считаем необходимым для пациентов использование в клинико-диагностических лабораториях автоматизированных методик иммуноанализа. Преаналитический этап лабораторного анализа имеет важное значение для получения правильных результатов. Желательно кровь сдавать из вены натощак после 8-часового голодания. Витамин D стабилен при хранении проб при комнатной температуре до 72 часов, в холодильнике при 4–6 °С в течение 12 дней. Для транспортировки проб рекомендуется сыворотку или плазму отделить от форменных элементов для предотвращения гемолиза. Замороженные пробы сыворотки при –20 °С могут храниться не менее месяца. Рабочий интервал наиболее популярного в мире теста на витамин D (ОН) фирмы «Abbott» (США), используемый в клинико-диагностических лабораториях НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта и Центра им. В. А. Алмазова, — от 8 до 160 нг/мл (20,0 нмоль/л —

400,0 нмоль/л), предел обнаружения 4 нг/мл, коэффициент вариации теста менее 5% во всем диапазоне измеряемых концентраций аналита. В некоторых лабораториях используют альтернативные единицы измерения — нмоль/л, коэффициент пересчета из нг/мл составляет $\times 2,5 =$ нмоль/л.

Содержание витамина 25 (ОН) D в сыворотке крови меняется в зависимости от сезона года и от потребления витамина D, в том числе в составе витаминных добавок. Однако концентрация 1,25 (ОН)₂ D в сыворотке, по видимому, не зависит ни от сезона, ни от приема витамина D с пищей, ни от воздействия солнечного света. Пока поступление витамина D и концентрация 25 (ОН) D в крови достаточны, метаболические реакции на уровне почечной альфа-гидроксилазы обеспечивают строгую регуляцию уровня 1,25 (ОН)₂ D в крови. Содержание 1,25 (ОН)₂ D в сыворотке крови колеблется от 25 до 75 пг/мл, а период полужизни метаболита в крови — менее 6 часов. Именно поэтому для диагностики гиповитаминоза витамина D целесообразно проводить исследование 25 (ОН) D-производных.

В настоящее время существует определенная несогласованность в терминологии, что называть дефицитом витамина D. Согласно последнему консенсусу эндокринологов (М. F. Holick и соавт., 2011 г.) за нормальный уровень насыщения организма витамином D принята концентрация 25 (ОН) D в сыворотке крови у взрослых 32–50 нг/мл. При его уровне от 20 до 32 нг/мл говорят о недостатке витамина. О выраженном дефиците витамина D можно говорить при уровне 25 (ОН) D в сыворотке крови ниже 20 нг/мл [2].

Мы предлагаем использовать следующую терминологию, используемую в Советском Союзе и России применительно к другим витаминам в течение десятилетий. **Авитаминоз** витамина D — это состояние при концентрации витамина D (ОН) в крови ниже 10 нг/мл. Диапазон сывороточных концентраций витамина D (ОН) от 10 до 20 нг/мл соответствует понятию **гиповитаминоз**. При концентрации 20–30 нг/мл можно говорить о **пониженном содержании** витамина в организме. Нормальное содержание витамина D (ОН) — от 30 нг/мл до 100 нг/мл (более 100 — возможен токсический эффект). При назначении препаратов витамина D лабораторный контроль мы рекомендуем проводить через 2–3 месяца после начала лечения. Выявление беременных с недостаточностью витамина D и своевременная коррекция его уровня с целью профилактики осложнений беременности являются актуальной задачей ассоциаций акушеров-гинекологов в разных странах. Дозы витамина D, содержащиеся в поливитаминных комплексах, часто недостаточны для профилактики и лечения гиповитаминоза. Обзор исследований Кохрановского фонда приводит данные ряда рандомизированных исследований, согласно которым рекомендации о приеме витамина D во время беременности колеблются от 200 МЕ до 5000 МЕ для поддержания в крови концентрации вита-

мина D более 50 нмоль/л (20 нг/мл) [5, 6]. На наш взгляд, лучшие результаты достигаются при комбинировании витамина D с препаратами кальция. В большинстве случаев при назначении препаратов витамина D у взрослых каждые 400 МЕ повышают концентрацию витамина D (ОН) в сыворотке крови на 10 нг/мл, хотя наблюдаются и резистентные формы авитаминоза, например, у носителей ВИЧ-инфекции. Важно также отметить, что при концентрации в крови у младенцев витамина D менее 18 нг/мл всегда обнаруживаются рентгенологические признаки рахита, а у взрослых женщин после 40 лет — признаки остеопороза.

Таким образом, влияние витамина D на течение гестационного процесса не вызывает сомнений. Его недостаточный уровень приводит к ряду осложнений беременности: невынашиванию, гестационному диабету, преэклампсии. Коррекция дефицита витамина D требует назначения оптимальных доз препаратов. Лабораторный контроль уровня 25-ОН-D в сыворотке крови во время беременности следует признать необходимым на этапе планирования беременности или в первом триместре, учитывая распространенность гиповитаминоза витамина D среди беременных женщин, особенно в зимне-весенний период.

Список литературы

1. Ganmaa D., Holick M.F., Rich-Edwards J.W., Frazier A.L., Davaalkham D., Ninjin B., Janes C., Hoover R.N., Troisi R. Vitamin D Deficiency in Reproductive Age Mongolian Women: A Cross Sectional Study // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013 Sep 27. pii: S0960-0760 (13) 00185-4. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.011.
2. Holik M. F., Chen T. C. Vitamin D deficiency a worldwide problem with health consequences. 2008 Apr; 87 (4): 1080S-6S.
3. McAree T., Jacobs B., Manickavasagar T., Sivalokanathan S., Brennan L., Bassett P., Rainbow S., Blair M. North West London Hospital NHS Trust, RNOH NHS Trust, Harrow, UK. 2012 Blackwell Publishing 000 Matern. Child Nutr. Vitamin D deficiency in pregnancy — still a public health issue. 2013 Jan; 9 (1): 23–30. doi: 10.1111/mcn.12014.
4. Miyauchi M., Hirai C., Nakajima H. The solar exposure time required for vitamin d3 synthesis in the human body estimated by numerical simulation and observation in Japan // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Tokyo.* 2013; 59 (4): 257–63.
5. Benachi A., Cordier A.G., Courbebaisse M., Souberbielle J.C. Vitamin D and pregnancy (Article in French). 2013 Oct; 42 (10): 1377–82. doi: 10.1016/j.lpm.2013.07.007. Epub 2013 Sep 18.
6. Bodnar L.M., Krohn M.A., Simhan H.N. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy // *J. Nutr.* 2009; 139: 1157–61.
7. Mannin C.A., Gray-Donald K., Koski K.G. Association of low intake of milk and vitamin D during pregnancy with decreased birth weight // *CMAJ.* 2006; 174: 1287–90.
8. Merewood A., Mehta S.D., Chen T.C., Bauchner H., Holick M.F. Association between vitamin D deficiency and primary cesarean section // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94: 940–5.
9. Zhang C., Qiu C., Hu F.B., David R.M., van Dam R.M., Bralley A., et al. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and the risk for gestational diabetes mellitus // *PLoS One.* 2008; 3: e3753.
10. Brown A.J., Dusso A., Slatopolsky E. Vitamin D // *Am. J. Physiol.* 1999; 277: F157–75.
11. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94: 26–34
12. Norman A.W. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health // *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 88: 491S–9S.
13. Johnson L.E., Deluca H.F. Vitamin D receptor null mutant mice fed high levels of calcium are fertile // *J. Nutr.* 2001; 131: 1787–1791. 19.
14. Halloran B.P., Deluca H.F. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat // *J. Nutr.* 1980; 110: 1573–1580.
15. Kwiencinski G.G., Petrie G.L., Deluca H.F. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat // *J. Nutr.* 1989; 119: 741–744. 53.
16. Rudick B., Ingles S., Chung K., Stanczyk F., Paulson R., and Bendikson K. Characterizing the influence of vitamin D levels on IVF outcomes // *Human reproduction.* 2012; 27 (11): 3321–3327.
17. Evans K.N., Nguyen L., Chan J., Innes B.A., Bulmer J.N., Kilby M.D., Hewison M. Effects of 24-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cytokine production by human decidual cells // *Biol. Reprod.* 2006 Dec; 75 (6): 816–22.
18. Potashnik G., Lunenfeld E., Levitas E., Itskoviz J., Albutiano S., Yankowits N., Sonin Y., Levy J., Glezerman M., Shany S. The relationship between endogenous oestradiol and vitamin D3 metabolites in serum and follicular fluid during ovarian stimulation for in-vitro fertilization and embryo transfer // *Hum. Reprod.* 1992 Nov; 7 (10): 1357–60.
19. Wehr E., Pilz S., Boehm BO., Marz W., Obermayer-Pietsch B. Association of vitamin D status with serum androgen levels in men // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2010; 73 (4): 243–248.
20. Aleyasin A., Hosseini M.A., Mahdavi A., Safdarian L., Fallahi P., Mohajeri M.R., Abbasi M., Esfahani F. Predictive value of the level vitamin D in Follicular fluid on the outcome of assisted reproductive technology // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Bio.* 2011 Nov; 159 (1): 132–7.
21. Anifandis G.M., Dafopoulou K., Messini C.L., Chalvatzas N., Liakos N., Pournaras S. Messinis IE. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2010 Jul 28; 8: 91.
22. Bodnar L.M., Catov J.M., Simhan H.N., Holik M.F., Powers R.W., Roberts J.M. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94: 67–73.
23. Ozkan S., Jindal S., Greenseid K., Shu J., Zeitlian G., Hickmon C., Pal L. Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization // *Fertil. Steril.* 2010; 94 (4): 1314–9.
24. Bodnar L.M., Rouse D.J., Momirova V., Peaceman A.M., Sciscione A., Spong C.Y., Varner M.W., Malone F.D. Obstet Gynecol. Maternal 25-hydroxyvitamin d and preterm birth in twin gestations Department of Epidemiology, University of Pittsburgh Pittsburgh, Pennsylvania 15261, USA. 2013 Jul; 122 (1): 91–8. doi:10.1097/AOG.0b013e3182941d9a.
25. Gernand A.D., Bodnar L.M., Klebanoff M.A., Parks W.T., Simhan H.N. Am J. Clin Nutr. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and placental vascular pathology in a multicenter US cohort. 2013 Aug; 98 (2): 383–8. doi: 10.3945/ajcn.112.05426. 2013 Jun 26.
26. Ширинян Л.В., Васильева Е.Ю., Иванова М.Л. и др. Насыщенность организма витамином D при угрозе прерывания беременности // *Бюллетень ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова.* 2013. № 5. С. 11–17.
27. Baker A.M., Haeri S., Camargo C.A. Jr., Stuebe A.M., Boggess K.A. Am J. Perinatol. A nested case-control study of first-trimester maternal vitamin D status and risk for spontaneous preterm birth. Division of Maternal-Fetal Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Gillings School of Global Public Health, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina 27599-7516, USA. 2011; 28 (9): 667–72. doi: 10.1055/s-0031-1276731. Epub 2011 Apr 15.

**СЕПСИС, ТЯЖЕЛЫЙ СЕПСИС, СЕПТИЧЕСКИЙ ШОК:
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИАГНОЗА, КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ,
ПРИНЦИПЫ И МЕТОДОЛОГИЯ ДИАГНОСТИКИ**

В.К. КОЗЛОВ

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова,
Санкт-Петербургский государственный университет,
Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, Россия

***Аннотация.** В статье основное внимание уделено характеристике сепсиса как особой форме ответа организма на инфекцию, условиям развития сепсиса и предрасполагающим факторам. Детально рассмотрены совокупность клинических диагностических признаков сепсиса и современная система клинико-лабораторных показателей, лежащая в основе алгоритмов оценки тяжести сепсиса при последовательных стадиях развития инфекционного процесса, начиная от местной воспалительной реакции в первичном очаге и до формирования синдрома полиорганной несостоятельности. Охарактеризован синдром системного воспалительного ответа как ключевая категория современной концепции сепсиса, описаны принципы и критерии его оценки, а также методология определения и трактовки стадийности развития системного воспалительного ответа и полиорганной дисфункции. Подчеркнуто значение системной иммунодепрессии, наблюдаемой у септических пациентов, в качестве важнейшего фактора патогенетической прогрессии и эскалации сепсиса до тяжелых клинических форм. Дополнительно рассмотрены вопросы дифференциальной диагностики эндотоксического и бактериально-токсического вариантов шока при разновидностях сепсиса, вызываемых грамотрицательной и грамположительной флорой.*

***Ключевые слова:** сепсис, полиорганная дисфункция/недостаточность, септический шок, звенья патогенеза, системный воспалительный ответ, системная иммунодепрессия, методология и критерии диагностики.*

**SEPSIS, SEVERE SEPSIS, SEPTIC SHOCK: PATHOGENETIC CONSIDERATION OF THE DIAGNOSIS,
CLINICAL INTERPRETATION, PRINCIPLES AND METHODOLOGY OF DIAGNOSTICS**

V. K. KOZLOV

North-West state I. I. Mechnikov medical University, Saint-Petersburg state University,
Novgorod State Ya. Mudry University Russia

***Summary.** The article discusses the sepsis as the specific form of the response to infection, as well as condition and predisposing factors to sepsis development. Detailed description of the clinical and diagnostic signs of sepsis is given, as well as modern system of clinical laboratory indicators, on which the algorithms of sepsis severity evaluation is based. This system can be used in subsequent stages of infectious process development from local inflammatory reaction in primary focus up to the syndrome of multiorgan insufficiency. The syndrome of systemic inflammatory response is characterized. This syndrome is a key category of modern sepsis concept. Also principles and criteria of this syndrome evaluation are given as well as the method of determination and understanding of stages of systemic inflammatory response and multiorgan insufficiency. The article stresses the importance of systemic immune suppression in septic patients and its role as the important factor for further pathogenetic progression and escalation of sepsis up to severe clinical forms. Also the problems of differential diagnosis between endotoxine and bacterial toxic shock variants are discussed in patients with gram-negative and gram-positive related sepsis.*

***Key words:** sepsis, multiorgan disfunction/insufficiency, septic shock, pathogenetic chains, systemic inflammatory response, systemic immune suppression, methodology and diagnosis criteria*

Данные для корреспонденции

Козлов Виктор Константинович, д. м. н., профессор кафедр: клинической лабораторной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова; челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии Санкт-Петербургского государственного университета; микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого, Россия; тел. +7 (911) 775-98-39 (моб.), e-mail: kvk52@mail.ru

Введение

Несмотря на все меры эпидемиологического режима и использование современных антибиотиков, вызываемые нозокомиальными возбудителями госпитальные инфекции продолжают быть одной из основных причин летальных исходов у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии. Эти инфекции диагностируют у пациентов терапевтического, акушерско-гинекологического, хирургического профилей. Частота тяжелого сепсиса в отделениях реанимации и интенсивной терапии повсеместно составляет около 18%, а септического шока — 3–4%. Показатель заболеваемости в настоящее время не имеет тенденции к уменьшению, и заболеваемость госпитальными инфекциями увеличивается год от года на 3–9%. При этом летальность достигает при тяжелом сепсисе 19–40%, а при септическом шоке — 70% [1, 2, 3, 4, 5], и сегодня, в эру антибиотиков, летальность от септических осложнений фактически сравнима с той, которая была отмечена в эру, когда вообще не было антибиотиков.

Показательно, что на протяжении последних двух десятилетий смертность при генерализованных формах госпитальных инфекций — тяжелом сепсисе и септическом шоке также устойчиво не снижается [3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]. Это наблюдается при наличии вроде бы работоспособной концепции сепсиса (концепция системного воспалительного ответа), критериев диагностики его наиболее тяжелых клинических форм и современных высокоэффективных антибиотиков как средств консервативной терапии [2]. Напротив, прослеживается тенденция к увеличению летальности у септических больных (по оценкам В. Г. Бочоришвили и Т. В. Бочоришвили [15] и Ж. А. Ребенка [16] летальность от сепсиса за годы после формулировки консенсуса на Чикагской согласительной конференции возросла как минимум в три раза), что придает проблеме сепсиса особую актуальность.

Инфекционный процесс, при котором развивается то патологическое состояние, которое идентифицируется как сепсис, характеризует ряд особенностей. При сепсисе патологический процесс, инициированный инфекционным очагом в силу неадекватности защитных сил организма (прежде всего систем естественной/неспецифической резистентности), проявляется генерализованной диссеминацией инфекционного начала в условиях нарастающей общей иммунодепрессии, что и приводит в дальнейшем к развитию и углублению полиорганной несостоятельности — развивается тяжелый сепсис [2, 7, 17, 18, 19]. Исходом может быть и септический шок.

В генезе сепсиса наиболее важно то обстоятельство, что организм больного утрачивает способность к локализации и подавлению инфекционных возбудителей и/или нейтрализации их экзо- и эндотоксинов. Одновременно с неадекватностью функционирования механизмов противодействия инфекции и развитием несостоя-

тельности этих механизмов возникают условия для постоянного или периодического (повторного) прорыва возбудителей и их токсинов из естественных резервуаров и/или инфекционных очагов в общий кровоток с развитием системной ответной реакции организма, сопровождаемой генерализацией воспаления. Затем присоединяются прямые, а также опосредованные повреждения жизненно важных органов. Именно с этого момента сепсис становится тяжелым. Тяжесть состояния подобных пациентов определяется темпом развития полиорганной дисфункции [2, 3, 11, 20, 21, 22–24, 25, 26, 27, 28], прежде всего количеством вовлеченных в формирование этого состояния органо-функциональных систем. Прогрессирование этих процессов крайне опасно и существенно повышает риск летального исхода.

Развитие полиорганной дисфункции — узловое звено патогенеза генерализованных форм инфекционных осложнений, знаменующая принципиальную трансформацию клинического состояния больного. При формировании и развитии полиорганной дисфункции, в зависимости от исходного состояния организма (уровня его иммунологической компрометации, особенностей организации систем естественной резистентности, а более широко — биологической реактивности организма), а также от вирулентности возбудителей, происходит выбор принципиально новых алгоритмов биологических программ ответа на экстраординарную ситуацию [2, 29, 30]. Если стратегия ответа неадекватна, то факторы и механизмы защиты становятся агентами повреждения, а состояние пациента должно оцениваться как критическое.

Основной целью написания данной статьи являлось привлечение внимания заинтересованных специалистов к характеристике сепсиса как особой формы ответа организма на инфекцию, условиям развития сепсиса и предрасполагающим факторам. В статье также детально рассмотрены совокупность клинических диагностических признаков сепсиса и современная система клинико-лабораторных показателей, лежащая в основе алгоритмов оценки тяжести сепсиса при последовательных стадиях развития инфекционного процесса, начиная от местной воспалительной реакции в первичном очаге и до формирования синдрома полиорганной несостоятельности. Охарактеризован синдром системного воспалительного ответа как ключевая категория современной концепции сепсиса и описаны принципы и критерии его оценки, а также методология определения и трактовки стадийности развития системного воспалительного ответа и полиорганной дисфункции, а также роль системной иммунодепрессии в патогенезе сепсиса. В плане обоснования принципов диагностики, а также методологии мониторинга тяжести состояния пациентов и прогноза исходов при тяжелом сепсисе и септическом шоке детальному анализу подвергнут вклад системного воспалительного ответа и общей иммунодепрессии в качестве факторов и механизмов патогенетической про-

грессии, которые определяют трансформацию сепсиса до тяжелых клинических форм. Дополнительно рассмотрены вопросы дифференциальной диагностики эндотоксического и бактериально-токсического вариантов шока при разновидностях сепсиса, вызываемых грамотрицательной и грамположительной флорой.

Характеристика сепсиса как особой формы ответа организма на инфекцию.

Клинико-диагностические признаки

Как уже отмечалось, сепсис может развиваться как патологический процесс, сопровождающий различные заболевания, которые клинически или бактериологически расцениваются как инфекционные. Он может быть и осложнением заболеваний, основным звеном патогенеза которых является воздействие травматического фактора — хирургической операции (хирургический сепсис), механической, термической и лучевой травмы. Возможно развитие сепсиса у больных, ослабленных острым или хроническим соматическим заболеванием (терапевтический сепсис). Так как находящийся в брюшной полости кишечник является естественным резервуаром микроорганизмов, которые при определенных условиях (включая заболевания органов брюшной полости) могут преодолевать кишечный барьер, то абдоминальный сепсис выделяют в отдельную клиническую категорию [6, 31, 32]. В связи с этим сепсис нельзя считать отдельной нозологической единицей, эта патология должна расцениваться как вариант осложненного клинического течения инфекционных и неинфекционных болезней [2, 3, 7, 33].

Клиническая картина сепсиса. Клинические проявления сепсиса могут варьировать в достаточно широких пределах: от малозначительных симптомов до крайне тяжелого (критического) состояния, при котором проведение адекватной интенсивной терапии становится вопросом сохранения жизни больного [3, 9, 10, 14, 16, 20, 25, 33, 34, 35]. Запоздалое выявление сепсиса на этапе трансформации в тяжелую клиническую форму чревато необратимыми последствиями, так как прогнозируемая летальность у таких больных превышает 40% [11] (реальная летальность по оценкам некоторых авторов, достигает 80% [1, 7, 16]).

Максимально раннее выявление сепсиса базируется на септической настроженности, внимании к данным тщательно собранной анамнеза и результатам целенаправленного клинического обследования: визуального, объективного — физикального и лабораторного. Необходимо стремиться учесть все возможные проявления сепсиса. Крайне желательно отслеживать динамику выявленных отклонений. Обязательно рассматриваются SIRS-критерии с учетом особенностей лихорадки, симптомов интоксикации, изменений картины крови, размеров печени и селезенки. При этом необходимо характеризовать возможные ворота инфекции, первичные очаги и стремиться к выявлению очагов отсева. Заслу-

живают внимания такие проявления, как геморрагическая сыпь и клинические признаки развития эндотелиальной дисфункции.

Об утяжелении клинической картины сепсиса свидетельствуют следующие процессы: прогрессирующее распространение вторичных метастатических очагов и выраженность органной патологии с манифестацией крайних форм полиорганной дисфункции в форме сердечно-сосудистой, дыхательной, почечной, иммунной недостаточности. При развитии септического шока и ДВС-синдрома риск летального исхода возрастает в два раза, превышая 80% [7].

Следование принципам септической настроженности, ранней диагностики и опережающей терапии в совокупности с тщательным, а при необходимости многократным бактериологическим контролем [8, 16, 33], включая забор крови пациента для исследования на гемокультуру на высоте лихорадочной реакции, обеспечивает своевременное распознавание сепсиса, его благоприятный прогноз и повышает эффективность лечения.

Клиническая картина сепсиса, прежде всего, обусловлена явлениями эндо- (ауто-) токсикоза [6, 16, 36] и обычно проявляется перемежающейся лихорадкой, ознобом, жаром, потливостью, крайне тяжелым общим состоянием пациента. Кратковременное возбуждение сменяется заторможенностью. Кожа бледная, часто с геморрагиями.

Лихорадка является системной реакцией на инфекцию, которая в определенной степени способствует повышению общей резистентности организма. У большинства больных сепсис даже в начале своего развития протекает с повышением температуры, которая может достигать гиперпиректических значений ($> 40^{\circ}\text{C}$). Лихорадку характеризуют большие суточные колебания температуры тела с несколькими пиками, продолжительность которых может достигать нескольких часов [7, 33, 37]. Могут наблюдаться ознобы разной интенсивности, а также мышечная дрожь. Если имеет место критическое снижение температуры, то это сопровождается проливным потом.

При анализе температурных кривых выявляется характерная для сепсиса ремитирующая лихорадка с суточными колебаниями температуры в $1-2^{\circ}\text{C}$. Если развивается септикопиемия со множественными пиемическими очагами, суточные колебания температуры могут достигать $3-4^{\circ}\text{C}$, и лихорадка становится гектической с максимальной температурой в вечернее время. При сепсисе, протекающем с гектической лихорадкой, регистрируется феномен опережающей тахикардии, при котором сердечные сокращения учащаются в большей степени, чем повышается температура. Высокой лихорадке соответствует выраженная интоксикация, на пике повышения температуры состояние больных сепсисом ухудшается, а при снижении температуры улучшается.

У лиц пожилого возраста температурная реакция сглажена, может регистрироваться только субфебриль-

ная температура, но прекращение лихорадочного периода у пожилых людей не всегда свидетельствует о завершении септического процесса. При сепсисе у пожилых людей и у новорожденных детей, а также при сопутствующей уремии и у алкоголиков может регистрироваться гипотермия. Развитие гипотермии у септических больных, которые ранее манифестировали гипертермическую реакцию, прогностически всегда неблагоприятно [7].

Проявления интоксикации. Признаки интоксикации наиболее выражены на высоте лихорадки. При бактериемии в крови накапливаются эндотоксины возбудителей, а также продукты аутолиза клеток и тканей [36, 38], с токсическими эффектами которых связано большинство симптомов. Если сознание больных сохранено, то они жалуются на сильные головные боли, головокружение, упадок сил. Может развиваться рвота. Аппетит отсутствует, характерна бессонница. Некоторые больные могут быть возбуждены, некритичны в оценке своего состояния. Возможны потеря сознания, бред, коматозное состояние. При многодневной лихорадке больные заторможены и у них развивается психическая депрессия. Могут регистрироваться признаки раздражения мозговых оболочек.

Со стороны **картины крови** при сепсисе основные изменения определяются степенью выраженности токсикоза и расстройствами метаболизма. Характерны следующие проявления: лейкоцитоз разной степени выраженности (у некоторых больных в периферической крови определяют $\geq 20 \times 10^9$ /л лейкоцитов), нейтрофилез со сдвигом в сторону незрелых клеточных форм, токсическая зернистость нейтрофилов, появление телец Дале и вакуолизация цитоплазмы. При последующих обследованиях периферической крови количество лейкоцитов не увеличивается, напротив, может иметь место снижение этого показателя — развивается лейкопения ($< 4 \times 10^9$ /л лейкоцитов), что может сопровождаться нейтропенией. Возможно уменьшение содержания лимфоцитов — абсолютная лимфопения ($< 1,2 \times 10^9$ /л лимфоцитов).

С прогрессирующей тромбоцитопенией связаны угроза тромбозов и риск развития ДВС-синдрома [39]. Тенденция к тромбоцитопении часто выявляется уже в ранние сроки развития сепсиса, для более поздних сроков характерна тенденция к анемии. Тромбоцитопения при сепсисе констатируется у 56% больных. Продукция эритроцитов при сепсисе снижена, и анемия наблюдается во всех случаях, причем у 45% больных с сепсисом содержание гемоглобина ниже 80 г/л [7, 40], что прогностически неблагоприятно. На ранних стадиях сепсиса показатели красной крови в качестве критериев оценки тяжести состояния больного и прогноза возможного исхода малоинформативны.

Лимфопения, моноцитоз, анемия средней и тяжелой степени соответствуют клинике сепсиса, для тяжелого сепсиса характерно сочетание лимфопении с моноцитопенией [1, 2, 7, 41, 42, 43].

У пациентов с тяжелым сепсисом интенсифицирован процесс апоптоза лимфоцитов, а также резко снижен процент моноцитов, высоко экспрессирующих HLA-DR маркер, в периферической крови [44, 45, 46, 47].

Гепато- и спленомегалия. Спленомегалия при сепсисе определяется существенно чаще и раньше, чем увеличение печени. Селезенка увеличивается уже на ранних стадиях развития сепсиса, что может рассматриваться как ранний диагностический признак, являющийся наиболее постоянным из объективных критериев утяжеления сепсиса [7]. Спленомегалию можно определить при перкуссии органов брюшной полости и при ультразвуковом исследовании.

Геморрагическая сыпь. При сепсисе у трети больных выявляют высыпания (от точечных экхимозов до сливных эритем и крупных геморрагически-некротических элементов на коже). По характеру сыпи иногда можно предположить этиологию сепсиса. Так, петехии обычно появляются при менингококковом сепсисе, гангренозная эктима — при нейтропении на фоне сепсиса, вызванного синегнойной палочкой. Сливная эритема с шелушением наблюдается при токсическом шоке, вызванном *Staphylococcus aureus* или *Streptococcus pyogenes*. Сыпь появляется в ранние сроки развития сепсиса, чаще локализуется на передней поверхности грудной клетки, на животе и руках. Кожа вокруг элементов сыпи не изменена. В отдаленные сроки сыпь бледнеет. Зуд при высыпаниях, как правило, отсутствует. Причинами геморрагических высыпаний являются расстройства микроциркуляции, развитие распространенного васкулита и формирование множественных микротромбозов сосудов, поэтому сыпь при сепсисе патогномична.

Острый гастроэнтерит — частая составляющая сепсиса. Он проявляется тошнотой, рвотой, которая не приносит больному облегчения; может развиваться паралитическая кишечная непроходимость. Возможны кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта из-за образования стрессовых язв. У больных сепсисом нередко возникает холестатическая желтуха, причиной которой служат нарушения функций гепатоцитов и желчных капилляров. Часто желтуха предшествует другим симптомам сепсиса, в крови повышается уровень прямого билирубина, регистрируются высокие значения активности щелочной фосфатазы. При выраженном или длительном снижении АД возможны ишемические поражения печени и кишечника.

Первичный очаг инфекции. Локализованные гнойно-воспалительные очаги, которые являются причиной последующей генерализации инфекционного процесса, принято называть первичными. При сепсисе в условиях генерализации воспаления и несостоятельности систем иммунореактивности организм утрачивает способность локализовать инфекцию и контролировать ее проявления за пределами первичного и прочих инфекционных очагов. Первичный очаг может соответствовать входным

воротам инфекции, однако достаточно часто констатируются несоответствия. Наличие первичного воспалительного очага и его трансформация в ряде случаев предшествуют развитию сепсиса. Первичный очаг инфекции не предопределяет тяжести общих проявлений, и его санация не предотвращает прогрессирование уже начавшегося сепсиса. Развитие процессов в первичном очаге и общее течение сепсиса во многих случаях асинхронно.

Септические метастазы. Результаты посмертных морфологических исследований показывают, что гнойные метастазы могут поражать любой орган, однако особенно часто септические очаги выявляются в почках, легких и печени. У умерших от сепсиса пациентов метастатические гнойные эмболы, или абсцессы обнаруживаются в мозге и сердце, подкожной клетчатке и мышцах. Метастазирование возбудителя из первичного очага с образованием **вторичных очагов инфекции** может вызвать инфаркт легкого, гнойный плеврит, гангрену легкого, диффузный интерстициальный миокардит, эндокардит, перикардит, геморрагический нефрит, гнойный цистит, гнойный пиелит и паранефрит, абсцессы мозга и гнойный менингит, гнойные артриты, остеомиелиты, флегмоны и абсцессы в мышцах [1, 7, 40, 11]. Локализация так называемых очагов отсева (вторичных очагов) зависит от местоположения первичного очага инфекции. Если первичный очаг находится на клапанах сердца, то чаще наблюдается метастазирование в мозг и почки. Инфицированные тромбы обычно обуславливают метастазирование в легкие. Несомненно, что при хирургическом сепсисе гнойные очаги (вне зависимости от того, первичные они или вторичные) играют ведущую роль в патогенезе, их наличие определяет клиническую картину заболевания. Тяжесть состояния пациента с сепсисом прямо коррелирует с фактом наличия гнойных очагов [11, 16].

По мнению М. В. Гринева и соавт. [7], нет особого смысла клинически выделять такие формы сепсиса, как септицемия и септикопиемия. Начинается сепсис с генерализации воспалительной реакции (преодоление относительной автономии первичного воспалительного очага и неадекватность (избыточность) системной реакции организма по стратегии ответа острой фазы воспаления), затем развивается септицемия. Если пациент не погибает при формировании ранней полиорганной недостаточности и доживает до следующей фазы развития патологического процесса, то появляются пиемические отдаленные очаги. После их адекватного дренирования может снова отмечаться септицемия, затем снова образуются пиемические очаги. Процесс приобретает характер порочного круга в своем продвижении к полной иммунной несостоятельности (поздняя или септическая полиорганная недостаточность), а септицемия и септикопиемия оказываются лишь двумя фазами единого патологического процесса, закономерно перетекающими одна в другую.

Полиорганное расстройство. Клинические проявления формирующейся полиорганной дисфункции в наибольшей степени определяются темпом развития и распространенностью дисфункции эндотелия сосудов и коагулопатии [2, 3, 4, 21, 48], что сопровождается развитием системного васкулита, а также интенсивной гибелью клеток в жизненно важных органах механизмами некробиоза и апоптоза [49, 50, 51, 52, 53, 54]. Эти две составляющие вносят наибольший вклад в генез органных нарушений и универсальны как компонент системной альтерации. Повреждения эндотелиальной выстилки сосудов многих органов в случае дальнейшего прогрессирования патологического процесса на фоне генерализованного воспаления и дезорганизации иммунной системы неизбежно выливаются в глубокие органо-системные расстройства, в том числе и на удалении от первичного очага — развивается полиорганная дисфункция, а затем и недостаточность (ПОН). Формирование ПОН всегда свидетельствует о генерализации основных патологических процессов и определяет тяжелое течение сепсиса с угрозой летального исхода по причине поражения жизненно важных органов. Самостоятельное выздоровление становится невозможным.

Обычно сепсис развивается с нарастанием клинических проявлений — ациклично. Клинические проявления синдрома ПОН также разнообразны. Наиболее характерно развитие сердечно-сосудистой, дыхательной и почечной недостаточности. Наиболее проблемным органом оказываются легкие. Быстро прогрессируют гемодинамические нарушения с падением АД, тахикардией и поражением сердечной мышцы. Чаще и быстрее ПОН развивается при грамтрицательном сепсисе.

В настоящее время при характеристике сепсиса как варианта течения инфекционного процесса основное внимание специалистов сосредоточено на определении вида возбудителя, оценке его вирулентных качеств, ранжировании процесса генерализации воспалительной реакции по последовательно развивающимся стадиям (начало инвазии и колонизация возбудителя, развитие инфекции с местной воспалительной реакцией и формированием очага воспаления, прорыв относительной автономии очага и развитие системного воспалительного ответа /сепсис/, присоединение полиорганной дисфункции /тяжелый сепсис/, эскалация повреждений многих органов и трансформация в септический шок). Очень значимой считают также оценку тяжести клинического состояния пациентов в контексте обозначенных стадий развития патологического процесса. На этих узловых моментах построена концепция диагностики сепсиса, исповедуемая зарубежной академической наукой на протяжении двух последних десятилетий [14, 18, 22, 27, 28, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61].

Отсутствие действенного иммунитета к условно-патогенным возбудителям при развитии таких тяжелых инфекционных осложнений, как сепсис, тяжелый сепсис

и септический шок, у больных различного профиля подтверждается самим фактом генерализации инфекции. Не будет преувеличением утверждение, что по своей патогенетической сути сепсис является, прежде всего, иммунной несостоятельностью, при которой условно-патогенная флора становится агрессивной и способной вызвать генерализованную форму инфекции [2].

Рекомендуемые клинико-лабораторные показатели стадий развития септического процесса

Из изложенного выше следует, что определение ключевых проявлений сепсиса, а также стадийности патологических процессов, характеризующих тяжесть клинического состояния септических больных, является основной врачебной задачей. От правильного решения этой задачи зависит выбор оптимального объема врачебных мероприятий, а также тактики проводимой терапии. Это определяет и успех лечения. О методологии, которой следует руководствоваться при оценке тяжести состояния септических больных, включая признаки дисфунк-

ции органно-функциональных систем, можно составить представление на основании рекомендаций [3, 25, 55, 62] по алгоритму определения тяжести сепсиса (табл. 1).

Таким образом, **чтобы обоснованно говорить о развитии сепсиса, необходимо наличие признаков СВО (≥ 2 критерия SIRS), бактериемии (тест положительной гемокультуры) и/или инфекционного очага.** Наличие инфекционного очага однозначно определяет природу патологического процесса. Признаки (критерии) СВО манифестируют факт проникновения медиаторов воспаления в системную циркуляцию.

Бактериемия не является абсолютным диагностическим критерием [3, 7, 8, 10, 11, 63], так как у наиболее тяжелых пациентов при скрупулезном соблюдении техники забора крови и использовании современных технологий выявления микроорганизмов частота положительных результатов оценки гемокультур на наличие микроорганизмов, как правило, находится в пределах 40–60% [1, 7, 37, 64, 65]. Напротив, признаки органно-системной дисфункции крайне важны, так как наличие этих признаков подтверждает прогрессирование процес-

Таблица 1. Алгоритм стадийной оценки тяжести сепсиса

Стадия воспалительного процесса	Патофизиология и клинико-лабораторные признаки
Инфекционный очаг	Микробиотический феномен, характеризующийся развитием классических признаков воспаления (покраснение, отек, болезненность, локальное повышение температуры) со стороны макроорганизма на наличие микроорганизмов или на их проникновение в обычно стерильную ткань.
Бактериемия	Наличие живых бактерий в крови.
Системный воспалительный ответ (СВО)	Системная воспалительная реакция организма на один из сильнодействующих и значимых факторов (инфекция, панкреатит, травма или иное повреждение тканей, ишемия), которая манифестируется двумя или более признаками (SIRS-критерии): лихорадка $> 38^\circ\text{C}$ или гипотермия $< 36^\circ\text{C}$ тахикардия (ЧСС > 90 уд/мин) тахипноэ (ЧДД > 20 в 1 мин или $p_a\text{CO}_2 < 32$ мм рт. ст.) лейкоциты крови $> 12 \times 10^9/\text{л}$ или $< 4 \times 10^9/\text{л}$ или наличие незрелых форм клеток $> 10\%$.
Сепсис	Наличие очага инфекции и манифестация системной воспалительной реакции двумя или более признаками SIRS.
Тяжелый сепсис	Сепсис, сочетающийся с органной дисфункцией, нарушением тканевой перфузии или гипотензией. Нарушения перфузии могут включать (но не ограничиваться этими показателями) лактат-ацидоз, олигурию или острые изменения ментального статуса. Гипотензия легко устраняется посредством проведения адекватной инфузионной терапии. Синдром полиорганной дисфункции (MODS) — повреждение функций ≥ 2 органов и систем, при этом гомеостаз не может быть сохранен без вмешательств извне.
Септический шок	Тяжелый сепсис с тканевой и органной гипоперфузией, а также с артериальной гипотонией, которая не устраняется посредством проведения адекватной инфузионной терапии. При лечении сосудосуживающими или инотропными препаратами гипотонии у пациентов может не быть, однако при этом имеются нарушения перфузии.

са распространения инфекционно-воспалительной реакции за пределы первичного очага и вовлечение в патологический процесс органов-мишеней, в тканях которых реализуются универсальные механизмы повреждения, с трансформацией сепсиса в тяжелый сепсис или септический шок [2, 20, 10, 3, 11, 23, 60].

Условия развития сепсиса, его компоненты и предрасполагающие факторы

Необходимо подчеркнуть, что возникновение и развитие как терапевтического, так и хирургического сепсиса обусловлено в первую очередь инфекционной природой патогенных микроорганизмов. Без инфекционного возбудителя, способного к инвазии, развитие сепсиса невозможно. В конечном итоге, как результат инфекционного воздействия возникает ситуация несостоятельности механизмов противoinфекционной защиты с формированием регуляторной, а чаще структурно-морфологической дезорганизации иммунной системы. Следовательно, недостаточность защитных механизмов противодействия инфекции, обеспечиваемых как факторами конституционного иммунитета, так и механизмами приобретенного (адаптивного) иммунитета, — обязательное условие развития сепсиса [2, 7, 16, 17, 18, 19, 30, 41, 42, 43, 66, 67, 68]. Понятно, что несостоятельность иммунной системы приобретает ведущее значение, когда речь идет и о тяжелом сепсисе.

Роль колонизации микроорганизмов и инфекции. Колонизация потенциальных возбудителей и инфекция — предрасполагающие факторы развития сепсиса. Значение колонизации особенно велико, если сепсис вызван условно-патогенной флорой. В этом случае в условиях резкого ослабления барьерных функций эпителия слизистых оболочек, которые обеспечиваются факторами и механизмами мукозального иммунитета, возможна транслокация бактериальной флоры и обладающих патогенными характеристиками продуктов жизнедеятельности микроорганизмов с последующим их распространением по внутренним средам организма.

Роль присутствия живых микроорганизмов в системной циркуляции. Наличие живых микроорганизмов (чаще бактерий — бактериемия) в крови — важное, но не обязательное и не единственное условие развития сепсиса. Если имеются проявления генерализованной воспалительной реакции, то бактериемия, установленная методами микробиологического анализа, без сомнения, является подтверждением факта развития сепсиса [3, 7, 63, 65]. При отсутствии возбудителя при первичном бактериологическом исследовании необходимы неоднократные посевы образцов с углубленным микробиологическим исследованием, в том числе осуществленные до начала антибиотикотерапии [11, 25, 33, 65].

Метастазирование инфекции. Генерализация инфекции с образованием очагов отсева свидетельствует о ее прогрессирующем распространении гематогенным

путем. Сроки возникновения вторичных очагов и их локализация могут варьировать в широких пределах, что соответствует ациклическому течению сепсиса. Формирование пиемических очагов — один из клинических вариантов течения сепсиса, определяемый характером микрофлоры и особенностями пациента. Это возможный, но не обязательный критерий наличия сепсиса. Однако появление очагов метастазирования имеет не только диагностическое, но и прогностическое значение, так как при метастазировании тяжесть сепсиса прогрессивно нарастает и увеличивается вероятность развития ПОН [7].

Системный воспалительный ответ (СВО) — обязательный компонент сепсиса. Синдром системного воспалительного ответа (ССВО /SIRS/) [2, 6, 7, 11, 23, 24, 27, 29, 42, 55, 62, 69, 70, 71] клинически манифестирует проникновением токсинов возбудителей, цитокинов и других системных медиаторов воспаления в кровотоки [4, 7, 9, 38, 41, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79]. По своей патогенетической сути СВО является активационной иммунной дисфункцией, в частности, факт появления этого синдрома констатирует факт утраты инфекционным очагом своей относительной автономии с переходом воспаления в системную форму [2].

Общая иммунодепрессия — столь же значимый компонент патогенеза сепсиса, как и СВО. При сепсисе иммунодепрессия также носит системный характер, угнетены многие структурные компоненты иммунной системы, прежде всего клетки, обеспечивающие регуляторные и эффекторные механизмы иммунореактивности, что имеет следствием несостоятельность как конституционного, так и адаптивного иммунитета [2, 7, 17, 41, 42, 66]. Системный характер общей иммунодепрессии позволяет использовать термины «общая» и «системная» как синонимы. Механизмы формирования и углубления общей иммунодепрессии многокомпонентны, поэтому при сепсисе общая иммунодепрессия имеет различные клинические проявления, что определяется тяжестью развертывающихся патологических процессов [41, 42]. Клинически общая иммунодепрессия проявляется нарастанием признаков эндо- (ауто-) токсикоза, возникновением вторичных септических очагов или же развитием висцеральных инфекционных осложнений, в частности, нозокомиальной пневмонии. Микробиологическим признаком общей иммунодепрессии оказывается смена микробного пейзажа с преобладанием условно-патогенной флоры или же ее последовательной заменой госпитальными штаммами микроорганизмов. О развитии общей иммунодепрессии свидетельствуют: панцитопения, лейкопения, лимфопения, возрастание лейкоцитарного индекса интоксикации и рост в плазме крови концентрации пептидов средней массы, увеличение в плазме крови уровня «противовоспалительных» цитокинов и других иммуносупрессорных факторов (глококортикоидов, PGE₂, TGF₁, IL-1Ra, IL-4, IL-6, IL-10) [2, 66]. Тяжелые формы иммунодепрессии самостоятель-

но компенсироваться не могут, что диктует необходимость обязательного использования в лечении таких больных иммуноактивных лекарственных препаратов заместительного типа действия.

Основные звенья патогенеза сепсиса

Представления о патогенезе сепсиса нельзя считать полностью сформулированными, хотя о роли генерализованной воспалительной реакции знает каждый хирург и врач экстремальной медицины. Ясно и то, что патогенез сепсиса сложен и представлен патогенетическими звеньями, затрагивающими практически все органно-функциональные системы организма, тем более, когда речь идет о тяжелом сепсисе и септическом шоке. В патогенезе этих наиболее тяжелых форм инфекционных осложнений можно выделить основные звенья. Этими звеньями являются [2, 66]: 1) бактериемия и микробная токсемия (в крайних формах септический шок), 2) эндо- (ауто-) токсикоз, 3) системный деструктивный васкулит, 4) интенсификация процессов гиперкоагуляции с последующим развитием коагулопатии, тромбоцитопении потребления и тромбеморрагического синдрома (в крайних формах ДВС-синдрома), 5) ярко выраженная иммунная дисфункция/недостаточность как активационного (системный воспалительный ответ), так и депрессивного типа (системная иммунодепрессия). Одновременная манифестация иммунных нарушений как активационной, так и депрессивной направленности позволяет говорить об иммунном диссонансе. При тяжелом сепсисе названные патогенетические звенья могут иметь крайнюю степень выраженности, обуславливая формирование моно- и полиорганной недостаточности (несостоятельности) органно-функциональных систем организма, которая и является его атрибутивным признаком.

Остро развивающуюся дисфункцию иммунной системы — вторичную иммунную недостаточность — с полным правом необходимо относить к числу основных патогенетических звеньев тяжелого сепсиса [2]. В свою очередь неотъемлемыми составляющими вторичной иммунной недостаточности при сепсисе являются: 1) расстройства основных процессов регуляции иммунореактивности и последующая структурно-функциональная дезинтеграция иммунной системы; 2) общая иммунодепрессия; 3) нарушение участия иммунной системы в интеграционно-регуляторных взаимодействиях с основными органно-физиологическими системами организма.

Глубина и глобальность формирующихся при тяжелом сепсисе иммунных расстройств, а также прямое участие факторов иммунной природы в процессах системной альтерации со всей очевидностью превращают иммунную дисфункцию в важнейший компонент ПОН. Наиболее существенные системные процессы, имеющие прямое отношение к патогенезу ПОН, — это дисбаланс компонентов иммунной системы как пока-

затель ее дезинтеграции и общая (системная) иммунодепрессия как показатель несостоятельности. Идентификация конкретного структурно-морфологического звена иммунной системы при столь выраженной ее дисфункции имеет второстепенное значение. Однако несомненно, что нарушения глубинно затрагивают ее ядро — систему взаимодействующих клеток иммунореактивности, прежде всего мононуклеарные клетки с различной функциональной специализацией [2, 45, 68, 72, 80, 81].

Системный воспалительный ответ: патогенез и оценка

СВО формируется как системная реакция организма на экстраординарные воздействия. Механизмы реализации СВО запускаются при воздействии иницирующего фактора (травма, ишемия, инфекция), далее его выраженность постоянно нарастает путем активации гуморальных систем каскадного протеолиза плазмы и стадийной активации клеток, включая моноциты/макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, тромбоциты и клеточную выстилку эндотелия на всем его протяжении. Эти клетки, продуцирующие как цитокины, так и другие активационные медиаторы, в совокупности формируют сеть взаимосвязанных функциональных звеньев — цитокиновую сеть [73, 81]. При чрезмерной активации цитокиновой сети как экзогенными, так и эндогенными продуктами происходит генерализация воспаления с утратой защитной функции локального воспалительного очага. Одновременно нарастают эффекты системной альтерации, выраженность которых максимальна при ПОН. СВО следует рассматривать как избыточный ответ острой фазы. Основными составляющими системного, или генерализованного воспалительного ответа организма на инфекцию являются следующие процессы [2, 17, 41, 42, 66, 72, 73, 78, 79, 82, 83, 84]: 1) активация нейтрофилов и моноцитов крови, тканевых и резидентных макрофагов, а также клеток Купфера (макрофаги венозных синусов печени) липополисахаридным эндотоксином грамотрицательных бактерий и другими бактериальными токсинами, бактериальной ДНК и IL-1 β ; 2) синтез положительных глобулинов ответа острой фазы и других белков-адаптогенов; 3) высвобождение широкого спектра «провоспалительных» цитокинов (TNF, IL-8, IL-12, IL-17), IL-6 (мультифункциональный цитокин на ранних этапах активации ответа острой фазы, а позднее — иммуносупрессорный фактор), а также других медиаторов; 4) фагоцитоз, презентация и процессинг антигенов; 5) активация лимфоцитов монокинами (в частности, Th1 под влиянием IL-1 β); 6) независимая от активации антигеном экспрессия на клетках рецепторов IL-2 и последующая пролиферация Т-лимфоцитов; 7) секреция IL-12 и выработка IFN γ с дополнительной активацией макрофагов; 8) активация В-лимфоцитов под влиянием IL-6; 9) активация системы комплемента.

Последующее активирование широкого круга клеток и эндотелия сосудов при избыточной продукции классических «провоспалительных» цитокинов, а также других медиаторов воспаления приводит к резкой генерализации системного воспаления с гиперцитокинемией, гипотонией, шоком и развитием ранней ПОН [2, 7, 21, 26, 85]. Очевидно, что иммунная система вовлечена в реализацию СВО и при его развитии наблюдается дисфункция иммунной системы активационного типа. Мобилизация иммунореактивности по сценарию избыточного ответа острой фазы одновременно является подготовительным этапом адаптивного (зависимого от антигенной стимуляции) ответа иммунной системы, поэтому неадекватность «преиммунного» ответа является серьезной предпосылкой формирования иммунных расстройств в процессе реализации адаптивного ответа.

Факторы и механизмы повреждения клеток и тканей при СВО и ПОН. Молекулярно-структурные компоненты и факторы вирулентности инфекционных возбудителей, компоненты СВО и продукты метаболизма, регуляторные факторы (например, молекулы клеточной адгезии и белки теплового шока [81, 86]), избыточно активированные при мобилизации иммунореактивности клетки, а также клетки-эффекторы иммунитета могут быть реализующими альтерацию агентами. Обычно факторами повреждения при СВО и ПОН выступают [2, 8, 17, 18, 35, 36, 38, 42, 66, 73, 76, 77, 80, 83, 87, 88, 89]: 1) секретируемые факторы вирулентности этиопатогенов (экзотоксины и внеклеточные ферменты грампозитивных микроорганизмов), суперантигены; 2) структурные антигены микроорганизмов (липополисахаридные эндотоксины грамотрицательных бактерий, пептидогликаны различных возбудителей); 3) компоненты сторожевой полисистемы плазмы крови; 4) медиаторы арахидонового каскада и другие эйкозаноиды; 5) цитокины; 6) лейкокинины; 7) лизосомальные и другие внутриклеточные ферменты; 8) продукты клеточного аутолиза (пептиды средней массы); 9) активные формы кислорода и другие свободные радикалы; 10) оксид азота; 11) чрезмерно активированные медиаторами цитотоксические, тучные и эндотелиальные клетки.

Наличие у бактериальных возбудителей одновременно многих и особых факторов вирулентности — формильных пептидов, экзотоксинов и секретируемых ферментов, энтеротоксинов, гемолизин-протеогликанов, липотейхоевой кислоты, суперантигенов вносит дополнительный вклад в инициацию типовых процессов патогенеза сепсиса и предопределяет особенности его течения, связанные с инфицированием конкретным возбудителем. Эти факторы имеют особое значение, если возбудителями сепсиса являются стафилококки, энтерококки и синегнойная палочка. Так, лейкоцидин синегнойной палочки способен оказывать прямое цитотоксическое действие, инициируя набухание и некроз клеток. Этот экзотоксин проявляет и селективную ци-

тотоксическую активность в отношении иммунореактивных клеток, в частности он может быть причиной нейтропении [8, 38].

Крайне важно наличие в спектре факторов вирулентности потенциальных возбудителей таких крайне активных биологических субстанций, как суперантигены [4, 72, 81, 89, 90] (например, суперантиген *Streptococcus pyogenes/streptococcal superantigen* — SSA/, энтеротоксин некоторых штаммов *Clostridium perfringens*, стафилококковый энтеротоксин В/*staphylococcal enterotoxin B* — SEB/, токсин-1 стафилококкового токсического шокового синдрома/*staphylococcal toxic shock syndrome toxin-1* — TSST-1/, продуцируемый *S. Aureus*).

Суперантигены воздействуют на Т-лимфоциты вне зоны антигенспецифического фрагмента их клеточного рецептора и поликлонально активируют большое число Т-лимфоцитов, которые высвобождают избыточное количество IL-2. Далее чрезмерно активизируются цитокиновая сеть и моноциты/макрофаги, что приводит к гиперпродукции различных медиаторов и фулминантной воспалительной реакции. Главным эффекторным медиатором последующих клеточных и тканевых повреждений (вторичных реакций альтерации) выступает TNF α . После активации суперантигенами Т-лимфоциты длительное время остаются ареактивными [46].

Бактериальные суперантигены являются также мощными пирогенами и одновременно проявляют биологическую активность экзотоксинов. Они способны инициировать клинические проявления синдрома токсического шока. Эти проявления сходны, но не идентичны клиническим проявлениям септического (эндотоксинового) шока. Для шока, вызываемого бактериальными экзотоксинами, характерны: выраженная лихорадка, диарея, неукротимая рвота, гипотензия, эритродермия, а в случае, когда шок осложняет стафилококковую или анаэробную раневую инфекцию, — десквамация кожи вокруг раны. Вовлечение в патологический процесс шоковых органов-мишеней формирует полиорганную несостоятельность. В хирургических стационарах [64, 91] синдром токсического шока, признаками которого являются выраженная лихорадка, геморрагические буллы и эритематозные кожные высыпания, а также развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания и респираторного дистресс-синдрома взрослых с исходом в прогрессирующую ПОН, чаще всего вызывает *S. Pyogenes*.

Бактериальные суперантигены, проявляя свойства поликлональных и одновременно независимых от Т-лимфоцитов активаторов иммунного ответа, способны связывать иммуноглобулины и активировать В-лимфоциты через их поверхностные иммуноглобулиновые рецепторы. При этом вовлечение в активационный процесс аутореактивных В-лимфоцитов, которое в этом случае является неизбежным следствием общей поликлональной активации лимфоцитов, сопровождается срывом аутоотолерантности, иммунным повреждением

клеток и тканей, что может приводить и к клиническим проявлениям факта аутоиммунной агрессии.

Связывание и последующая нейтрализация биологической активности суперантигенов осуществляются преимущественно белками со свойствами естественных и специфических опсоинов. В этом качестве наиболее активны иммуноглобулины и С-реактивный белок (CRP) [41, 92]. Образование необходимого количества специфических иммуноглобулинов требует значительного времени, так как реализуется при адаптивном иммунном ответе. Суммарная связывающая способность постоянно присутствующих в циркуляции неспецифических иммуноглобулинов невелика, поэтому основную роль в нейтрализации биологической активности суперантигенов на ранних стадиях инициируемых ими шоковых реакций может играть только С-реактивный белок.

Классические, или ранние «провоспалительные» цитокины (TNF α , IL-1 β) в избыточных концентрациях за счет системных эффектов также участвуют в формировании полиорганной дисфункции и могут считаться медиаторами ПОН [4, 14, 21, 22, 78, 82, 93]. Как системные должны расцениваться следующие эффекты этих цитокинов [2, 88, 78, 82]: 1) вазодилатация, сопровождаемая гипотонией и развитием коллаптоидных реакций; 2) увеличение проницаемости сосудов с экстравазацией плазмы и возникновением интерстициальных отеков; 3) коагулопатия потребления, ДВС-синдром и кровоточивость; 4) нарушения перфузии почек, печени, сердца и легких; 5) гипертермия как следствие активации гипоталамуса; 6) гипогликемия и формирование состояния дисметаболизма головного мозга; 7) повсеместная активация эндотелиальной выстилки сосудов; 8) существенная потеря массы тела и развитие кахексии. Системные эффекты цитокинов, относимых к семейству факторов некроза опухолей, являются ведущими в патогенезе септического шока.

В процессе формирования и углубления полиорганной дисфункции клетки различных органов гибнут в результате прямого повреждения факторами вторичной альтерации. Собственно процесс острой гибели клеток реализуется механизмом некроптоза: либо гипоксического, либо свободно-радикального [2]. Причиной их гибели может быть также процесс самоуничтожения — апоптоз [49, 51, 52, 53, 94]. Апоптоз инициируется повреждающими воздействиями недостаточной интенсивности и/или является результатом воздействия регуляторных факторов инициации апоптоза [46, 47, 53, 85, 94, 95, 96]. При СВО и ПОН наиболее сильными активаторами апоптоза лимфоцитов, да и других клеток, являются TNF α и глюкокортикоиды [46, 47, 51, 54, 94, 95]. Однако практически все цитокины, избыточно продуцируемые активированными мононуклеарными клетками при СВО, включая интерлейкины и интерфероны, могут быть индукторами апоптоза иммунореактивных клеток. Причем в клетках одного типа тот или иной цитокин запускает апоптоз, а в других клетках его ингиби-

рует. Так, при остром повреждении легких в очагах нейтрофильного воспаления в пространствах альвеол отмечены такие явления, как задержка апоптоза нейтрофилов и одновременное ускорение апоптоза эпителиальных клеток [53].

Клетки также погибают от различных цитотоксических воздействий, осуществляемых с участием иммунных факторов, — аутофагоцитоза и экстрацеллюлярной цитотоксичности, комплемент-зависимой цитотоксичности, цитотоксичности, реализуемой специализированными киллерными клетками — NK, LAK, CTL [16, 20, 48].

При гибели клеток механизмом некроптоза, а также при реализации эффекторными клетками экстрацеллюлярной цитотоксичности в межклеточные пространства в избытке попадают гидролитические ферменты лизосом — нейтральные и кислые протеазы, липазы, гликозидазы, фосфотазы. Лизосомальные гидролитические ферменты разрушают погибшие клетки, но могут участвовать и в повреждении цитоплазматических мембран нормальных клеток и межклеточного вещества тканей.

Как факторы вторичной альтерации при системном воспалении выступают также маркерные гидролазы тучных клеток и базофилов — триптаза, активирующая кининовую систему, и химаза, разрушающая хондриотинсульфаты сосудистой стенки и усиливающая проявления генерализованного васкулита [2]. Этим же эффектом обладают катионные антибиотические белки тканевых макрофагов и нейтрофилов, в избытке выделяющиеся этими клетками при осуществлении экзоцитоза и при их гибели. Химаза потенцирует также эффекты перфоринов, которые вырабатываются цитотоксическими лимфоцитами. Названные бактерицидные субстанции способны резко увеличивать и сосудистую проницаемость.

Таким образом, существуют многочисленные и различающиеся непосредственным механизмом повреждения варианты альтерации, которые реализуются при тяжелом сепсисе. Эти механизмы осуществляют те патологические изменения на молекулярном, субклеточном, клеточном и тканевых уровнях, которые при их накоплении и генерализации основных процессов лежат в основе формирования патологических изменений во многих органах как сути феномена полиорганной дисфункции, а также ее наиболее тяжелой формы — ПОН. Многие из этих факторов и механизмов имеют иммунную природу. При этом иммунная система, изначально являющаяся системой интегративной регуляции и защиты, превращается в исполнителя и одновременно в жертву ею же образуемых факторов и ей же подчиняющихся механизмов реализации биологической активности этих факторов, которые выходят из-под контроля и становятся источником повреждения многих органов систем. Естественно, что подобный биологический хаос не может не затрагивать и саму иммунную систему, формируя в ее звеньях значимые расстройства структурно-морфологической организации и нарушая основные функции.

Роль эндотелиальной дисфункции при СВО и ПОН. Эндотелиальная выстилка сосудов различных органов в последние десятилетия уже не рассматривается как инертный физический барьер, отделяющий кровь от подлежащей ткани. Несомненно, что эндотелий является высокоактивной морфофункциональной системой, которая имеет уникальный метаболизм и активно вовлекается во многие процессы гомеостаза, включая механизмы поддержания крови в жидком состоянии, контроль вазомоторного тонуса, механизмы переноса нутриентов, эмиграцию лейкоцитов из крови в ткани, процессы рециркуляции клеток мононуклеарной природы. Эндотелиальные клетки (особенно при активации цитокинами, биогенными аминами, кининами и тромбином) экспрессируют богатую гамму молекул межклеточных взаимодействий, и рецепторов для множества цитокинов [81]. Эндотелиальные клетки выделяют также прокоагулянтные молекулы — фактор Виллебранда и ингибитор активации плазминогена 1-го типа. Помимо этого эндотелиоциты экспрессируют рецепторы для тканевого фактора и тромбина, комплексов факторов коагуляции, а также участвуют в привлечении тромбоцитов и моноцитов к участкам активированного эндотелия. Роль эндотелиоцитов велика и в реализации антикоагуляционных процессов. Эти клетки выделяют сульфат гепарина, простагландин, тромбомодулин, тканевой активатор плазминогена, ингибитор тканевого фактора и эндотелиальной iNOS, тем самым они противодействуют коагулопатии [9, 39].

В норме эндотелий способен поддерживать баланс системы гемостаза при выпадении динамической и прочих функций микроциркуляторных сегментов сосудистого русла. При сепсисе эндотелий вовлекается в патологический процесс, активируя коагуляцию и угнетение фибринолиза [9, 21]. Активированные эндотелиоциты способны также быть клетками-продуцентами классических «провоспалительных» цитокинов, что превращает их в непререкаемых участников генерализованной воспалительной реакции. Выделяемые эндотелиоцитами «провоспалительные» цитокины, прежде всего TNF α , принимают самое деятельное участие в процессах, сопутствующих генерализованным формам воспаления [9, 59, 73, 76, 77, 78, 84, 88]. Это предопределяет возникновение органной дисфункции, а при прогрессировании сепсиса и развитии септического шока — формирование ПОН.

В условиях коагулопатии и нарушения процессов фибринолиза нарастающая активация широкого круга клеток и эндотелия сосудов при избыточной продукции классических «провоспалительных» цитокинов, а также других медиаторов воспаления сопровождается генерализацией системного воспаления по типу «цитокинового пожара» с ранним развитием ПОН [76].

Методология определения и трактовки стадийности развития СВО. Клинически СВО проявляется классическими SIRS-критериями. Определены также допол-

нительные (лабораторные) диагностические критерии СВО: повышение концентрации прокальцитонина (> 2 нг/мл), увеличение в сыворотке крови уровня белков-реактантов острой фазы воспаления (CRP, фибронектин и другие белки-адаптогены) и многих цитокинов, из которых наибольшее значение имеют IL-6 и IL-8 [76, 78, 92, 96, 97, 98, 99, 100, 101].

На начальных стадиях СВО в структуре основных событий патогенеза инфекционный компонент может отсутствовать, следовательно, генез этого симптомокомплекса может иметь и неинфекционную природу. Симптомы ССВО отмечены при травматических повреждениях различной этиологии, при деструктивном панкреатите, при тяжелой ишемии тканей жизненно важных органов, при геморрагическом шоке, при альтерации тканей с участием иммунных факторов в процессах ауто- и гиперсенсibilизации. В отличие от сепсиса при СВО в течение первых 8–24 часов развития этой реакции не наблюдается роста в плазме крови уровня С3а-компонента комплемента.

Результаты многолетней практики применения критериев SIRS для целей клинической диагностики сепсиса продемонстрировали тенденцию расширенной практики диагностики сепсиса. Именно поэтому в 2001 году на согласительной конференции в Вашингтоне были приняты уточняющие дефиниции [62] (табл. 2). В настоящее время рекомендуется диагностировать стадийность развития септического процесса, руководствуясь этими расширенными критериями. До появления этих критериев диагноз «сепсис» был правомочен при наличии очага инфекции и двух критериев SIRS. Диагноз «тяжелый сепсис» может быть поставлен при констатации признаков органной дисфункции (хотя бы по одной органной системе), что сопровождается снижением тканевой перфузии. Септический шок подразумевает наличие гипотензии длительностью не менее 1 часа; снижение систолического АД от его начального уровня на 40 и более мм рт. ст., или систолическое АД < 90, или АД_{ср} < 60 мм рт. ст., когда отсутствуют другие причины гипотензии (например, гипотензия из-за приема медикаментов, гипотензия при инфаркте миокарда, кровопотере, травме).

При септическом шоке гипотензия сохраняется в условиях проведения адекватной инфузионной терапии, а также после водной нагрузки кристаллоидами (обычно используют режим введения растворов кристаллоидов из расчета > 20 мл/кг внутривенно, струйно). Констатация этого состояния требует вазопрессорной поддержки. О резком уменьшении периферического кровотока могут свидетельствовать: повышение уровня лактата в крови, олигурия или нарушение сознания. Возможны и другие проявления. Пациенты, получающие инотропную или сосудистую поддержку, могут иметь признаки периферической гипоперфузии при артериальном давлении (АД), достигшем в результате терапии нормального уровня [8, 9].

Таблица 2. Расширенные критерии диагностики сепсиса

Инфекция в сочетании со следующими изменениями
<p>Ключевые изменения: Лихорадка (сублингвальная температура > 38 °С) Гипотермия (сублингвальная температура < 36 °С) Частота сердечных сокращений > 90 уд/мин (> 2 стандартных отклонений от возрастной нормы) Тахипноэ Нарушение сознания Отеки или необходимость достижения положительного водного баланса (> 20 мл/кг за 24 ч) Гипергликемия (> 7,7 ммоль/л) при отсутствии сахарного диабета</p>
<p>Воспалительные изменения: Лейкоцитоз > 12 × 10⁹/л Лейкопения < 4 × 10⁹/л Сдвиг клеточной формулы в сторону незрелых форм (> 10%) при нормальном содержании лейкоцитов С-реактивный белок (увеличение) > 2 стандартных отклонений от нормы Прокальцитонин (увеличение) > 2 стандартных отклонений от нормы</p>
<p>Изменения гемодинамики: Артериальная гипотензия: АД_{сист} < 90 мм рт. ст., АД_{ср} < 70 мм. рт. ст. Снижение АД_{сист} более чем на 40 мм рт. ст. (у взрослых) Снижение АД_{сист} на 2 и более стандартных отклонения от возрастной нормы Сатурация S_{VO2} > 70% Сердечный индекс > 3,5 л/мин/м²</p>
<p>Проявления органной дисфункции: Артериальная гипоксемия — PaO₂/FiO₂ < 300 Острая олигурия < 0,5 мл/(кг × ч) Повышение креатинина более чем на 44 мкмоль/л (0,5 мг%) Нарушение коагуляции: АПТВ > 60 с. или МНО > 1,5 Тромбоцитопения < 100 × 10⁹/л Гипербилирубинемия > 70 ммоль/л Кишечная непроходимость (отсутствие кишечных шумов)</p>
<p>Индикаторы тканевой гипоперфузии: Гиперлактатемия > 1 ммоль/л Синдром замедленного заполнения капилляров, мраморность конечностей</p>

Примечания: АД_{сист} — систолическое артериальное давление, АД_{ср} — среднее артериальное давление. У детей и новорожденных артериальная гипотония является поздним проявлением шока; АПТВ — активированное парциальное тромбопластиновое время; МНО — международное нормализованное отношение.

Кардинально нарушенная гемодинамика и реологические расстройства приводят к резкому дефициту кислорода в тканях, субстратов тканевого дыхания и питательных веществ. Прогрессирует тканевая гипоксия, нарушаются основные метаболические процессы, изменяется кислотно-основное равновесие, нарастает ацидоз. Септический шок с исходом в ДВС-синдром — наиболее частая причина летальных исходов при тяжелом сепсисе.

Еще одна заслуживающая внимания тенденция диагностики сводится к попыткам выработки интегративных диагностических алгоритмов на основе количественной оценки вклада звеньев различных патологических процессов (и характеризующих их показателей) в развитие критического состояния пациентов [69, 70].

Прокальцитониновый тест. Установлена зависимость факта увеличения в плазме крови концентрации некоторых прогормонов кальцитонина, прежде всего прокальцитонина (PCT), с развитием генерализованных форм инфекции (включая сепсис) и системного воспаления (например, при политравме, тяжелых ожогах, деструктивным панкреатите) [3, 6]. Некоторые исследователи считают прокальцитонин специфическим маркером инфекции и допускают использование прокальцитонинового теста наряду с другими молекулярными маркерами СВО (С-реактивный белок, IL-6, другие цитокины) не только для мониторинга процесса развития и протекания генерализованной воспалительной реакции, но и для диагностики сепсиса как генерализованной инфекции, подчеркивая высокую чувствитель-

ность и специфичность этого диагностического критерия [3, 6, 84, 92, 93, 101, 102, 103, 104, 105]. Однако многое еще остается неизвестным. Так, не совсем понятна роль прокальцитонина в патогенезе сепсиса, и почему при сепсисе многие клетки (вне зависимости от их специализации в нормальных условиях) вдруг превращаются в активных продуцентов этого влияющего на обмен кальция протогомона. Вероятно, тест на уровень прокальцитонина более полезен для задач мониторинга, а не задач формулировки диагноза [104]. Использование этого теста не может заменить всех прочих подходов и методов диагностики сепсиса и его осложнений [3].

Общая (системная) иммунодепрессия при сепсисе

На поздних этапах септического процесса многофакторная иммунодепрессия по значимости превосходит активационную роль СВО и во многом предопределяет формирование поздней (инфекционной или септической) ПОН, которая обычно формируется после латентного периода относительного благополучия и может рассматриваться как вариант классической вторичной органной недостаточности [2, 17, 41, 42, 66]. Как и СВО, общая иммунодепрессия — это системный патологический процесс. Известно, что при угнетении многих структурных компонентов иммунной системы общая иммунодепрессия нарастает и приводит иммунную систему к полной функциональной несостоятельности [1, 19, 42, 67, 106, 107, 108].

Усугубление сопутствующих сепсису иммунных расстройств оказывается следствием нескольких основных причин и реализуется при кооперативном взаимодействии следующих процессов [2, 41]. Во-первых, прогрессивно уменьшается количество клеток, необходимых для осуществления адекватной работы защитных систем иммунитета из-за некробиотических воздействий и при интенсификации процесса самоликвидации клеток. В частности, известно, что при сепсисе резко возрастает интенсивность гибели лимфоцитов механизмом апоптоза [44, 46, 47, 51, 109]. Изменения процессов апоптоза описаны также для моноцитов и нейтрофилов (при сепсисе интенсивность апоптоза моноцитов увеличивается, а нейтрофилов уменьшается) [51]. Во-вторых, дисфункция иммунной системы оказывается следствием регуляторного (цитокинового) и субпопуляционного (фенотипического) дисбаланса клеточных компонентов и молекулярных факторов иммунореактивности [2, 17]. В-третьих, развивается функциональная несостоятельность — анергия клеток иммунореактивности как по функциям распознавания и презентации антигенов, так и по другим эффекторным, а также регуляторным функциям этих клеток [2, 19, 35, 44, 109].

При сепсисе о наличии общей иммунодепрессии можно судить по клиническим проявлениям и данным лабораторных методов исследования, оценивающих иммунный статус пациентов [2, 42]. **Клинические призна-**

ки общей иммунодепрессии: нарастание эндо- (ауто-) токсикоза, возникновение вторичных септических очагов или развитие висцеральных инфекционных осложнений. **Микробиологические критерии общей иммунодепрессии:** смена микробного пейзажа с преобладанием условно-патогенной флоры или с ее последовательной заменой госпитальными штаммами. **Лабораторно-диагностические критерии общей иммунодепрессии:** панцитопения, лейкопения, лимфопения, возрастание лейкоцитарного индекса интоксикации, увеличение в плазме крови концентрации пептидов средней массы и «противовоспалительных» цитокинов, а также других иммуносупрессорных факторов (глюкокортикоиды, PGE₂, TGFβ₁, IL-1Ra, IL-4, IL-6, IL-10), изменение соотношения концентраций «провоспалительных» и «противовоспалительных» цитокинов (например, по увеличению значений концентрационных отношений в плазме крови — IL-1Ra/TNFα, IL-10/IFNγ) [2, 19, 42, 44, 108, 110].

В условиях общей иммунодепрессии инвазия возбудителей становится неконтролируемой. Тяжелые формы иммунодепрессии самостоятельно не компенсируются, что без адекватной коррекции лекарственными препаратами заместительного типа действия (иммуноглобулины, рекомбинантные цитокины /гIL-2, гIFNγ/, рекомбинантные колониестимулирующие факторы) имеет следствием эскалацию и других патологических процессов до их фатального исхода.

Механизмы развития общей иммунодепрессии (включая роль различных иммуносупрессорных факторов) могут быть взаимосвязаны с генерализованной воспалительной реакцией (так называемый «синдром компенсаторного противовоспалительного ответа» — SARS), а могут формироваться независимо от генерализации воспаления. Подобная закономерность — это следствие многокомпонентного характера патогенеза общей иммунодепрессии [2].

Тяжелый сепсис: полиорганная дисфункция и недостаточность. Современные критерии и методология диагностики

Тяжелый сепсис — это сепсис, осложненный развитием полиорганной недостаточности, что резко утяжеляет клиническую картину и имеет неблагоприятный прогноз [3, 7, 8, 9, 10, 22, 55, 111]. Диаграмма (рис. 1) иллюстрирует частоту развития сепсиса, осложненного ПОН, у хирургических больных с различными формами хирургической инфекции. Видно, что наиболее часто тяжелый сепсис развивается при хирургических заболеваниях, требующих объемных операций на органах брюшной полости. Поэтому абдоминальный сепсис считают одной из наиболее опасных клинических форм тяжелого сепсиса.

Полиорганная недостаточность (ПОН). При формировании ПОН поражаются все органы и ткани организма [7, 26, 28, 60]. Это поражение является следствием воздействия агрессивных медиаторов и чрезмерно акти-

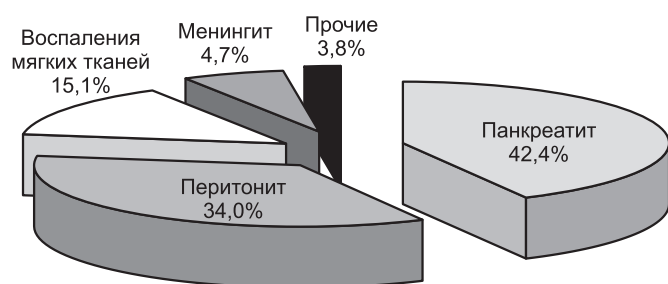


Рис. 1. Частота развития тяжелого сепсиса у хирургических больных с инфекционными осложнениями

вированных клеток, включая клетки, использующие иммунные механизмы потенциала альтерации. Механизмы повреждения тканей универсальны, как правило, лишены тканевой и органной специфичности. В генезе этих универсальных поражений значимы эффекты свободных радикалов, способных инициировать в клетках процессы свободно-радикального некролиза и апоптоза [111]. Роль избыточного апоптоза клеток в инициации повреждения жизненно важных органов у находящихся в критическом состоянии пациентов может быть весьма значительной [53, 94]. Последовательность вовлечения в этот процесс органов систем определяется лишь временным преобладанием симптомов той или иной органной дисфункции — легочной, сердечной, почечной или любой другой. Если развитие патологических процессов не компенсируется защитно-приспособительными реакциями, а последствия первичной и вторичной альтерации суммируются, то функция жизненно важных органов нарушается и развивается сначала моноорганная (чаще легочная) [7, 115], а затем полиорганная недостаточность.

Обычно ПОН оценивается критериями синдрома полиорганной дисфункции (СПОД-MODS /Multiple Organ Dysfunction Syndrome/) [23, 24, 28, 60]. Манифестация признаков ПОН означает формирование качественно нового и крайне опасного для жизни больного патологического состояния, ибо при этом в течение определенного времени возникают и углубляются дисфункции органов и систем в различных вариантах. Далее ситуация развивается по сценарию неуправляемого системного кризиса, сопровождаемого расстройствами интегративной и целевой цитокиновой регуляции, в генезе которых роль иммунной системы очевидна. Следовательно, ПОН — это состояние, характеризующееся значительными изменениями функций нескольких внутренних органов у тяжелых больных, состояние гомеостаза которых не может поддерживаться без внешнего вмешательства. Фатальный исход как при ранней (или активационной) ПОН, так и при поздней (или септической) ПОН [26, 94] имеет высокую степень вероятности. Летальный исход неизбежен также в случае отсутствия адекватного лечения.

Летальность при формировании ПОН колеблется от 35 до 75% и более [7, 8, 10, 23]. Показатель летальности

напрямую зависит от числа вовлеченных в развитие дисфункции органов систем. Вовлечение в ПОН новой органной системы повышает для пациента риск смертельного исхода в 2 раза [8, 20]. Так как в определении уровня летальности в качестве важнейшего прогностического признака выступает количество задействованных в формировании этого патологического состояния органно-функциональных систем [26], то своевременное выявление признаков органной дисфункции по всем жизненно важным системам организма является кардинальным вопросом диагностики. Это диктует необходимость дальнейшего поиска критериев диагностики ПОН по признакам дисфункции системы регуляторной интеграции и отдельных органно-функциональных систем, включая иммунную систему, а также разработки принципов профилактики ПОН и современной стратегии опережающей интенсивной терапии.

Маркеры выживаемости пациентов с ПОН. Выявлены некоторые маркеры выживаемости пациентов с ПОН. К ним обычно относят [7, 9, 34, 114]: 1) уровень лактата в артериальной крови; 2) уровни билирубина и креатинина в сыворотке крови; 3) значение коэффициента оксигенации (PaO_2/FiO_2) — основного критерия степени повреждения легких. Выявление маркеров ПОН по другим органам систем и определение их прогностической ценности по-прежнему остается одной из самых актуальных задач диагностики [62]. Со всей остротой стоит вопрос о необходимости включения маркеров иммунной природы в число критериев ПОН. В этой связи особое внимание заслуживает такой несомненный критерий недостаточности иммунной системы, как абсолютная лимфопения [1, 2, 66].

Прогнозирование летальности пациентов с тяжелым сепсисом. На практике определение количества вовлеченных в патогенез ПОН органов и систем, а также оценка продолжительности состояния ПОН у пациента позволяют достаточно точно ориентироваться в вероятности летального исхода. А. В. Руднов (2000) приводит следующие данные по статистике летальности среди больных, находящихся в критическом состоянии. При констатации у пациентов дисфункции одной системы регистрировали летальность на уровне 15%, двух — 32%, трех — 59,4%, четырех и более — 91,4%.

Таким образом, формирование недостаточности очередной органной системы при тяжелом сепсисе резко увеличивает вероятность летального исхода. Поэтому в качестве обязательного дополнения к постановке диагноза «тяжелый сепсис» необходимо описывать у пациента структуру органной дисфункции.

Диагностика тяжелого сепсиса. Как уже отмечалось, тяжелым признается сепсис (в англоязычной медицинской литературе — «сепсис-синдром»), при котором протекание септического процесса осложняется развитием у пациента полиорганной (полисистемной) недостаточности, поэтому методология оценки выраженности ПОН оказывается краеугольным камнем

Таблица 3. Обобщенные критерии органной дисфункции

Дисфункция системы гемостаза	Коагулопатия потребления: продукты деградации фибриногена > 1/40; димеры > 2; протромбиновый индекс < 70%; тромбоциты < 100 (с 2001 г.) – 150×10^9 /л; фибриноген < 2 г/л или динамические изменения: снижение тромбоцитов > 50%, увеличение протромбинового времени > 20%; с 2001 г. – АПТВ > 60 с.
Дисфункция сердечно-сосудистой системы	Систолическое давление < 90 мм рт. ст. или среднее давление < 70 мм рт. ст., некорректируемое возмещением жидкости в течение как минимум 1 ч (кристаллоиды 20–30 мл/кг за 30 мин + допамин ≥ 5 мкг/кг/мин); необъяснимый иными причинами ацидоз (рН $\leq 7,3$) или дефицит оснований $\geq 5,0$ ммоль/л + более чем полуторократное в сравнении с нормой повышение уровня лактата в плазме (> 1 ммоль/л; с 2001 г.)
Острый РДСВ (в рамках синдрома острого повреждения легких – СОПЛ)	1) острое начало, 2) двусторонняя легочная инфильтрация (билатеральные легочные инфильтраты на рентгенограмме), 3) давление заклинивания легочной артерии < 18 мм рт. ст., необходимость ИВЛ с ПДКВ > 5 см вод. ст., 4) гипоксемия, рефрактерная к оксигенотерапии. Отличие СОПЛ от РДСВ в степени гипоксемии, выраженной в форме отношения PaO_2/FiO_2 : при СОПЛ $PaO_2/FiO_2 < 300$, при РДСВ < 200 мм рт. ст.
Почечная дисфункция	Креатинин крови > 176 мкмоль/л, или повышение креатинина > 0,5 мкмоль/л (с 2001 г.); натрий мочи < 40 ммоль/л; темп диуреза < 0,5 мл/кг за 1 ч при адекватном восполнении ОЦК
Печеночная дисфункция	Билирубин крови > 70 мкмоль/л (с 2001 г.), увеличение АСТ, АЛТ или щелочной фосфатазы в 2 раза и более от нормы
Дисфункция ЦНС	< 15 баллов по шкале Глазго

Примечания: РДСВ – респираторный дистресс-синдром взрослых является наиболее тяжелой формой синдрома острого повреждения легких (СОПЛ). В этом случае у пациента определяется нарушение газового обмена при наличии рентгенологических изменений в легких, не связанных с сердечной недостаточностью и возникших в ближайшие сроки после провоцирующей травмы; ПДКВ – повышение давления в конце выдоха; PaO_2 – парциальное давление кислорода; FiO_2 – фракция вдыхаемого воздуха.

в диагностике тяжелого сепсиса. Согласно консолидированному мнению большинства специалистов тяжесть ПОН должна оцениваться по совокупности (наличие или отсутствие конкретного показателя) критериев MODS (= синдром полиорганной дисфункции – СПОД) (табл. 3), разработка которых явилась итогом нескольких международных согласительных конференций, посвященных этому вопросу, на протяжении последнего десятилетия XX века [3, 8, 9, 28, 62].

Методология клинической оценки тяжести ПОН при тяжелом сепсисе. В клинической практике для оценки выраженности ПОН сегодня достаточно широко используют также различные шкалы оценки, которые отличаются по пороговым значениям физиологических переменных и по количеству включенных параметров. Наличие различных методик и предпочтения их применения в практической деятельности тех или иных стационаров являются следствием отсутствия единой и общепринятой системы оценок. Так, тяжесть состояния больных с ПОН оценивают с помощью шкал APACHE (I, II, III) [58, 114], используя упрощенную физиологическую шкалу (SAPS) [115], по модели вероятной летальности (MPM) [114], а также по специфическим

шкалам оценки органной дисфункции (MODS – шкала нарушения функции нескольких органов, SOFA – шкала оценки недостаточности функции органов при сепсисе [60, 61], LODS – логическая шкала оценки нарушенных функций различных органов).

Перечисленные шкалы дают возможность оценивать наличие или отсутствие дисфункций органов, а также определять их степень по принципу ступенчатой оценки. Используя их, можно количественно определить не только тяжесть дисфункции конкретной органно-функциональной системы, но и степень тяжести полиорганной (т.е. общей) дисфункции организма. Эти шкалы можно также применять для прогнозирования летальности находящихся в критическом состоянии пациентов. Результаты подобной оценки довольно точно совпадают с реальными показателями смертности пациентов, тяжесть клинического состояния которых осложнилась развитием ПОН.

Следует подчеркнуть, что в современных системах оценки полиорганной дисфункции отсутствуют критерии, характеризующие дисфункцию иммунной системы как полноправного органно-функционального образования (в том числе в оценочных шкалах нет критериев

системной иммунодепрессии). Именно поэтому в российском проспективном рандомизированном контролируемом исследовании эффективности включения rIL-2 в комплексное лечение пациентов с тяжелым сепсисом [43], в котором одним из критериев включения пациентов в исследование был установлен такой показатель как наличие у больных сепсисом абсолютной лимфопении, фактическая летальность у пациентов контрольной группы оказалась в два раза выше, чем летальность, спрогнозированная с использованием шкалы SAPS. Если принять во внимание тот факт, что вовлечение каждой новой органной системы в патогенез ПОН увеличивает смертность пациентов в два раза, то понятно, почему в этом исследовании фактическая летальность в сравнении с прогнозируемой оказалась в два раза выше. Абсолютная лимфопения — это несомненный признак недостаточности иммунной системы (лимфоциты являются основными клетками иммунореактивности, обеспечивающими феномен клональной активации иммунитета, а также множество других регуляторных и эффекторных функций иммунореактивности), однако в систему оценки прогнозируемой летальности (в шкалу SAPS) этот критерий не входит.

Системы оценки APACHE и SAPS высоко специфичны (90%) в отношении прогноза благоприятного исхода, но менее чувствительны (50–70%) относительно прогноза летального исхода. Более того, эти системы приемлемы для прогноза исхода и сравнительного анализа групп больных, но не очень эффективны для оценки индивидуального состояния пациентов. Именно поэтому они не рекомендованы для прогностической оценки у конкретного больного и не могут быть рутинной основой для принятия решения в клинической практике. Это было отмечено на согласительной конференции Европейского общества интенсивной медицины в 1998 году.

Цель использования методик оценки полиорганной недостаточности по шкалам MODS и SOFA — другая, а именно — описание дисфункции органа, причем с индивидуализацией для конкретного больного. Ориентированные на оценку динамики изменения функции жизненно важных органов и систем методики (SOFA, MODS) позволяют также оценивать эффективность проводимого лечения, но их прогностические возможности вероятностей летального исхода и развития осложнений ограничены.

Российская согласительная конференция (Москва, октябрь 2001 г.) и последняя международная конференция экспертов (Вашингтон, декабрь 2001 г.) рекомендовали для оценки выраженности ПОН у больных с тяжелым сепсисом использовать шкалу SOFA [61, 62].

Диагностическая ценность шкалы SOFA. Несмотря на минимум параметров, подлежащих оценке, шкала SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) имеет высокую диагностическую ценность [61]. Эта шкала может использоваться для оценки при любых критических

состояниях, а не только при тяжелом сепсисе. В последнее время аббревиатуру SOFA расшифровывают как «Sequential Organ Failure Assessment», подчеркивая возможность оценки с помощью данной шкалы состояния тяжелых пациентов в динамике. Другая оценочная шкала, предложенная группой канадских специалистов [60], очень похожа на шкалу SOFA. При ее использовании необходимо дополнительно измерять центральное венозное давление.

На основании простого сложения баллов для каждого из приводимых в перечисленных выше оценочных шкалах параметров можно проследить также изменения состояния пациентов в динамике и при проведении лечения.

Септический шок: клиника, патогенез, дифференциальная диагностика

Состояние шока у септических больных развивается из-за неадекватной перфузии внутренних органов, которая является следствием острой циркуляторной недостаточности [21]. Нарушение кровоснабжения тканей сопровождается развитием тканевой гипоксии. В этом состоянии даже интенсивно проводимая инфузионная терапия не способна поддерживать АД выше критического уровня, и требуется постоянное введение пациентам вазопрессорных лекарственных препаратов.

Патогенез и клиническая характеристика септического шока. В основе расстройств гемодинамики, развивающихся при септическом шоке, лежат не столько нарушения центральных механизмов вазомоторной регуляции, что характерно для травматического шока, сколько изменения в системе периферической микроциркуляции [21, 117]. Клинически развитие шока характеризуется резким падением АД, тахикардией, пульсом слабого наполнения, холодным потом, одышкой, олигурией. Эти признаки быстро прогрессируют. Факт развития шока подтверждается снижением показателей гематокрита [7, 8, 9, 10, 35]. Прогноз при септическом шоке часто фатальный, особенно при развитии ДВС-синдрома. Его присоединение — всегда катастрофа, так как потеря кровью жидкостных свойств, а также нарушения ее циркуляции в капиллярах не совместимы с жизнью. Развитие ДВС-синдрома знаменует вступление пациента в декомпенсированную фазу шока [118]. Кардинально нарушенная гемодинамика и гемореологические расстройства приводят к резкому дефициту кислорода в тканях, субстратов тканевого дыхания и питательных веществ. Прогрессирует тканевая гипоксия, нарушаются основные метаболические процессы, изменяется кислотно-основное равновесие, нарастает ацидоз. Септический шок с исходом в ДВС-синдром — наиболее частая причина летальных исходов при сепсисе [3].

Правомочно выделение следующих четырех ключевых признаков септического шока:

- клинические доказательства наличия инфекции;
- признаки ССВО (≥ 2 SIRS-критерия);

- артериальная гипотензия, не компенсируемая с помощью инфузии, или необходимость постоянного использования вазопрессоров для поддержания АД на уровне выше критического;
- клинико-лабораторные признаки (индикаторы) органной гипоперфузии.

Диагноз «септический шок» обоснован при наличии всех без исключения названных признаков. Однако для правильной постановки диагноза определяющими являются: факт предшествующей инфекции и наличие критериев СВО. К другим причинам гипотензии, которые необходимо исключать, относятся: прием соответствующих медикаментов, обширный инфаркт миокарда, массивная кровопотеря и тяжелые травматические повреждения органов и тканей.

Резкое нарушение кровоснабжения тканей и нарастающая тканевая гипоксия формируют прогрессирующую полиорганную недостаточность со множественным поражением органов. В первую очередь развиваются респираторный дистресс-синдром взрослых (РДСВ) [115] и острая почечная недостаточность. Для септического шока характерно также извращение свертывающей функции крови, что приводит к множественным геморагиям, в том числе с органной локализацией. Септический шок и органная дисфункция расцениваются как утяжеляющие состояние пациента стадийные осложнения сепсиса, имеющие крайне неблагоприятный для его жизни прогноз.

В расстройствах кровообращения при септическом шоке обычно прослеживается несколько фаз [21, 117]. В начальной — гиперкинетической фазе общее периферическое сопротивление сосудов снижено. При этом значения сердечного выброса нормальные или даже несколько увеличенные, артериальное и венозное давление резко снижено. На протяжении следующей — гипокинетической фазы уменьшается как периферическое сопротивление, так и значения сердечного выброса. В последней — терминальной фазе нарастают явления сердечной недостаточности, прогрессируют гипоксия, ацидоз и нарушения водно-солевого баланса.

Генерализованные инфекционные осложнения у больных хирургического профиля могут клинически сразу протекать как септический шок. Это возможно в том случае, когда вирулентные возбудители массивно поступают в общий кровоток, минуя естественные барьеры неспецифической резистентности макроорганизма. Подобная клиническая манифестация может наблюдаться также при травматическом эндо- (ауто-) токсикозе [64, 77] и в случае массовой гибели грамотрицательных возбудителей с выделением больших количеств бактериального липополисахарида, выполняющего функции эндотоксина с мощным гипотензивным эффектом [14, 56, 83]. Если инфекция развивается у находящегося в критическом состоянии пациента, и имеются системные нарушения микроциркуляции, то сепсис сразу может протекать как тяжелый, и возможен септический шок.

Особенности диагностики септического шока и молниеносно протекающего сепсиса. Несмотря на внедрение представлений о стадийном развитии инфекционного процесса при сепсисе, традиционное деление сепсиса на молниеносный, острый и подострый сохраняет несомненную клиническую привлекательность, так как позволяет формулировать реальный прогноз развития клинической ситуации и правильно выбирать терапевтическую тактику. В свете современной концепции СВО к сепсису можно отнести молниеносные и острые клинические формы в старой терминологии. Принципы диагностики септического шока и сепсиса, клинически протекающего молниеносно, существенно отличаются от приемов диагностики других форм сепсиса.

Диагностика тяжести септического состояния адекватна в том случае, когда она в первую очередь основывается на клинической картине. Это объясняется, с одной стороны, наличием четких клинических симптомов, по которым можно отслеживать тяжесть состояния пациентов, а с другой — необходимостью диагностировать эти виды сепсиса и начинать лечение не позднее первых 6–8 часов от появления клинических признаков, в противном случае эффективность лечебных мероприятий резко снижается. Обе формы могут возникнуть на любой стадии инфекционного процесса. При этом ориентация на формальные признаки септического шока, предложенные R. Bone (1991) [55]: «септический шок» = ССВО + ПОН + гипотония или «тяжелый сепсис» + гипотония, может оказаться недостаточной по нескольким причинам. Во-первых, эти признаки часто совпадают для обеих (молниеносной и острой) форм инфекционного процесса, во-вторых, из-за стремительности развития совокупности патологических реакций их трудно уловить и, в-третьих, могут появиться на фоне относительного благополучия клинического состояния пациента без предшествовавших надвигающейся катастрофе признаков сепсиса [64].

Дифференциальная диагностика эндотоксического шока и синдрома токсического шока. С. А. Рожков и соавт. [64] справедливо отмечают, что дифференциальная диагностика септического (эндотоксического) шока и синдрома токсического шока, вызываемого грамположительными микроорганизмами, абсолютно необходима, так как некоторые направления адекватной патогенетической терапии при этих состояниях прямо противоположны.

Развитие *септического (эндотоксического, инфекционно-токсического) шока* проявляется картиной первичного нарушения микроциркуляции, которую можно оценить по состоянию как периферического, так и центрального кровообращения [21, 59]. Характерны следующие симптомы: мраморность кожи, коллаптоидные пятна, падение АД, нитевидный исчезающий пульс, чистые и ясные (нередко громкие) тоны сердца. Исходно высокая температура тела быстро падает до нормы. Психическое состояние пациентов ха-

рактируется эйфорией, которая затем сменяется заторможенностью. Некоторыми авторами это состояние обозначается как молниеносный грамотрицательный (менингококковый, сальмонеллезный, эшерихиозный, псевдомонадный) сепсис. Этиологическим фактором септического шока являются, как правило, грамотрицательные микробы. Однако в условиях длительного существования обширного гнойного очага клиническая картина септического шока может не зависеть от вида возбудителя, определенного в гемокультуре.

Шок инфекционной природы может развиваться и без сепсиса при бактериальной (брюшной тиф) или вирусной (грипп, геморрагические лихорадки) инфекции, а также по причине одномоментного поступления в организм большого количества бактериальных экзотоксинов (кишечные токсикоинфекции) — токсический шок при инфекциях. Например, подобный шок может быть индуцирован энтеротоксином E золотистого стафилококка или же дифтерийным токсином [38]. В этих случаях шок обусловлен как микробными (токсин синдрома токсического шока 1, энтеротоксин F) токсинами грампозитивных микроорганизмов [107], так и продуктами аутолиза поврежденных клеток и тканей, которые запускают сложный каскад цитотоксических иммунных реакций с преимущественным поражением эндотелия сосудов.

Золотистый стафилококк — частая, но не единственная причина синдрома токсического шока. Аналогичные системные реакции могут быть обусловлены инфицированием *S. pyogenes* и коагулазоотрицательными стафилококками, продуцирующими экзотоксины со свойствами суперантигенов [38, 89, 90]. Циркуляторные расстройства, нарастающие при воздействии этих факторов, приводят к вторичному увеличению проницаемости кишечного барьера и к дополнительному поступлению в общий кровоток эндотоксинов из желудочно-кишечного тракта. В хирургической практике развитие синдрома токсического шока чаще всего связано с раневыми инфекциями, послеоперационными осложнениями, маститом, послеродовым эндометритом.

Основным звеном патогенеза как эндотоксинового септического шока, так и синдрома токсического шока является негативное воздействие на микроциркуляцию бактериальных токсинов [21, 38, 88]. Поэтому без устранения воздействия этиологического фактора, с помощью только эффективной этиотропной терапии невозможно добиться позитивных сдвигов в состоянии больных, даже интенсивно осуществляя противошоковые мероприятия. При септическом шоке воздействие на процессы микроциркуляции патогенетически абсолютно оправдано, однако на практике это приводит лишь к временным улучшениям клинической ситуации.

Основным звеном патогенеза **молниеносного сепсиса, возбудителем которого чаще оказывается грампозитивная (обычно стафилококковая) микрофлора**, является первичное поражение сердца и падение его сокра-

тительной способности (первичное нарушение центральной гемодинамики), обусловленные эффектами стафилококкового экзотоксина, который выступает как кардиотропный интоксикант. Для молниеносного сепсиса характерна следующая триада клинических симптомов [64]:

- резкий подъем температуры тела до 39–41 °С;
- раннее развитие острой левожелудочковой недостаточности (сердечная астма, отек легких, расширение границ сердца, глухость сердечных тонов);
- страх смерти.

В основе тактики лечения пациентов с молниеносным (грамположительным, обычно стафилококковым) сепсисом должно лежать устранение сердечной недостаточности и немедленное проведение мероприятий неспецифической и специфической детоксикации (нейтрализации) стафилококковых экзотоксинов.

Заключение

При сепсисе любого генеза развитие септического процесса начинается с появления и резкого возрастания концентрации в системной циркуляции бактериальных и микотических антигенов, одновременно являющихся факторами вирулентности со свойствами активаторов плазменных систем каскадного протеолиза и клеток иммунореактивности, способных продуцировать «провоспалительные» цитокины и другие медиаторы воспаления. Следствием этих процессов является развитие генерализованной формы неадекватного ответа организма на инфекцию — системного воспалительного ответа. Далее ситуация развивается по сценарию неуправляемого системного кризиса, сопровождаемого расстройствами интегративной и целевой цитокиновой регуляции, в генезе которого роль иммунной системы очевидна. Остро или постепенно формируется полиорганная дисфункция, а в крайних формах — полиорганная недостаточность (ПОН), манифестируемая совокупностью соответствующих клинико-лабораторных признаков — синдромом полиорганной дисфункции (СПОД).

В настоящее время предложены алгоритмы оценки выраженности ПОН, алгоритмы оценки тяжести состояния пациентов по различным шкалам, алгоритмы прогнозирования исхода тяжелого сепсиса. Однако по-прежнему фатальный исход как при ранней (или активационной) ПОН, так и при поздней (или септической) ПОН имеет крайне высокую степень вероятности, что диктует необходимость дальнейшего поиска критериев диагностики ПОН по признакам дисфункции системы регуляторной интеграции, а также отдельных органно-функциональных систем, включая иммунную систему.

Выраженные иммунные нарушения, включая расстройства депрессивной направленности, отмечены уже во время ранней ПОН, а при формировании септической ПОН становятся определяющими, что ставит вопрос о правомочности трактовки сепсиса как активационной иммунной дисфункции — СВО. Критерии дисфункции

иммунной системы противоположной направленности, в частности такой ее формы как общая иммунодепрессия, по информативности не должны уступать прочим критериям дисфункций других органно-функциональных систем, поэтому необходима взвешенная оценка возможности их использования в качестве вероятных информативных признаков ПОН. Успехи в этом направлении могут стать значимыми вехахми в борьбе с сепсисом.

В основе успешной тактики при лечении сепсиса любого генеза лежит максимально ранняя диагностика септического состояния. В достижении конечного успеха от предпринимаемых усилий по спасению пациентов, имеющих высокий шанс погибнуть от сепсиса, не менее важны выявление и активное хирургическое лечение первичного и/или вторичных гнойных очагов, а также опережающая и главное — адекватная этиопатогенетическая терапия с использованием эффективных антибиотиков и медикаментозных средств заместительной иммунокоррекции по жизненным показаниям при любых проявлениях иммунодепрессии.

Литература

1. Бархатова Н. А. Совершенствование диагностики и лечения сепсиса при гнойно-некротической инфекции мягких тканей на основе современной концепции его патогенеза. Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Челябинск: ЧелГМА, 2011: 47 с.
2. Козлов В. К. Сепсис: Этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. СПб.: Диалект, 2006: 304 с.
3. Сепсис. Классификация, клинико-диагностическая концепция, лечение / под ред. В. С. Савельева, Б. Р. Гельфанда. 2-е изд., доп. и перераб. М.: Медицинское информационное агентство, 2011: 352 с.
4. Мороз В. В., Лукач В. Н., Шифман Е. М. и др. Сепсис: Клинико-патофизиологические аспекты интенсивной терапии: Рук. для врачей. Петрозаводск: ИнтелТек, 2004: 291 с.
5. Alberti C., Brun-Buisson Ch., Burchardi H. et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study // *Intensive Care Med.* 2002; 28 (2): 108–121.
6. Абдоминальная хирургическая инфекция: клиника, диагностика, антимикробная терапия. Практическое руководство / под ред. В. С. Савельева, Б. Р. Гельфанда. М.: Литтерра, 2006: 168 с.
7. Гринев М. В., Громов М. И., Комраков В. Е. Хирургический сепсис. СПб.; М., 2001: 350 с.
8. Ефименко Н. А., Гучев И. А., Сидоренко С. В., Руднов В. А. Сепсис и тяжелые инфекции // *Инфекции в хирургии. Фармакотерапия и профилактика: монография.* Смоленск, 2004: 182–218.
9. Мальцева Л. А., Усенко Л. В., Мосенцев Н. Ф. Сепсис: эпидемиология, патогенез, диагностика, интенсивная терапия / под общей ред. чл. — корр. НАН и АМН Украины, проф. Л. В. Усенко. Д.: АРТ-ПРЕСС, 2004: 160 с.
10. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патологоанатомическая диагностика: практическое руководство / под ред. В. С. Савельева, Б. Р. Гельфанда. М.: Литтерра, 2006: 176 с.
11. Хирургические инфекции: практическое руководство. Изд. 2-е, перераб. и доп. / под ред. И. А. Ерюхина, Б. Р. Гельфанда, С. А. Шляпникова. М.: Литтерра, 2006: 736 с.
12. Angus D. C., Linde-Zwirble W. T., Lidicker J. et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care // *Crit. Care Med.* 2001; 29: 1303–1310.
13. Annane D., Aegerter P., Jars-Guincestre M. C., Guidet B. Current Epidemiology of Septic Shock: The CUB-Rea Network // *Amer. J. Respir. Care Med.* 2003; 168 (2): 165–172.
14. Balk R. A. Sepsis and septic shock // *Crit. Care Clinics.* 2000; 16 (2): 179–192.
15. Бочоришвили В. Г., Бочоришвили Т. В. Новая иммунологическая концепция сепсиса и ее клиническое значение // *Int. J. Immunorehabilitation.* 1997; 6: 20–26.
16. Ребенок Ж. А. Сепсис: современные проблемы. Минск: Четыре четверти, 2007: 280 с.
17. Козлов В. К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе посттравматического сепсиса // *Политравма: травматическая болезнь, дисфункция иммунной системы, современная стратегия лечения* / под ред. Е. К. Гуманенко и В. К. Козлова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008: 253–312.
18. Bone R. S., Godzin C. J., Balk R. A. Sepsis: a new Hypothesis for pathogenesis of the disease process // *Chest.* 1997; 112: 235–243.
19. Faist E., Schinkel C., Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation // *World J. Surg.* 1996; 20: 454–459.
20. Руднов В. А. Сепсис. Эволюция представлений, необходимость унификации терминологии и критериев диагноза // *Хирургия.* 2000; 4: 36–40.
21. Шанин В. Ю. Патофизиология критических состояний. СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2003: 436 с.
22. Balk R. A. (Ed.). Advances in the diagnosis and management of the patients with sever sepsis. The trinity Worcester Press, 2002: 118 p.
23. Baue A. E. Multiple organ failure, multiple organ dysfunction syndrome, and systemic inflammatory response syndrome — Why no magic bullets? // *Arch. Surg.* 1997; 132: 703–707.
24. Baue A. E., Durham R., Faist E. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS), multiple organ dysfunction syndrome (MODS), multiple organ failure (MOF): are we winning the battle? // *Shock.* 1998; 10: 79–89.
25. Delinger R. F., Carlet J. M., Masur H. et al. Методические рекомендации по лечению тяжелого сепсиса и септического шока, разработанные в рамках Движения за выживаемость больных сепсисом // *Русс. мед. журн.* 2005 (Пепринт): 1–20.
26. Fry D. E. Multiple organ dysfunction syndrome: past, present and future // *Surgical Infections.* 2000; 1 (3): 155–163.
27. Matot J., Sprung C. L. Definition of sepsis. In: Summary of recommendation // *Intensive Care Med.* 2001; 27, suppl. 1: 3–9.
28. Poole G. V. MODS in the septic/inflammatory patient // *Sepsis and multiple organ dysfunction* / Eds. E. A. Deitch, J. — L. Vincent, A. Windsor. W. B. Saunders, 2002: 35–45.
29. Гусев Е. Ю., Черешнев В. А., Юрченко Л. Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // *Цитокины и воспаление.* 2007; 6 (4): 9–21.
30. Сускова В. С., Емец В. И., Ермакова Л. П. и др. Ранняя диагностика иммунных нарушений и их коррекция в лечении полиорганной недостаточности и септических осложнений после операций с искусственным и вспомогательным кровообращением // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* 2009; 11 (4): 57–64.
31. Гельфанд Б. Р., Филимонов М. И., Буркевич С. З. Абдоминальный сепсис // *Русс. мед. журн.* 1998; 6 (11): 697–706.
32. Гельфанд Е. Б., Гологорский В. А., Гельфанд Б. Р. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка состояния больных и полиорганной дисфункции // *Анест. реаним.* 2000; 3: 29–33.
33. Соринсон С. Н. Сепсис (этиология, патогенез, клиника, диагностика, терапия): краткое справочное руководство. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2000: 64 с.

34. Интенсивная терапия. Национальное руководство в 2 томах / под ред. Б. Р. Гельфанда, А. И. Салтанова. Том 2. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009: 784 с.
35. Агаджанян В. В., Устьянцева И. М., Пронских А. А. и др. Политравма. Септические осложнения. Новосибирск: Наука, 2005: 391 с.
36. Ерюхин И. А., Шашков Б. В. Эндотоксикоз в хирургической клинике. СПб.: Логос, 1995: 304 с.
37. Бочоришвили В. Г. Сепсисология с основами инфекционной патологии. Тбилиси: Мецниереба, 1988: 806 с.
38. Медицинская микробиология / гл. ред. В. И. Покровский, О. К. Поздеев. М.: Гэотар Медицина, 1998: 1200 с.
39. Гуманенко Е. К., Немченко Н. С., Бояринцев В. В., Гаврилин С. В. Нарушения в системе гемостаза при тяжелых ранениях и травмах. СПб.: Фолиант, 2006: 94 с.
40. Раны и раневая инфекция. 2-е изд., перераб и дополн. / под ред. М. И. Кузина, Б. М. Костюченко. М.: Медицина, 1990: 592 с.
41. Козлов В. К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса // Вестн. Росс. воен. — мед. акад. 2002; 2 (8): 12–22.
42. Козлов В. К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса: возможности диагностики // Цитокины и воспаление. 2006; 5 (2): 15–29.
43. Лебедев В. Ф. и др. Отчет о результатах многоцентрового проспективного рандомизированного контролируемого исследования «Оценка эффективности Ронколейкина в комплексной интенсивной терапии тяжелого сепсиса». СПб.: Новая альтернативная полиграфия, 2007: 52 с.
44. Останин А. А., Леплина О. Ю., Тихонова М. А. и др. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией // Цитокины и воспаление. 2002; 1 (1): 38–44.
45. Hynninen M., Pettila V., Takkunen O. et al. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis // Shock. 2003; 20: 1–4.
46. Kirsch A. H., Mahmood A. A., Endres J. et al. Apoptosis of human T-cell: induction by glucocorticoids or surface receptor ligation in vitro and ex vivo // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 1999; 13 (2): 80–89.
47. Schwartzmann R. A., Cidowski J. A. Glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoid cells // Int. Arch. Allergy Immunol. 1994; 105: 347–354.
48. Aird W. C. The role of the endothelium in severs sepsis and multiple organ dysfunction syndrome // Blood. 2003; 101 (10): 3765–3777.
49. Цыган В. Н., Булавин В. Д., Марьянович А. Т., Пахомов Е. Ю. Роль апоптоза в патогенезе и лечении заболеваний // Программированная клеточная гибель. СПб: Наука, 1996: 120–135.
50. Hotchkiss R. S., Osmon S. B., Chang K. C., Wagner T. H., Coopersmith C. M., Karl I. E. Accelerated lymphocyte death in sepsis occurs by both the death receptor and mitochondrial pathways // J. Immunol. 2005; 174 (8): 5110–5118.
51. Hotchkiss R. S., Swanson P. E., Freeman B. D. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction // Crit. Care Med. 1999; 27: 1230–1250.
52. Kerr J. F., Wyllie A. H., Currie A. R. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // Brit. J. Cancer. 1972; 26: 239–257.
53. Martin T. R., Nakamura M., Matute-Bello G. The role of apoptosis in acute lung injury // Crit. Care Med. 2003; 31 (4, Suppl. 2): 184–187.
54. Nagata S. Apoptosis by death factor // Cell. 1997; 88: 355–365.
55. Bone R. S. Let's agree on terminology: definition of sepsis // Crit. Care Med. 1991; 19 (7): 973–976.
56. Fink M. P. Infection, sepsis, and septic shock // Sepsis and multiple organ dysfunction / Eds. E. A. Deitch, J. — L. Vincent, A. Windsor. W. B. Saunders, 2002: 49–62.
57. Katja B., Hartmut K., Pawel M. et al. The value of immune modulating parameters in predicting the progression from peritonitis to septic shock // Shock. 2001; 15: 95–100.
58. Knaus W., Draper E., Wagner D. APACHE II: A severity of disease classification system // Crit. Care Med. 1985; 13 (10): 818–829.
59. Leibovici L., Drucker M., Konigsberger H. et al. Septic shock in bacteremic patients: risk factors, features and prognosis // Scand. J. Infect. Dis. 1997; 29 (1): 71–75.
60. Marshall J. C. Measuring organ dysfunction in the intensive care unit: why and how? // Canadian J. Anesthesia. 2005; 52: 224–230.
61. Vincent J.-L., de Mendonca A., Cantraine F. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of multicentric prospective study // Crit. Care Med. 1998; 26 (11): 1487–1800.
62. Levy M. M., Fink M. P., Marshal J. C. et al. 2001 SCCM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference // Crit. Care Med. 2003; 31 (4): 1250–1256.
63. Brun-Buisson C., Doyon F., Carlet J. The French Bacteremia-Sepsis Study Group: Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in nICUs and wards of 24 hospitals // Amer. J. Respir. Crit. Care Med. 1996; 154: 617–624.
64. Рожков А. С., Лебедев В. Ф., Кобиашвили М. Г. Сепсис // Избранные вопросы терапии инфекционных больных / под общей ред. Ю. В. Лобзина. СПб.: Фолиант, 2005: 855–879.
65. Weinstein M. P., Reller L. P., Murphy J. R. et al. The clinical positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations // Rev. Infect. Dis. 1983; 5: 35–53.
66. Козлов В. К., Винницкий Л. И. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса // Общая реаниматология. 2005; 1 (4): 65–76.
67. Docke W. D., Reinke P., Syrbe U. et al. Immunoparalysis in sepsis — from phenomenon to treatment strategies // Transplantationmedizin. 1997; 9: 55–65.
68. Parker L. C., Jones E. C., Prince L. R., Dower S. K., Whyte M. K., Sabroe I. Endotoxin tolerance induces selective alterations in neutrophil function // J. Leukoc. Biol. 2005; 78 (6): 1301–1305.
69. Гусев Е. Ю., Юрченко Л. Н., Черешнев В. А. и др. Методология изучения системного воспаления // Цитокины и воспаление. 2008; 7 (1): 15–23.
70. Зотова Н. В., Гусев Е. Ю., Юрченко Л. Н. и др. Патогенетическое значение определенных уровней системной воспалительной реакции при сепсисе // Вестн. урал. мед. акад. науки. 2006; 3 (1): 71–74.
71. Jaimes F., Garcns J., Cuervo J. et al. The systemic inflammatory response syndrome (SIRS) to identify infected patients in the emergency room // Inten. Care Med. 2003; 29 (8): 1368–1371.
72. Костюченко А. Л. Иммунный ответ организма на хирургическую инфекцию // Хирургические инфекции: руководство / под ред. И. А. Ерюхина, Б. Р. Гельфанда, С. А. Шляпкикова. СПб.: Питер, 2003: 114–130.
73. Черешнев В. А., Гусев Е. Ю., Юрченко Л. Н. Системное воспаление — миф или реальность? // Вестник РАН. 2004; 74 (3): 219–227.
74. Carswell E. A., Old L. J., Kassel R. L. et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1975; 72: 3666–3670.

75. Ertel W., Morrison M. H., Wang P. et al. The complex pattern of cytokines in sepsis // *Ann. Surg.* 1991; 214: 141–148.
76. Hack C. E., Aarden L. A., Thijs L. G. The role of cytokines in sepsis // *Adv. Immunol.* 1997; 66: 101–195.
77. Hoch R. C., Rodriguez R., Manning T. et al. Effects of accidental trauma on cytokine and endotoxin production // *Crit. Care Med.* 1993; 21: 839–845.
78. Martin C., Boisson C., Haccoun M. et al. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma // *Crit. Care Med.* 1997; 25 (11): 1813–1819.
79. Van der Poll T., Van Deventer S. J. H. Bacterial sepsis and septic shock. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis // *Infect. Dis. Clin. North Am.* 1999; 13 (2): 413–426.
80. Иммунология и аллергология (цветной атлас): учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова, А. В. Караулова. М.: Практическая медицина, 2006: 288 с.
81. Ярилин А. А. Иммунология. М.: Гэотар-Медиа, 2010: 752 с.
82. Pruitt J. H., Copeland E. M. I., Moldawer L. L. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in sepsis, systemic inflammatory response syndrome and septic shock // *Shock*; 1995; 3: 235–251.
83. Schumann R. R., Rietschel E. T. Endotoxin — structure, recognition, cellular response and septic shock // *Antiinfect. Drugs Chemother.* 1995; 13: 115–124.
84. Thijs L. G., Hack C. E. The time course of cytokine level in sepsis // *Intensive Care Med.* 1995; 21: 258–263.
85. Hotchkiss R. S., Karl I. E. The pathophysiology and treatment of sepsis // *N. Engl. J. Med.* 2003; 348 (2): 138–150.
86. Lindquist S., Craig E. A. The heat-shock proteins // *Ann. Rev. Genet.* 1988; 22: 316–377.
87. Рыбачков В. В., Малафеева Э. В. Природа и механизмы действия эндогенной интоксикации // Клиника и лечение эндоинтоксикации при острых хирургических заболеваниях. Ярославль, 1986: 5–43.
88. Скулачев В. П. Феноптоз: запрограммированная смерть организма // *Биохимия.* 1997; 64 (12): 1679–1688.
89. Fraser J., Arcus V., Baker E., Proft T. Superantigens — powerful modifiers of the immune system // *Mol. Med. Today.* 2000; 6 (2): 125–132.
90. Opal S. M., Cohen J. Critical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? // *Crit. Care Med.* 1999; 27: 1608–1616.
91. Кулибаба Д. М. Токсико-септический шок при перитоните: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. СПб., 1998: 43 с.
92. Povoja P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis // *Intensive Care Med.* 2002; 28: 235–243.
93. Riche F. C., Cholley B. P., Laisne M. J. et al. Inflammatory cytokines, C reactive protein, and procalcitonin as early predictors of necrosis infection in acute necrotizing pancreatitis // *Surgery.* 2003; 133 (3): 257–262.
94. Papathanassoglou E. D. E., Moynihan J. A., Ackerman M. H. Does programmed cell death (apoptosis) play a role in the development of multiple organ dysfunction in critically ill patients? A review and a theoretical framework // *Crit. Care Med.* 2000; 28: 537–549.
95. Ashkenazi A., Dixit V. M. Death receptors: Signaling and modulation // *Science.* 1998; 281: 1305–1308.
96. Muller B., Becker K. L., Schachinger H. et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit [see comments] // *Crit. Care Med.* 2000; 28: 977–983.
97. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. / под ред. А. И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. Т. 2. М.: Гэотар-Медиа, 2013: 792 с.
98. Assicot M., Gendrel D., Carsin H. et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection // *Lancet.* 1993; 341: 515–518.
99. Meisner M. Procalcitonin (PCT) — indications for a new diagnostic parameter of severe bacterial infection and sepsis of transplantation, immunosuppression and cardiac assist devices // *Cardiovascular Engineering.* 1996; 1: 67–76.
100. Povoja P., Coelho L., Almeida E. et al. Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring of C-reactive protein: a prospective observational study // *Crit. Care.* 2006; 10: 63.
101. Sfeir T., Saha D. C., Astiz M. et al. Role of interleukin-10 in monocyte hyporesponsiveness associated with septic shock // *Crit. Care Med.* 2001; 29: 129–133.
102. Rodriguez M., Santolaria F., Jarque A. Prognosis value of cytokines in SIRS general medical patients // *Cytokine.* 2001; 15: 232–236.
103. Brunkhorst F. M., Wegscheider K., Forycki Z. F. et al. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock // *Intensive Care Med.* 2000; 26 (Suppl): 148–152.
104. Castelli G. P., Pognani C., Meisner M. et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction // *Critical Care.* 2004; 8: 234–242.
105. Wicher J., Bienvenu J., Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker // *Ann. Clin. Biochem.* 2001; 38: 483–493.
106. Bone R. C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation // *Crit. Care Med.* 1996; 24: 163–170.
107. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2003: 443 с.
108. Howard M., O'Garra A. Biological properties of interleukin 10 // *Immunol. Today.* 1992; 13: 198–200.
109. Van Dissel J. T., van Langevelde P., Westendorp R. G. W. et al. Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patient // *Lancet.* 1998; 351: 950–953.
110. Норкин М. Н., Леплина О. Ю., Тихонова М. А. и др. Роль апоптоза и анергии Т-клеток в патогенезе гнойно-септических заболеваний // *Мед. иммунол.* 2000; 2 (1): 35–42.
111. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis // *Anticancer Res.* 2000; 20: 4115–4139.
112. Гологорский В. А., Гельфанд Б. Р., Багдатьян В. Е., Топазова Е. Н. Синдром полиорганной недостаточности у больных перитонитом // *Хирургия.* 1988; 2: 73–76.
113. Seneff M., Knaus W. A. Predicting patient outcome from intensive care: a guide to APACHE, MPM, SAPS, and other prognostic scoring systems // *Intensive Care Med.* 1990; 17 (5): 33–52.
114. Wong H. ARDS: the future // *Crit. Care Clin.* 2002; 18: 177–196.
115. Le Gall J., Loirat P., Alperovich A. et al. A simplified acute physiology scores for ICU patients // *Crit. Care Med.* 1984; 12 (11): 975–977.
116. Ramsay G., Gerlach H., Levy M. M. et al. An international sepsis survey: a study of doctor's knowledge and perception about sepsis // *Crit. Care Med.* 2003; 31: 300–305.
117. Calandra T. Pathogenesis of septic shock: implications for prevention and treatment // *J. Chemother.* 2001; 13: 173–180.
118. Зербина Д. Д., Лукасевич Л. Л. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. М.: Медицина, 1989: 256 с.

ГИСТОМОРФОЛОГИЯ ОПУХОЛИ И МИОМЕТРИЯ ПРИ МИОМЭКТОМИИ

А. А. АСКЕРОВ

Кыргызская государственная медицинская академия им. И. К. Ахунбаева

Резюме. В статье представлены результаты лечения 195 пациенток с миомой матки и гистоморфологического исследования макропрепаратов с оценкой популяции гладкомышечных клеток. Выявлена зависимость продолжительности операции миомэктомии, объема кровопотери, частоты рецидивов от количества и локализации удаленных миоматозных узлов. У 40% оперированных больных отмечались различные дегенеративные изменения в маточных узлах (отек, гиалиноз, некроз), а в 58,1% случаев дегенеративные изменения отсутствовали. В 8,6% случаев установлена картина клеточного строения лейомиомы матки, в отдельных случаях с очагами пролиферации. Пролиферация таких клеток является частью ангиогенеза, активация которого возникает при миоме матки.

Ключевые слова: миометрий, миоциты, пролиферация, ангиогенез.

TUMOR AND MYOMETRIUM HISTOMORPHOLOGY IN MYOMECTOMY

A. A. ASKEROV

Kirgiz State I. K. Achunbaev medical academy

Summary. The article presents the results of treatment of 195 myoma patients and histomorphological investigation of macrosamples with evaluation of smooth muscle cells population. The dependency of the myomectomy operation duration, blood loss degree, frequency of the relapses from number and localization of the nodules resected. In 40% of patients degenerative changes in uterine nodules were observed (edema, hyalinosis, necrosis), in 58,1% of cases these changes were not present. In 8,6% cases the cellular picture of leiomyoma was stated, in some cases with proliferation foci. Proliferation of these cells reflect the angiogenesis process, which is activated in myoma patients.

Key words: myometrium, myocytes, proliferation, angiogenesis

Данные для корреспонденции

Аскеров Арсен Аскерович — к. м. н., доцент, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 2 Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева.

720020, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92; тел.: +996-312-65-73-24, e-mail: asker17@mail.ru

Введение

В настоящее время значительно изменились и расширились научные представления о механизмах формирования и роста ЛМ, а также методах лечения данного заболевания. При этом сохраняется высокий уровень пролиферативных и множественных форм ЛМ, наблюдается недостаточное снижение уровня радикальных операций. Это свидетельствует о неадекватном наблюдении пациенток с ЛМ и закрытии специализированных программ ранней диагностики и профилактики на этапе первичной медико-санитарной помощи.

Цель работы

Выявить особенности репродуктивного здоровья пациенток с лейомиомой матки и особенности формирования лейомиомы на основании определения значимых клинико-эпидемиологических факторов риска развития данного заболевания для усовершенствования

методов прогнозирования, диагностики, лечения и системы профилактики лейомиомы матки.

Задачи исследования

Установить распространенность и выявить социально-биологические факторы риска развития лейомиомы матки. Исследовать роль гормонального фона женщины в формировании лейомиомы матки. Изучить взаимное влияние репродуктивного здоровья и клинического проявления лейомиомы матки в наблюдаемых когортах женщин. Определить наиболее эффективный метод лечения лейомиомы, направленный на оптимизацию репродуктивного здоровья, улучшение исходов лечения лейомиомы матки в репродуктивном и менопаузальном периодах жизни женщин.

Использовались клинические **методы исследования**, включающие соматический и гинекологический анамнез, особенности генеративной и репродуктивной

функции, опыт применения контрацептивов, УЗИ, микроскопия, антропометрические методы.

Результаты исследования и выводы

В исследование были отобраны 195 пациенток репродуктивного возраста с ЛМ. Из обследованных пациенток 68,2% являлись городскими, 31,8% — сельскими жительницами. Возраст обследованных женщин с ЛМ составил от 30 до 45 лет, в среднем $38,3 \pm 0,5$ года. Большинство пациенток были в активном репродуктивном возрасте. В процессе подготовки больных к операции все пациентки подверглись всестороннему обследованию, включающему общеклинические, специальные и лабораторные методы. При проведении клинико-лабораторных исследований у 27,7% больных была выявлена анемия, при этом у 11,5% женщин была анемия легкой степени, у 6,8% — средней тяжести и у 9,2% — тяжелая форма, что потребовало проведения в предоперационном периоде гемостимулирующей, а в ряде случаев и гемотрансфузионной терапии во время операции и в послеоперационном периоде. Всем 195 больным проводилось кольпоскопическое исследование шейки матки. При расширенной кольпоскопии у 20% больных обнаружены патологические изменения шейки матки, из них у 7,2% — эктопия, у 6,7% — картина посткоагуляционного синдрома после перенесенной диатермокоагуляции шейки матки. У 6,1% больных были выявлены рубцовые изменения шейки матки после предыдущих родов и аборт, не требующие дополнительного лечения.

Ультразвуковое исследование органов малого таза было выполнено всем женщинам. Выявлено, что у 59,6% количество миоматозных узлов варьировало от 1 до 2 и у 40,3% количество было более 3–4 узлов. При этом преимущественно интрамуральное расположение узлов с центрипетальным ростом, деформирующее полость матки, было в 48,2% наблюдений, субсерозные миоматозные узлы встречались в 15,4% случаев, субмукозные миоматозные узлы были в 6,7% случаев, и в 29,7% — смешанное. Как и любой способ хирургического лечения, миомэктомия имеет четкие показания и противопоказания, знание которых позволяет принять правильное решение в отношении операции. Показаниями к операции явились: быстрый рост опухоли 14,9% ($n = 29$), меноррагии, приводящие к анемии 46,2% ($n = 90$), дегенеративные изменения в маточном узле 24,2% ($n = 23$), большие размеры опухоли 14,9% ($n = 29$), субмукозные миоматозные узлы 6,2% ($n = 12$), ЛМ сочетанные с кистами яичников 6,2% ($n = 12$). В процессе операции энуклеировано 436 миоматозных узлов у 195 больных с ЛМ. Наибольшее количество узлов удалено из передней — 203 (46,6%) и задней стенок матки — 183 (41,9%), из дна матки энуклеировано 50 (11,5%) узлов. В то же время, количество интерстициальных узлов было в полтора раза выше, чем субсерозных. При этом субмукозные узлы чаще выявлялись по задней

стенке матки, реже в дне и по передней стенке матки. Интралигаментарно располагалось 1,8% узлов и 1,2% имели низкое расположение. Интралигаментарные узлы встречались с одинаковой частотой как по передней, так и по задней стенке матки. Одиночные миоматозные узлы наблюдались более чем у одной трети — 36,5% больных. У 40,4% удалено от 2 до 5 узлов. У 13,1% — по 6–10 узлов; у 7,8% — по 11–20; и у 1,95% больных более 20 узлов. В среднем количество удаленных узлов составило $3,2 \pm 0,94$ на одну пациентку.

Выявлена зависимость продолжительности операции и объема кровопотери от количества удаленных миоматозных узлов. При удалении одиночных узлов продолжительность операции составляла $99,67 \pm 1,85$ мин, а кровопотеря — $221,07 \pm 7,1$ мл. При удалении 2–5 узлов продолжительность операции длилась до $110,72 \pm 2,0$ мин ($p > 0,05$) и объем кровопотери — до $230,72 \pm 83,7$ мл ($p > 0,05$). При удалении свыше 5 миоматозных узлов отмечено дальнейшее увеличение продолжительности до $131,49 \pm 2,62$ мин ($p < 0,001$) и объема кровопотери до $913,83 \pm 197,21$ мл ($p < 0,001$). Течение консервативной миомэктомии имеет особенности в зависимости от размеров матки, количества, размеров и расположения миоматозных узлов. При размерах матки больше 12-недельной беременности и удалении более 6 миоматозных узлов достоверно ($p < 0,05$) увеличивается длительности операции ($120,7 \pm 5,8$ мин против $99,78 \pm 1,8$ мин) и интраоперационная кровопотеря ($285,84 \pm 9,6$ мл против $120,7 \pm 5,8$). Аналогично протекают операции при интралигаментарном и низком расположении миоматозных узлов (средняя продолжительность операции $160,3 \pm 6,8$ мин и кровопотеря $412,3 \pm 389,5$ мл). Вскрытие полости матки ассоциировано с увеличением длительности операции (до $120,51 \pm 7,35$ мин против $108,26 \pm 1,86$ без вскрытия) и интраоперационной кровопотери ($293,51 \pm 7,35$ мл против $229,45 \pm 9,2$ мл без вскрытия), более низкой частотой наступления беременностей и их вынашивания. Достоверное снижение времени оперативного вмешательства и кровопотери отмечается при поэтапном ушивании раны на матке ($216,64 \pm 5,39$ мин, $301,39 \pm 6,81$ мл) ($p < 0,05$).

У 40% оперированных больных отмечались различные дегенеративные изменения в маточных узлах (отек, гиалиноз, некроз), а в 58,1% случаев дегенеративные изменения отсутствовали. В 8,6% случаев установлена картина клеточного строения лейомиомы матки, в отдельных случаях с очагами пролиферации (см. рис. 1–5).

Как видно из рисунков, имеется гистиоидное строение тканей (миоцитов в том числе), в состав которых входят клетки типа фибробластов или фиброцитов, а сами клетки располагаются между коллагеновыми волокнами, складывающимися в пучки. Волокна вуалируют цитоплазму клеток при более выраженном фиброзе, поэтому четко видны только удлиненные, со сгущенным хроматином ядра. В глубине фибром клеток меньше, чем

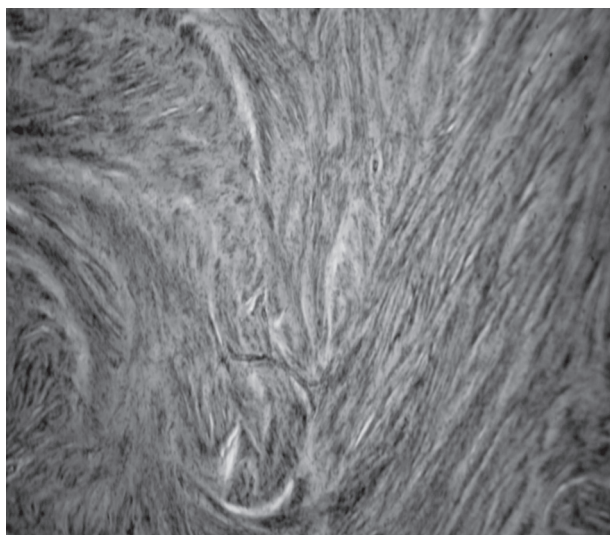


Рис. 1. Структура ткани лейомиоматозного узла и миометрия

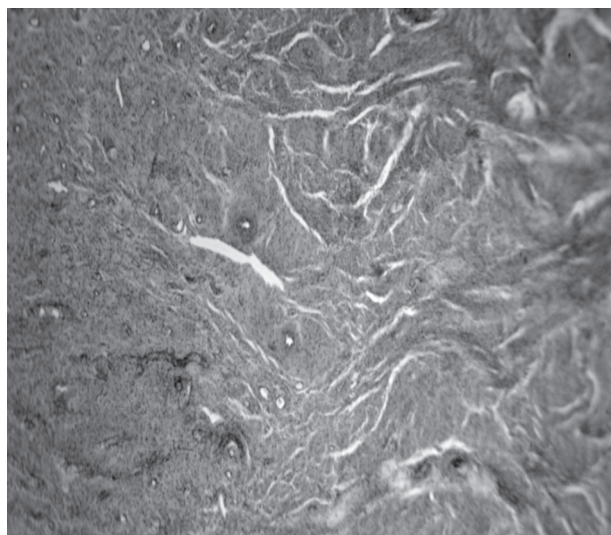


Рис. 4. Структура ткани лейомиоматозного узла и миометрия

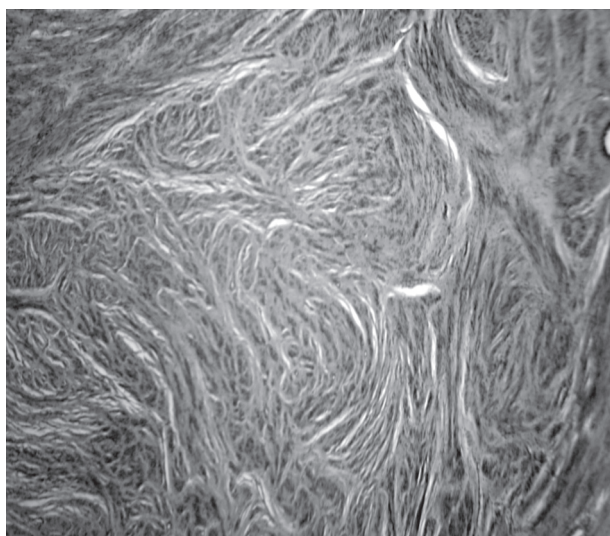


Рис. 2. Структура ткани лейомиоматозного узла и миометрия

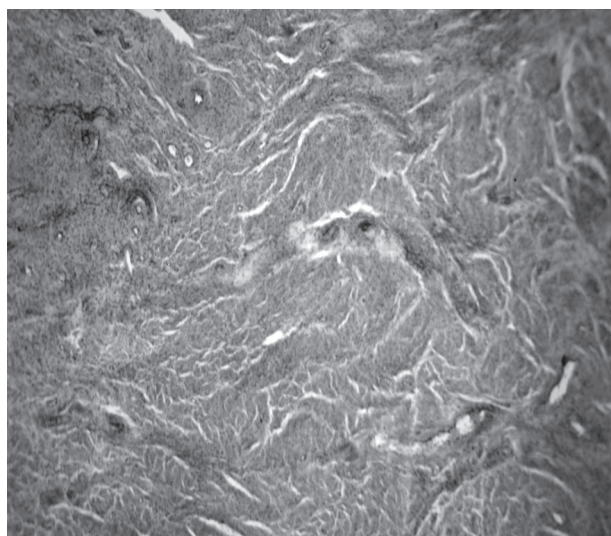


Рис. 5. Структура ткани лейомиоматозного узла и миометрия

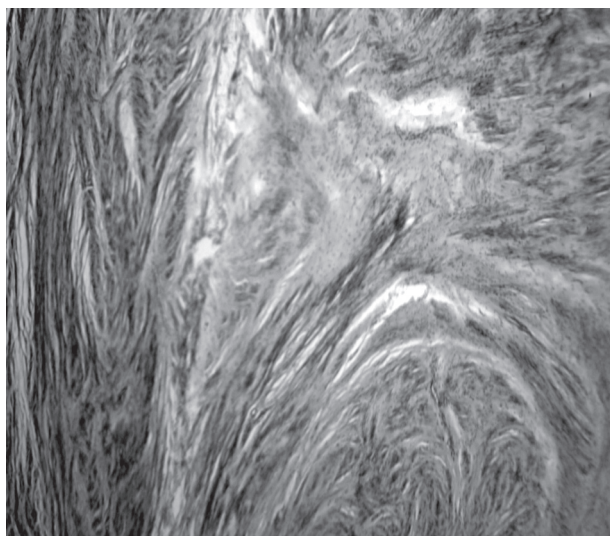


Рис. 3. Структура ткани лейомиоматозного узла и миометрия

на периферии узлов, это свидетельствует о некоторой тенденции опухоли к созреванию. При склерозе теряются паренхиматозные элементы. Также есть признаки процесса пролиферации миоцитов.

Существует гипотеза, что согласно этому процесс «гиперплазии миометрия», основанный на новообразовании путем клеточного деления миоцитов силового миометрия, начинается уже в лютеиновой фазе овуляторного цикла [1–5]. Все структурные элементы силового миометрия матки человека гормонозависимы, и особенности их морфофункционального состояния в каждый данный промежуток времени зависят от особенностей локального гормонального гомеостаза органа, в частности, от содержания в едином гуморальном пространстве матки основных половых стероидов — эстрадиола и прогестерона [6–11]. В условиях патологии, при развитии локальной гипергормонемии матки, индуцируется процесс «гипертрофии покоя» миоцитов силово-

го миометрия и, одновременно, активируется ангиогенез в миоматозных узлах.

В постменопаузальном возрасте в некоторых случаях происходит регресс миоматозных узлов. Пациентки, у которых в постменопаузальном периоде не происходит регресс миомы, характеризуются более поздним средним возрастом наступления менопаузы ($50,5 \pm 0,6$ года); они достоверно чаще страдают эндометриозом (25,0%), гиперпластическими процессами эндометрия (половина пациенток) и доброкачественными опухолями яичников (15,0%); у них достоверно чаще выявляются сердечно-сосудистые (45,0%) и эндокринные (35,0%) заболевания.

Литература

1. Аничков Н.М., Кветной И.М., Коновалов С.С. Биология опухолевого роста (молекулярно-медицинские аспекты). СПб.: Прайм-Еврознак, 2004: 294 с.
2. А. Хэм, Д. Кормак. Гистология. М.: Мир, 1983; 3: 282–289; 5: 149–150.
3. Савицкий Г. А., Иванова Р. Д., Свечникова Ф. А. Роль локальной гормонии в патогенезе темпа прироста массы опухоле-

вых узлов при миоме матки // Акушерство и гинекология. 1983; 4: 13–16.

4. Савицкий Г. А., Савицкий А. Г. Миома матки; проблемы патогенеза и патогенетической терапии. СПб.: Элби-СПб., 2000: 235 с.
5. Gargett С. Е. Эстрогенная регуляция ангиогенеза в миометрии и миоме // Проблемы репродукции. 2006, спецвыпуск, I Международная конференция по репродуктивной медицине. 2006: 61–63.
6. Айламазян Э.К. Акушерство. Учебник для медицинских вузов. СПб.: Спецлит, 2007: 634 с.
7. Вихляева Е.М. Руководство по диагностике и лечению лейомиомы матки. М.: Медпресс-информ, 2004: 400 с.
8. Савицкий Г.А. К патогенезу роста опухоли при миоме матки // Тез. Докл. V Съезда акушеров гинекологов РСФСР. Челябинск, 1982: 237–238.
9. Савицкий Г.А., Скопичев В.Г., Ракицкая В.В., Шелест В.Н. Денервация узла опухоли как один из элементов патогенеза роста миомы матки // Акушерство и гинекология. 1986; 2: 24–27.
10. Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. Оптимизация лечения больных миомой матки // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2005; 4 (5–6): 2–8.
11. Konishi I. Development of smooth muscle in the human fetal uterus; an ultrastructurae study // J. Anat. 1987; 139 (2): 238–252.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
КОНСИЛИУМ

ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА ПРОСИМ ОБРАЩАТЬСЯ:

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

Эмануэль Владимир Леонидович

Тел. 8-905-229-60-22,
e-mail: ejvcons@mail.ru

- РЕКЛАМНЫЙ ОТДЕЛ:

Венкович Татьяна Анатольевна

Морозова Ирина Александровна

Тел./ф: (812) 600-22-74,
e-mail: akvatest@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА SNCA ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

В. С. ЭМАНУЭЛЬ¹, А. К. ЕМЕЛЬЯНОВ², П. А. АНДОСКИН²

¹ Лицей «Физико-техническая школа» Академического университета, Санкт-Петербург

² ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России

Резюме. Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое заболевание, характерное для лиц старшей возрастной группы. Вызвано прогрессирующим разрушением и гибелью нейронов чёрной субстанции среднего мозга и других отделов центральной нервной системы, использующих в качестве нейромедиатора дофамин.

Из всех больных БП 10–15% заболевших имеют наследственный характер заболевания, остальные 85% имеют мультифакторную форму. Сейчас наибольшая проблема данного заболевания состоит в том, что его сложно распознать на ранних стадиях, поэтому большое внимание уделяется выяснению генетических факторов риска мультифакторной формы заболевания, основанному на проведении исследований GWAS. Так в результате нескольких ассоциативных исследований (GWAS — Genome-Wide Association Studies) для ряда Европейских популяций была обнаружена высоко достоверная ассоциация однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в генах небольшого пресинаптического белка альфа-синуклеина (rs356165, SNCA), а также белка дардарина (rs1491942, LRRK2) с БП.

С целью оценить ассоциации ОНП гена LRRK2 (rs1491942) с риском Болезни Паркинсона в Северо-Западном регионе России, а также отработать условия стабильной ПЦР для детекции ОНП гена SNCA (rs356165): 1) разработаны методы детекции ОНП генов SNCA (rs356165) и LRRK2 (rs1491942) на основе ПЦР и рестрикционного анализа; 2) для ОНП гена SNCA (rs356165) разработан оригинальный метод на основе ПЦР и последующего рестрикционного анализа с искусственным введением в последовательность праймера сайта рестрикции: отработаны температурный режим оптимального отжига наиболее специфичной пары праймеров из трех и условия проведения полимеразной цепной реакции; 3) для ОНП LRRK2 (rs1491942) отработаны условия проведения полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа.

Статистически значимой ассоциации в распределении генотипов по исследуемому ОНП гена LRRK2 (rs1491942) с БП не выявлено.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, однонуклеотидный полиморфизм, ПЦР, рестрикционный анализ.

INVESTIGATION OF ONE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF SNCA GENE IN PARKINSON DISEASE IN NORTH-WEST REGION OF RUSSIA

V.S. EMANUEL¹, A.K. EMELIANOV², P.A. ANDOSKIN³

¹ Lyceum “Physical technical school” of Academic University, Saint-Petersburg

² State Budget Educational Institution of Higher Professional Education

“First Saint-Petersburg I.P. Pavlov Medical University”, Ministry of Health Care of Russian Federation

Summary. Parkinson disease is a chronic disease typical for the elder age group. It is caused by the progressive destruction and death of substantia nigra neurons, placed in mesencephalon, as well as in other parts of central neural system using dopamine as neuromediator.

From all patients of Parkinson disease, about 10–15% cases are considered as hereditary, other 85% are multifactorial by nature. The main problem of this disease is the difficulty of early diagnosis, that's why lots of attention is paid to investigations related to the genetic factors, playing the role in the genesis of multifactorial form. Most of these trials are based on GWAS investigations (GWAS — Genome-Wide Association Studies). The results of certain number of studies performed in several European populations revealed the high degree of association with Parkinson disease of one-nucleotide polymorphism in genes of small presynaptic protein alpha-sinuclein (rs356165, SNCA) as well as dardarin protein (rs1491942, LRRK2).

In order to evaluate the association of one-nucleotide polymorphism of LRRK2 (rs1491942) gene with Parkinson disease in North-West Region of Russia as well as to work out the conditions of stable PCR reaction for detection of one-nuclear polymorphism of SNCA (rs356165) gene following was performed: 1) the methods of one-nucleotide polymorphism of SNCA (rs356165) and LRRK2 (rs1491942) genes detection based on PCR reaction and restriction analysis were worked out 2) for one-nuclear polymorphism of SNCA (rs356165) gene the original method was worked out. This method is based on PCR and subsequent restriction analysis with the artificial introduction of the restriction site to primer sequence; also we worked out the temperature regimen for optimal anneal of the most specific pair of primers from three ones and the conditions of PCR performing

No statistically significant association was revealed between the one-nuclear polymorphisms of LRRK2 (rs1491942) gene and Parkinson disease.

Key words: Parkinson disease, one-nucleotide polymorphism, PCR, restriction analysis.

Данные для корреспонденции

Емельянов Антон Константинович, к.м.н., лаборатория медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, руководитель: Дубина Михаил Владимирович, член-корреспондент РАН, д.м.н., e_antongen@mail.ru

Введение

Болезнь Паркинсона — это одно из самых частых заболеваний среди пожилых людей. А отдельные признаки паркинсонизма все четче вырисовываются даже у здорового человека по мере его естественного старения. Болезнь возникает чаще всего в возрасте 50–65 лет и длительно неуклонно прогрессирует. Мужчины и женщины страдают с одинаковой частотой.

Вызвано прогрессирующим разрушением и гибелью нейронов чёрной субстанции среднего мозга и других отделов центральной нервной системы, использующих в качестве нейромедиатора дофамин.

БП имеет характерную симптоматику, точнее, 4 основных симптома — мышечная ригидность, тремор, гипокинезия, постуральная неустойчивость.

Ассоциация БП и генов *LRRK2*, *SNCA*

В настоящее время считается, что семейные формы БП составляют 10–15% всех случаев БП. Описано шесть генов, мутации в которых приводят к развитию наследственных форм БП. Наиболее частой причиной развития наследственных форм БП являются мутации в гене обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (*LRRK2*). Шесть мутаций в гене *LRRK2* в настоящее время признаны определенно патогенными: G6055A (G2019S), C4321T (R1441C), C4321G (R1441G), G4322A (R1441H), A5096G (Y1699C) и T6059C (I2020T), из которых наиболее распространенной является мутация G6055A (G2019S) (85% от всех *LRRK2*-ассоциированных случаев БП). На втором месте по частоте выявления — мутация C4321T (R1441C) (около 10%). В зависимости от популяции G6055A (G2019S)-ассоциированная БП встречается в 5–40% случаев семейной БП [1]. В Европе мутация G6055A (G2019S) выявляется также в 1% случаев спорадической БП.

В то же время сегодня БП относят к конформационным заболеваниям, рассматривая в качестве основного звена патогенеза формирование нейротоксических агрегатов небольшого пресинаптического белка альфа-синуклеина (ген *SNCA*). Морфологические исследования аутопсатов мозга пациентов с БП показали, что альфа-синуклеин накапливается в цитоплазме дофаминергических нейронов ЧС, являясь основным компонентом телец Леви.

Показано, что изначально несвернутый белок при повышении концентрации в растворе образует фибриллы и дискретные сферические структуры, подобные тем, которые присутствуют в тельцах Леви (около 60% от

всего белка телец Леви). Факторы, влияющие на формирование агрегатов альфа-синуклеина при БП, остаются неизвестными. Предполагается, что нейротоксическим действием обладают протофибриллы белка. Обнаружение наследственных форм БП, обусловленных мультипликациями (дупликациями, трипликациями) нормальной последовательности гена *SNCA*, дает основание предполагать, что увеличение количества альфа-синуклеина в дофаминергических нейронах достаточно для развития заболевания [2].

Убедительным доказательством нейротоксичности альфа-синуклеина стало создание трансгенных животных (дрозофила, мышь) на основе гиперэкспрессии гена *SNCA* человека, демонстрирующих нейрональные альфа-синуклеин-положительные включения и возрастную нейродегенерацию дофаминергических нейронов мозга.

Материалы и методы

В исследование вошло 205 пациентов с четкой симптоматикой, установленным диагнозом БП с отсутствием других нейродегенеративных заболеваний головного мозга. Критерием отбора служило сочетание хотя бы двух фенотипических проявлений, характерных для БП: гипокинезия, ригидность, тремор покоя, постуральная неустойчивость. Пациенты были обследованы в консультационно-диагностическом центре ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России.

Контрольная группа состояла из 287 человек, состоящих на учете в Санкт-Петербургском городском гериатрическом центре. Все члены контрольной группы проходили обследование у невролога с целью исключения диагноза БП и других нейродегенеративных заболеваний. Данная выборка является случайной и принадлежит к тому же географическому региону, что и включенная в анализ группа лиц с БП. Включенная в исследование группа пациентов не отличалась от контрольной группы по полу и возрасту. Данная работа одобрена этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

У лиц исследуемой группы был осуществлен забор крови из локтевой вены в объеме 10–15 мл в стерильные пластиковые пробирки, содержащие 100 мкл 0,5 моль ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) (рН 8,0) в качестве антикоагулянта. Собранная таким образом кровь замораживалась и хранилась при температуре –20 °С

Геномная ДНК была выделена ранее из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции.

Таблица 1. Размер фрагментов ДНК после рестрикционного анализа

ОНП	Нуклеотидная последовательность праймеров		Температура отжига °С	Эндонуклеаза, сайт рестрикции	Размер фрагмента ДНК (п. о.)		
	Прямой	Обратный			ПЦР фрагмент	Длины получаемых фрагментов, п. о., Аллель 1	Длины получаемых фрагментов, п. о., Аллель 2
Ген <i>LRRK2</i> rs1491942 (C/G)	5'-CTGCT TGATACTG CTCAGGA CAGTC-3»	5'-GCTCA GGCTTGGG CAATTTCT-3»	60	SmoI (SmlI), 5'С^T Y R A G3' 3'G A R Y T^C5»	146	146 — аллель С	78, 68 — аллель G

Идентификация ОНП в гене *LRRK2* — rs1491942

Идентификацию ОНП проводили методом ПЦР и рестрикционного анализа. Разработка прямого и обратного праймеров, а также эндонуклеазы проводилась с использованием программы Vector NTI 10.0.

Первоначально амплификацию проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей в конечной концентрации 67 ммоль Tris-HCl pH8.8, 16,6 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0,1% тритон X-100, 2,5 ммоль MgCl₂, по 0,3 ммоль каждого праймера, 200 мкмоль dNTP, 1ед. Taq ДНК полимеразы и 3–10 нг геномной ДНК. Чтобы предотвратить испарение реакционной смеси в ходе ПЦР, наслаивали 10 мкл вазелинового масла. Амплификации проводили

на термоциклере Терцик (ДНК-Технология, Москва). После первоначальной денатурации при 94 °С в течение 5 мин. 30 циклов амплификации проводили в следующем температурно-временном режиме: денатурация: +92 °С — 1 мин., отжиг праймеров: +60 °С — 45 с, синтез: +72 °С — 45 с. После завершения 30 циклов амплификации проводили заключительный синтез при +72 °С в течение 7 мин. В результате ПЦР получали фрагмент размером 146 п. о. Для проведения рестрикционного анализа ПЦР продукт инкубировали с 1 ед. эндонуклеазы SmoI в 1x буфере Y-Tango производства «Fermentas» (33 mM Tris-acetate pH=7,9; 10 mM MgCOOH; 66 mM NaCOOH; 0,1 mg/ml BSA) при +37 °С в течение 24 часов. После рестрикции фрагменты ДНК подвергали электрофоретическому разделению в 8% акриламидном геле. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете после обработки бромистым этидием (рис. 1). Размер фрагментов ДНК после рестрикционного анализа представлен в таблице 1.

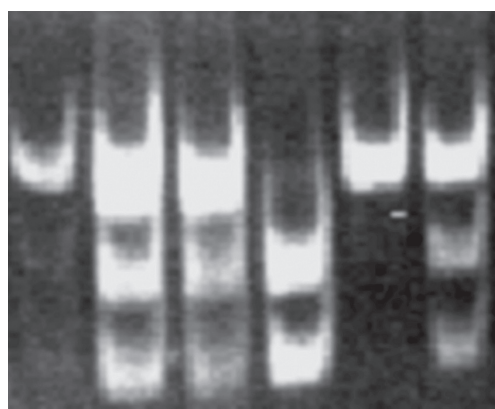


Рис. 1. Электрофореграмма, отображающая результаты генотипирования ОНП (rs1491942) гена *LRRK2*:
1, 5 — ПЦР-продукт — гомозигота по аллелю С (генотип СС),
2, 3, 6 — гетерозигота (генотип СG),
4 — гомозигота по аллелю G (генотип GG)

Идентификация ОНП в гене *SNCA* — rs356165

Разработку метода идентификации ОНП гена *SNCA* — rs356165 проводили с использованием ПЦР и рестрикционного анализа. Разработка прямого и обратного праймеров и эндонуклеазы проводилась с использованием программы Vector NTI 10.0. Для оптимального выбора праймеров были подобраны три пары праймеров (табл. 2).

Условия проведения ПЦР были аналогичны тем, что использовались для идентификации ОНП в гене *LRRK2* — rs1491942 за исключением температуры отжига для первой пары праймеров ($T_m = 56$ °С). ПЦР-продукт анализировали с использованием 6% акриламидного геля.

Таблица 2. Выбор праймеров с использованием программы VectorNTI 10.0 для разработки прямого и обратного праймеров и эндонуклеазы

ОНИ (п. о.)	Нуклеотидная последовательность праймеров		Температура отжига °С	Эндонуклеаза, сайт рестрикции	Размер фрагмента ДНК (п. о.)		
	Прямой	Обратный			ПЦР фрагмент	Длины получаемых фрагментов, п. о. Аллель 1	Длины получаемых фрагментов, п. о., Аллель 2
Ген <i>SNCA</i> (rs356165) (A/G)	5'- АСААСАГТТ ССССААААТ GC -3'	5'- AAGACCCC ААСТАСТАТ TG -3'	56	HpyCH4V 5'...TG▼СА...3' 3'...AC▲GT...5'		19 и 66 – аллель А	99 – аллель G
	5'- ТСАААСААС АГТСССС ААААТGC -3'	5'- TGTТТТGGT АТGCACTGG TTCC -3'	60			23 и 126 – аллель А	149 – аллель G
	5'- ААСААСАГ ТТССССАА ААТGC -3'	5'- ААAGTGG GGTGTТGA AGA -3'	60			20 и 80 – аллель А	100 – аллель G

G – нуклеотид, который был искусственно введен в прямой праймер вместо нормы А для создания сайта рестрикции эндонуклеазы HpyCH4V.

Результаты обрабатывали с использованием стандартного пакета статистической программы Statistica 7.0. Достоверность различий частотных распределений анализируемых аллелей между исследуемыми группами определяли методом Фишера ($p < 0,05$ принимали за значимый уровень достоверности).

Относительный риск (OR) рассчитывали с 95% доверительным интервалом (CI) по формуле:

$$OR = a/b \times d/c,$$

где a и b – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный аллель, c и d – количество человек контрольной группы, имеющих и не имеющих мутантный аллель, соответственно.

Границы доверительного интервала вычисляли по формулам:

$$OR_{\min} = OR^{(1-1,96/\sqrt{\chi^2})} \text{ и } OR_{\max} = OR^{(1+1,96/\sqrt{\chi^2})},$$

где

$$\chi^2 = ((a \times d - b \times c) - 0,5 n)^2 \times (n-1) / (n_0 \times n_1 \times m_0 \times m_1);$$

$$n_1 = a + b; n_0 = c + d; m_1 = a + c; m_0 = b + d;$$

$$n = n_1 + n_0 + m_1 + m_0.$$

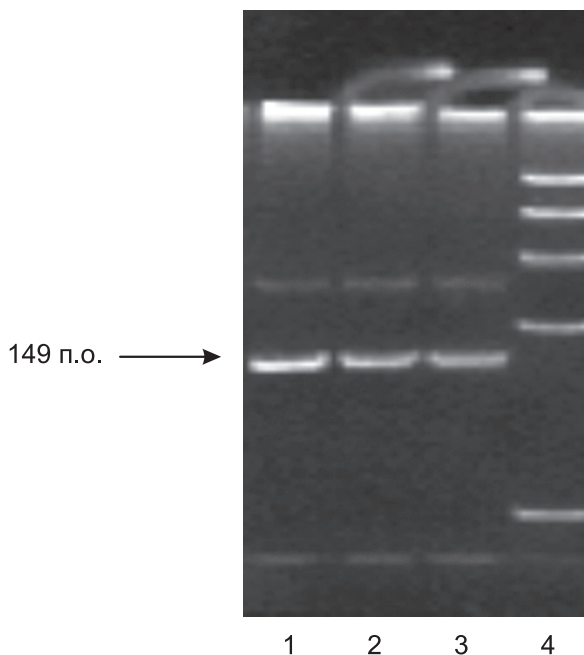


Рис. 2. Электрофореграмма, отображающая результаты проведения ПЦР: 1, 2, 3 – ПЦР продукт; 4 – маркер молекулярного веса

Таблица 3. Ассоциации ОНП в гене LRRK2 (rs1491942) с БП

Ген (ОНП)	Генотип	Пациенты, <i>n</i> (%)	Контроль, <i>n</i> (%)	OR (95% ДИ)*	<i>p</i>
<i>LRRK2</i> (rs1491942)	Общий	205	287	(CG+GG vs CC) 1,15 (0,80–1,66)	0,47
	CC	130 (63,4)	191 (66,5)		
	CG	75 (36,6)	90 (31,4)		
	GG	0	6 (2,1)		
	С аллель	335 (81,7)	472 (82,2)	(G vs C)	0,8
	Г аллель	75 (18,3)	102 (17,8)		

*OR = отношение шансов; ДИ = доверительный интервал, *n* – количество исследуемых, *p* – статистическая значимость

Результаты

В ходе данного исследования статистически значимой ассоциации ОНП в гене *LRRK2* (rs1491942) с БП обнаружено не было, что могло бы быть обусловлено немногочисленностью исследуемых групп. Исследование данного ОНП было проведено впервые. Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 3.

В случае разработки метода детекции ОНП гена *SNCA* (rs356165) была произведена модификация прямого праймера, а именно, замена предпоследнего нуклеотида со стороны 3'-конца с А на Г с целью искусственного создания сайта рестрикции для эндонуклеазы НруСН4V. Было подобрано три пары праймеров и выбрана одна наиболее оптимальная с точки зрения условий и результата проведения ПЦР (рис. 2).

Полученные условия стабильного синтеза ПЦР продукта позволят в дальнейшем отработать условия ре-

стрикции с использованием указанной эндонуклеазы и провести оценку полученных результатов с целью оценки ассоциации данного ОНП с БП. Полученные результаты будут представлять интерес, поскольку ранее была показана ассоциация данного ОНП для ряда европейских популяций с БП.

Литература

1. Di Fonzo A., Rohe C.F., Ferreira J., Chien H.F., Vacca L., Stocchi F. et al. A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease // *Lancet* 2005; 365: 412–5.
2. Николаев М. А. Олигонуклеотидный полиморфизм генов *MART* и *SNCA* как фактор риска развития болезни Паркинсона. Бакалаврский диплом. СПб., 2012.
3. Матвеева Т. В., Богомаз Д. И., Лутова Л. А. Малый инженерный практикум по генной инженерии. СПб.: РенOME, 2011: 1–17.

ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЙ АНТИГЕН СА19-9 В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е. О. КОМЛЕВА

Врач клинической лабораторной диагностики высшей квалификационной категории
ООО «Алкор Био»

Резюме. В данной статье затронута актуальная проблема абдоминальной хирургии — рак поджелудочной железы (РПЖ), распознавание которого на ранней (операбельной) стадии заболевания неизменно затруднено. В этой связи диагностический алгоритм при подозрении на РПЖ должен наряду с инструментальными методами включать и лабораторные исследования.

Карбоангидратный антиген СА19-9 общепризнанно рассматривается в качестве главного онкомаркера при РПЖ. Степень повышения уровня СА19-9 является диагностическим критерием выраженности тяжести заболевания в ПЖ, которую необходимо выяснить в ходе предоперационной диагностики. Стадирование РПЖ предопределяет тактику лечения и прогноз.

Мониторинг уровня СА19-9 позволяет оценивать эффективность проводимой лекарственной и/или лучевой терапии, а также проводить диагностику развития биохимического рецидива РПЖ и/или метастазов первичной опухоли более чем за 3–6 месяцев до появления клинической симптоматики.

Снижение уровня СА19-9 до референсного значения, определяемое через месяц после удаления опухоли ПЖ, подтверждает необходимую радикальность выполненного хирургического вмешательства.

Ключевой предпосылкой использования СА19-9 в диагностических целях является надежность получаемых лабораторных результатов.

Ключевые слова: СА19-9, рак поджелудочной железы, диагностика рака поджелудочной железы, онкомаркер, рак.

TUMOR-ASSOCIATED ANTIGEN CA19-9 IN THE DIAGNOSIS OF PANCREATIC CANCER

E. O. KOMLEVA

A Clinical Laboratory Diagnostics Physician of Higher Category
“Alcor Bio” Ltd.

Summary. This article touches upon the actual problem of abdominal surgery — pancreatic cancer (PCa), recognition of which on early (operable) stage of the disease is always difficult. In this regard, the diagnostic algorithm for suspected pancreatic cancer should include laboratory tests, along with instrumental methods.

Carbonic anhydrase antigen CA19-9 is admittedly regarded as the premier tumor marker in pancreatic cancer. Degree of CA19-9 level increase is a diagnostic criterion for severity of disease that is necessary to clarify in the preoperative diagnostics. Staging of pancreatic cancer determines treatment strategy and prognosis.

Monitoring the level of CA19-9 allows to evaluate the effectiveness of the drug and / or radiation therapy. Also it allows to diagnose development of biochemical recurrence of pancreatic cancer and / or metastasis of the primary tumor more than 3–6 months before the onset of clinical symptoms.

Reduction of CA19-9 to reference values determined one month after removal of the tumor of pancreatic cancer confirms the need for radical surgery performed.

Key prerequisite for the use of CA19-9 for diagnostic purposes is the reliability of the laboratory results.

Key words: CA19-9, pancreatic cancer, pancreatic cancer diagnosis, tumor marker, cancer.

Данные для корреспонденции

Комлева Елена Олеговна, врач клинической лабораторной диагностики высшей квалификационной категории
192148, а/я 44, ООО «Алкор Био», тел./факс: (812) 677-21-65, факс: (812) 677-21-65
e-mail: comleva.len@yandex.ru

Опухоли поджелудочной железы (ПЖ) отличаются выраженным разнообразием, которое требует их классификации [1]:

- доброкачественные опухоли (аденома, цистаденома);
- злокачественные опухоли (рак);
- опухоли из островковых клеток ПЖ (нейроэндокринные — АПУДомы), которые могут быть доброкачественными и злокачественными.

Наиболее часто встречающейся опухолью ПЖ является рак (РПЖ) — протоковая аденокарцинома (ПАК). Морфологическим фоном развития ПАК ПЖ являются диспластические изменения в системе протоков железы, охарактеризованные как панкреатическая внутриэпителиальная неоплазия и хронический панкреатит.

В силу исключительной злокачественности (соотношение показателей смертности и выживаемости составляет 0,99) и ряда других причин РПЖ представляет собой актуальную проблему абдоминальной хирургии. Согласно данным официальной статистики, РПЖ традиционно входит в число первых десяти наиболее распространенных опухолей человека. В Российской Федерации и Санкт-Петербурге эта опухоль экзокринной части ПЖ диагностируется в 8,6 и 14,8 случаев на 100 тысяч человек населения соответственно. Приведенные показатели характеризуют уровень заболеваемости РПЖ как постоянно растущий (на 30% в течение последних 30 лет) и занимающий третье место в структуре злокачественной патологии органов желудочно-кишечного тракта [1, 2].

К сожалению, на момент формулирования окончательного диагноза почти у 50% больных с РПЖ констатируют наличие инвазии опухоли за пределы границ ПЖ. Более того, 1/3 больных свойственны также отдаленные (гемато-, лимфогенные) метастатические поражения ряда органов и тканей [1]. Между тем, они в 90% случаев определяют летальный исход любых онкологических заболеваний. Так, 5-летняя выживаемость пациентов с четвертой стадией РПЖ не превышает 2% [3].

Причинно-следственные связи продолжают оставаться для РПЖ не до конца изученными. Современная панкреатология большое внимание уделяет в этом плане концепции факторов риска (ФР) [4, 5, 6]. Комплекс максимально значимых ФР развития РПЖ принято разделять на управляемые и неуправляемые. В качестве неуправляемых рассматривают следующие ФР:

- возраст;
- пол;
- генетические нарушения;
- наследственная предрасположенность.

С общебиологических позиций необходимо признать закономерным, что уровень заболеваемости РПЖ взрослого населения положительно коррелирует с возрастом (максимальные показатели регистрируются

в диапазоне 60–70 лет, тогда как до 45 лет РПЖ встречается редко). При этом мужчины болеют РПЖ в 1,5 раза чаще женщин.

РПЖ, как правило, развивается спорадически, то есть в отсутствии семейного отягощения по данной нозологии. Вместе с тем, известен ряд генов (онкоген K-ras, классические антионкогены или супрессоры опухолевого роста p16, p53), мутации которых ответственны за инициацию канцерогенеза. Роль в его механизме других 13 генов, которые также в данном случае контролируют опухолевый рост, выявляется с меньшим постоянством [3].

Объективно документирован факт выраженного (до 10%) повышения заболеваемости РПЖ среди пациентов, которые имели ближайших (кровных) родственников с аналогичным диагнозом. Семейная история развития опухоли убедительно аргументирует наследственно-генетическую теорию происхождения РПЖ.

Переходя к рассмотрению управляемых ФР развития РПЖ, отметим их превалирование в количественном аспекте над неуправляемыми:

- Острый и хронический панкреатит (ХП). Данные заболевания сейчас общепризнанно рассматривают как две фазы единого патологического процесса (воспалительно-деструктивного синдрома в ткани ПЖ). Косвенным подтверждением правомерности указанной точки зрения является факт пятикратного повышения риска развития РПЖ для больных с 20-летним анамнезом ХП [4, 7];
- Заболевания желчевыведительной системы, главным образом, желчнокаменная болезнь и хронический холецистит. Данная патология, учитывая анатомо-физиологическую взаимосвязь, которая объективно существует между ПЖ и желчным пузырем, способна часто осложняться ХП. Терминальная стадия последнего представляет собой РПЖ;
- Сахарный диабет (СД). Морфологическая основа типового нарушения эндокринной функции ПЖ представлена гиперплазией эпителия панкреатических протоков, которая склонна к малигнизации. Риск развития РПЖ для больных СД значительно (в 2–7 раз) возрастает. При этом СД регистрируется у 15% пациентов, которые страдают РПЖ. Опухоль часто манифестирует именно как диагностированный впервые СД;
- Опухоли эндокринной части ПЖ (инсулинома, гастринома, глюкагонома, карциноиды, вилома, соматостатинома). Злокачественность клинического течения этой группы опухолей имеет выраженные колебания (20–90%);
- Хроническая интоксикация алкоголем. Совместно с курением сигарет относится к ведущим факторам, которые способны провоцировать раз-

витие ХП. Данный диагноз — результат 90% случаев ежедневного, на протяжении 10 лет, приема 150–200 мл этанола [7]. Доза указана в пересчете на абсолютный этиловый спирт;

- Табакокурение. Никотинизм в 2–5 раз увеличивает риск развития РПЖ по сравнению с остальной популяцией. Приведенные оценки носят достаточно усредненный характер. Необходимо учитывать количество ежедневно выкуриваемых сигарет, длительность стажа аутоагрессии, общую резистентность организма, а также генетически детерминированную его чувствительность к вредным компонентам табачного дыма;
- Нарушение концепции сбалансированного питания. Эпидемиологические исследования позволяют выявить наличие корреляции уровня заболеваемости РПЖ с гиперкалорийностью рациона (на этом основании ряд авторов квалифицируют ожирение как один из ФР развития РПЖ), повышением квоты жиров животного происхождения (мясо и продукты его переработки), на фоне дефицита биоантиоксидантов и пищевых волокон [4]. Сведения о канцерогенном значении кофе противоречивы. Одновременно с признанием роли чрезмерного употребления напитка (>3 чашек / в день) в развитии РПЖ [1] имеются данные, которые отрицают подобный эффект [5];
- Побочное действие лекарственных средств. Насчитывается >85 препаратов (сульфаниламиды, тетрациклины, глюкокортикоиды, тиазидные диуретики, противоопухолевые, противосудорожные, эстрогены и другие), которые потенциально способны индуцировать токсический панкреатит [7];
- Воздействие профессиональных и бытовых химических канцерогенов. Принято считать, что развитию РПЖ способствует контакт с пестицидами, нефтепродуктами, нитратами и нитритами, нитрозаминами и некоторыми другими вредными веществами. Согласно имеющимся оценкам, условия производства могут увеличивать риск развития РПЖ на 26% [8];
- Другие управляемые ФР развития РПЖ: киста и травма ПЖ, состояния после холецистэктомии, резекции желудка, тонзилэктомии, глистные инвазии (описторхоз, эхинококкоз).

Распознавание РПЖ на ранней, то есть операбельной стадии заболевания неизменно затруднено. В этой связи диагностический алгоритм при подозрении на РПЖ должен наряду с инструментальными методами включать лабораторные исследования, в частности, определение уровня онкомаркеров (ОМ) в сыворотке крови [1].

Карбоангидратный антиген СА19-9 общепризнанно рассматривается в качестве главного ОМ выбора при РПЖ [6, 9, 10, 11, 12].

Данный ОМ относится к антигенам, которые ассоциированы с мембранами опухолевых клеток, и представлен муцином с молекулярной массой 10 кДа. Муцины — гликопротеины, содержащие преимущественно О-связанные олигосахариды, секретируемые эпителием слизистых оболочек бронхиальных желез, желудка, поджелудочной железы и желчного пузыря.

Референсное значение концентрации СА19-9 в сыворотке крови взрослого здорового человека 0–37 Ед/мл. Биологический период полураспада молекулы ОМ 5 дней. Выводится из организма с желчью.

Диагностическая чувствительность и специфичность теста — 70–87% [9]. Недостаточно высокая чувствительность теста минимизирует перспективность его использования в целях доклинической диагностики РПЖ и особенно скрининга.

Отсутствие необходимой специфичности ОМ вызвано наличием достаточно широкого круга заболеваний, которые ассоциируются с увеличением его уровня [14]:

- злокачественные опухоли неопанкреатической локализации — гепато- и холангиогенная карцинома, рак внепеченочных желчных путей, желудка, легких, матки, молочной железы, толстого кишечника, яичников (особенно рак муцинозного типа);
- панкреатит (острый и хронический);
- заболевания печени и желчевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта, органов кровообращения, почек и эндокринной системы;
- острые и хронические заболевания бронхо-легочной системы.

Показано, что при РПЖ уровень СА19-9 коррелирует со стадией опухолевого процесса (табл. 1) [14]. Сверхвысокие концентрации ОМ соответствуют неоперабельному РПЖ: только 5% больных с уровнем СА19-9 > 1000 Ед/мл может быть проведено хирургическое лечение.

Из данных таблицы 1 очевидно, что степень повышения уровня ОМ является диагностическим критерием выраженности тяжести заболевания в ПЖ, которую необходимо выяснять в ходе предоперационной диагностики. Стадирование РПЖ предопределяет тактику лечения и прогноз. Необходимо подчеркнуть следующее обстоятельство. Частота выявления антигена при РПЖ всегда ниже 100%. Эта закономерность связана с тем, что 7–10% представителей популяции не синтезирует данный ОМ.

Антигенную детерминанту СА19-9 и группы крови Льюис Le (a-/b-) кодирует один ген. Соответственно, даже при РПЖ значительных размеров в указанной группе больных будет регистрироваться низкая экспрессия СА19-9. После проведения радикальной операции (панкреатодуоденальной резекции) больных РПЖ необходимо наблюдать в динамике [4].

Мониторинг уровня СА19-9 позволяет своевременно выявить биохимический рецидив заболевания, что

Таблица 1. Уровень СА19-9 при различных стадиях РПЖ

Стадия заболевания	Количество больных	СА19-9 (Ед/мл), М ± m
1	5	19,2 ± 5,9
2	17	204,0 ± 7,7
3	29	225,3 ± 47,2
4А	76	601,6 ± 104,0
4Б	56	1313 ± 161,3

Примечание. Показатели вариации: М — среднее значение, m — стандартная ошибка среднего.

обеспечивает возможность назначения адекватной лучевой и/или химиолучевой терапии.

Снижение уровня ОМ до референсного значения, определяемое через месяц после удаления опухоли ПЖ, подтверждает необходимую радикальность выполненного хирургического вмешательства, в то время как рост уровня СА19-9, регистрируемый в динамике (биохимический рецидив), свидетельствует о высоком риске прогрессирования опухолевого процесса.

Итак, проведение тестирования ОМ целесообразно в следующих клинико-диагностических ситуациях [6, 14, 15]:

- дифференциальная диагностика РПЖ и неопухолевых заболеваний ПЖ;
- выработка прогноза течения заболевания;
- контроль хирургического лечения РПЖ для оценки достаточности объема операционного вмешательства;
- мониторинг эффективности проводимой лекарственной (включая гормоно-, химиотерапию, таргетные препараты) и/или лучевой терапии;
- диагностика развития биохимического рецидива РПЖ и/или метастазов первичной опухоли более чем за 3–6 месяцев до появления клинической симптоматики.

В современных условиях для количественного определения антигена СА19-9 используют следующие методы:

- иммуноферментный (ИФА);
- электрохемилюминесцентный (ЭХЛА);
- молекулярно-генетический (МГА).

Обоснованная точность и правильность результатов тестирования ОМ могут быть достигнуты путем максимального учета комплекса факторов, которые потенциально присутствуют на каждом этапе лабораторного исследования. В технологическом процессе определения ОМ выделяют три выполняемых последовательно этапа:

преаналитический, аналитический и постаналитический.

Преаналитический этап (требования к пробе):

- сыворотки крови, которые имеют визуально определяемые признаки иктеричности, гемолиза и липодемии, не подлежат дальнейшему исследованию;
- центрифугирование (получение сыворотки крови) должно проводиться не позднее 1 часа после доставки пробы в клинико-диагностическую лабораторию (КДЛ);
- предельные сроки хранения сыворотки, в зависимости от температурного фактора, составляют 24 часа (+4 °С) или 6 месяцев (–20 °С);
- повторение циклов замораживание/оттаивание аликвотированных сывороток не допускается;
- контаминация пробы должна быть исключена.

Аналитический этап. Количественное определение сывороточного СА19-9 проводят методом ИФА, где принцип детекции основан на избирательном связывании антигена специфическими антителами. Особо позитивной оценки заслуживает вариант, связанный с использованием комплекса стрептавидин-биотин. Данная технология нашла свое применение в российском наборе «ОнкоИФА-СА19-9» производства «Алкор Био» (Санкт-Петербург). В нем реализован двухстадийный «сэндвич»-вариант количественного иммуноферментного анализа. На планшет помещаются молекулы стрептавидаина.

На первом этапе анализа в лунки добавляются калибровочные пробы, контрольная сыворотка, исследуемые образцы и конъюгат моноклональных антител с биотином. Биодоступность и высокое сродство стрептавидаина к биотину обеспечивает специфическое связывание данных молекул с образованием комплекса стрептавидин-биотин-моноклонального антитела к СА19-9.

На втором этапе анализа после промывки планшета добавляются конъюгированные с пероксидазой антитела, специфичные к определенному эпитопу ОМ. Далее меченое ферментом антитело связывается с молекулами СА19-9, которые были иммобилизованы в процессе первой инкубации. После ее завершения промывают планшет, что приводит к реакции с раствором тетраметилбензидина (ТМБ), завершению (полной остановке) процесса с количественным учетом результата исследования.

Реализация данной схемы ИФА для определения ОМ, благодаря выраженной способности биотинных молекул связываться со стрептавидином, позволяет значительно расширить диапазон определяемых концентраций (в наборе «Алкор Био» он составляет 0–500 Ед/мл). При этом так называемый хук-эффект высоких концентраций (обратно пропорциональная зависимость величины оптической плотности от концентрации) в наборе «ОнкоИФА-СА19-9» отсутствует. Указанные аналитические характеристики данной тест-системы позволяют без предварительного разведения обрабатывать значительные количества проб с высоким уровнем ОМ.

Все перечисленное выше создает возможность для эффективного использования данной тест-системы для контроля уровня СА19-9.

Надежность получаемых результатов является ключевой предпосылкой использования СА19-9 в диагностических целях. Условия обеспечения подобной надежности применительно к различным анализам (ОМ) регламентирует ГОСТ Р 53022.2–2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность)». Установленные данным стандартом требования к точности, правильности и воспроизводимости результатов анализа СА19-9 представлены в таблице 2.

Постаналитический этап. Лабораторный отчет, в дополнение к полученному результату анализа, должен содержать следующую информацию:

- метод тестирования уровня СА19-9;
- референсные значения ОМ при данном варианте аналитической процедуры;
- чувствительность анализа;
- производитель тест-системы.

Больные РПЖ нуждаются в динамическом наблюдении. В этой связи увеличивается значение рациональной организации архивирования получаемых аналитических данных.

Здесь можно рекомендовать использовать лабораторный паспорт исследований уровня СА19-9 (табл. 3 и 4).

Выводы:

1. Оптимальный вариант мониторинга уровня СА19-9 предполагает его проведение в одной и той же КДЛ. Основу подобного подхода составляет аналитический метод, не отличающийся от использованного на старте лечебно-диагностического процесса. Интерпретация причин выявляемых изменений уровня ОМ нуждается в постоянном консультационном участии клиницистов.
2. Состав аналитических систем, применяемых в КДЛ достаточно разнообразен. Отсюда разброс результатов, получаемых при определении уровня СА19-9, когда они исследуются различными КДЛ. Решение этой проблемы может достигаться за счет использования качественных контрольных материалов отечественных разработчиков (например, панели «ПолиКМ-онко», при помощи которой оценивается правильность и воспроизводимость полученных результатов количественного анализа одиннадцати маркеров. Наряду с СА19-9 данный перечень включает следующие ОМ: АФП, РЭА, СА125, СА15-3, ПСА общий, ПСА свободный, ХГЧ, пролактин, тиреоглобулин, ферритин.

Таблица 2. Дифференцированные биологически обоснованные критерии точности определения антигена СА19-9 в сыворотке крови (извлечение из таблицы Б1 ГОСТ Р 53022.2-2008)

Целевые значения, %		Второй уровень – базовый			
		Предельно допустимые значения, %			
CV	B	CV ₁₀	± B ₁₀	CV ₂₀	± B ₂₀
12,25	24,04	20,09	31,64	16,78	29,41

Примечание:

CV – коэффициент аналитической вариации (характеристика воспроизводимости метода), рассчитываемый по результатам однократного анализа однородного материала в 10 (CV₁₀ %) или 20 (CV₂₀ %) аналитических сериях;

B – предельно допустимые значения смещения среднего арифметического результатов анализа в первых 10 (± B₁₀ %) или 20 (± B₂₀ %) аналитических сериях от установленных значений определяемых показателей.

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПАСПОРТ ИССЛЕДОВАНИЙ НА МАРКЕРЫ РАКА
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

1. Лечебное учреждение _____
2. Фамилия _____ Имя _____ Отчество _____ больного
3. Возраст _____ лет
4. Диагноз _____ стадия I, II, III, IV (нужное подчеркнуть), гистологический тип опухоли _____
5. Проведенное лечение _____

Таблица 3. Динамика уровня онкомаркеров

Дата исследования	Название ОМ, уровни (Ед/мл)					
	СА19-9		РЭА		АФП	
	РВ	ЛВ	РВ	ЛВ	РВ	ЛВ

Условные обозначения:

ОМ – онкомаркер

РВ – референсная величина

ЛВ – лабораторная величина

Таблица 4. Лабораторный отчет о проведенных исследованиях

Название ОМ	Дата тестирования	Метод определения	Основное оборудование	Тест-система	Подпись врача КДЛ
СА19-9					
РЭА					
АФП					

3. Дальнейший прогресс в области молекулярной диагностики РПЖ логично ассоциировать с изысканиями, которые будут концентрироваться вокруг двух научно-прикладных проблем.

Первая сводится к сравнительному изучению различных вариантов применения СА19-9 в сочетании с другими онкофетальными антигенами (АФП, РЭА, СА242, СА50, СА72-4). Сочетанное использование

СА19-9 и РЭА повышает диагностическую чувствительность теста до 87% (операбельные опухоли) и до 98% в случае наличия метастазов РПЖ [9].

Осуществляемая с помощью иммуногистохимических методов разработка очередной из формулированных проблем должна максимально способствовать адекватному пониманию диагностической значимости муцинов при РПЖ.

Литература

1. Избранные лекции по факультетской хирургии: учебное пособие / ред. В. В. Леванович, Н. Ю. Коханенко. СПб.: Изд-во Н-Л, 2011: 464 с.
2. Клиническая онкология: учебное пособие / Под ред. П. Г. Брюсова, П. Н. Зубарев. СПб.: СпецЛит: 2012. 455 с.
3. Чубенко В. А. Индивидуализация лечения опухолей желудочно-кишечного тракта // Практическая онкология. 2013; 14 (4): 216–222.
4. Маев И. В. Рак поджелудочной железы // Гастроэнтерология: национальное руководство / Под ред. В. Т. Ивашкина, Т. Л. Лапиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008: 551–573.
5. Онкология. Под ред. Д. Касчиато / Пер. с англ. М.: Практика, 2008: 1039 с.
6. Онкология. Национальное руководство. Краткое издание / Под ред. В. И. Чиссова, М. И. Давыдова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 576 с.
7. Маколкин В. И., Овчаренко С. И., Сулимов В. А. Внутренние болезни: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 786 с.
8. Онкология: Справочник практического врача / Под ред. И. В. Поддубной. М.: МЕДпресс-информ, 2009: 768 с.
9. Алексеева М. Л., Гусарова Е. В., Муллабаева С. М., Панкратова Т. С. Онкомаркеры, их характеристика и некоторые аспекты клинико-диагностического использования (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2005; 11 (3): 65–79.
10. Матинян О. И. Опухолеассоциированный антиген СА19-9 в дифференциальной диагностике заболеваний поджелудочной железы. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М., 1990: 18 с.
11. Сергеева Н. С., Маршутина Н. В. Общие представления о серологических биомаркерах и их месте в онкологии // Практическая онкология. 2011; 12 (4): 147–154.
12. Скворцов С. В. Значение опухолеассоциированных антигенов (СА 19–9, раково-эмбрионального антигена, альфа-фетопротеина) в диагностике и прогнозировании течения рака поджелудочной железы. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1994: 21 с.
13. Скворцов С. В., Кушлинский Н. Е., Кадагидзе З. Г., Касумов Ч. М. СА19-9, раково-эмбриональный антиген и альфа-фетопротеин в сыворотке крови неонкологических больных и их клиническое значение // Бюл. экспер. биол. 1997; 123 (5): 566–569.
14. Коханенко Н. Ю. Клиника, диагностика, хирургическое и комплексное лечение рака поджелудочной железы. Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб., 2001: 39 с.
15. Лядов В. К., Лер Й-М., Андрен-Сандберг О. Прогностические факторы при резектабельном раке поджелудочной железы. М.: Медпрактика-М, 2010: 148 с.