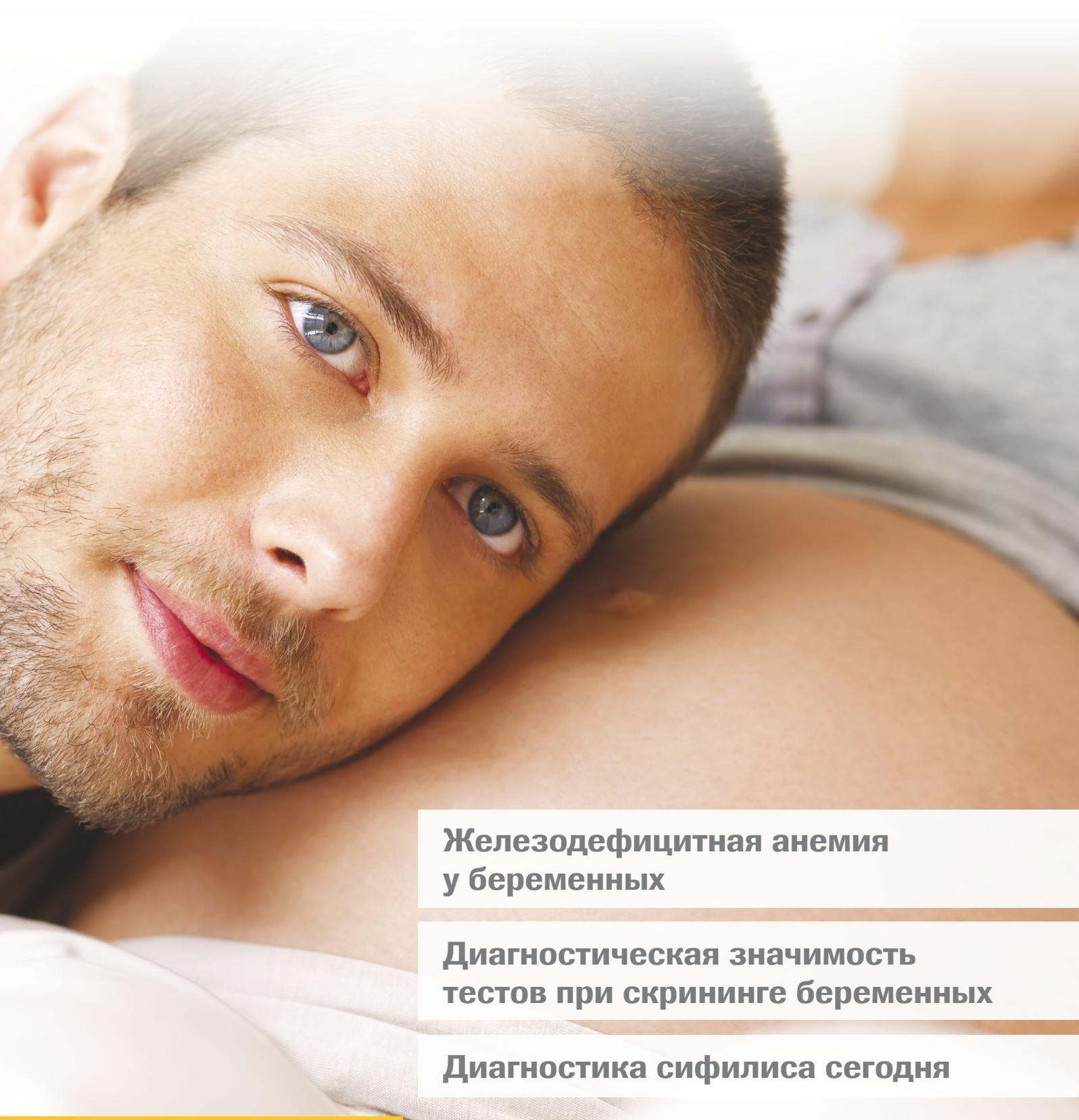


Диагностика в диалоге



**Железодефицитная анемия
у беременных**

**Диагностическая значимость
тестов при скрининге беременных**

Диагностика сифилиса сегодня

Уважаемые читатели!

Какие из недавних достижений лабораторной медицины вы бы назвали в первую очередь? Растущую актуальность лабораторной автоматизации и экономичные решения или инновации в области качества медицинских услуг и ухода за пациентами?

Повышение эффективности процессов остается ключевой задачей для лабораторий в России и во всем мире, однако я хочу остановиться на трех недавних достижениях диагностики *in vitro*.

В январе 2016 года «Медицинский журнал Новой Англии» (*New England Journal of Medicine*) опубликовал результаты многоцентрового исследования PROGNOSIS. Преэклампсия – это частое и весьма серьезное осложнение беременности, для которого до настоящего времени не существовало эффективного метода прогнозирования. По мнению экспертов, теперь акушеры-гинекологи могут вести беременную женщину из группы высокого риска, опираясь на более четкие диагностические критерии. Отношение sFlt-1/PlGF (антиангиогенного/проангиогенного факторов) позволяет исключить преэклампсию в краткосрочной перспективе или оценить вероятность ее развития в последующие четыре недели, опираясь на установленные в исследовании дискриминационные значения. Отношение ангиогенных факторов можно рассчитать на основе двух полностью автоматизированных па-

раметров на анализаторах линии *cobas e*.

Также в области кардиологии недавно были получены новые клинические результаты, касающиеся лабораторной диагностики. Была показана высокая клиническая значимость NT-proBNP при проведении терапии сердечной недостаточности с применением ARNI (рецептор ангиотензина – ингибитор неприлизина). Большое исследование PARADIGM показало, что ARNI превосходит устоявшиеся методы терапии по показателям смертности и повторной госпитализации. На основании фармакокинетики мозгового натрийуретического пептида, NT-proBNP показал себя как наиболее подходящий биомаркер для долгосрочного мониторинга терапии ARNI.

И наконец, исследования, опубликованные в последние годы, показали значительные медицинские преимущества ВПЧ-скрининга по сравнению с цитологическим анализом для ранней диагностики и профилактики рака шейки матки. Существуют подтвердившие свою эффективность и полностью автоматизированные ВПЧ-тесты, дающие количественную оценку важных с диагностической точки зрения онкогенных генотипов ВПЧ-16 и -18. Европейские рекомендации, принятые в конце 2015 года, на основе убедительных данных поменяли диагностическую парадигму, в которой теперь отдается предпочтение первичному

ВПЧ-скринингу женщин в возрасте старше 30 лет по сравнению с цитологическим мазком. Следуя примеру США, несколько европейских стран поменяли свою стратегию скрининга таким образом.

Эти примеры показывают, что лабораторная диагностика приобретает большее влияние на принятие клинических решений. В своей ежедневной работе лаборатории редко контактируют с пациентами напрямую. Так обстоят дела и в компании «Рош». Тем не менее мы всегда прилагаем усилия, чтобы изменить жизнь пациентов к лучшему. Следование этой цели вдохновляет сотрудников «Рош» на то, чтобы делать мировые диагностические инновации доступными для российского здравоохранения.



С уважением,
Тило Бреннер,
генеральный директор
ООО «Рош Диагностика Рус»

Содержание

Организация лаборатории

Региональный скрининг рака шейки матки в Ростовской области: открытый диалог. 4

Актуальные вопросы профилактической медицины

Влияние витаминов и минералов на результаты анализов у беременных женщин 8

Железодефицитная анемия у беременных. 13

Медицина и наука

Факторы риска ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста 18

Лабораторные анализы как ключевой этап в диагностике эндокринного бесплодия 23

Значение биохимических маркеров костного ремоделирования в жизни женщины. 28

Диагностика сифилиса сегодня. 33

Перспективы медицинской диагностики

Преимплантационная генетическая диагностика: вчера, сегодня, завтра. 36

Диагностическая значимость тестов при скрининге беременных. 41

Возможно ли прогнозировать развитие преэклампсии? Обзор исследования PROGNOSIS 45

Журнал «Диагностика в диалоге»
Рекламно-информационное издание
для медицинских специалистов

Учредитель: ООО «Рош Диагностика Рус»

Редакционная коллегия: Тихонова О.Ю., Берестовская В.С., Дыхал Ю.И., Шалупин А.В., Баймуканов А.М.

Выпуск № 8, 15.12.2017

Тираж: 950 экз.

Объем: 48 полос

Периодичность: 2 раза в год

Бесплатно

Адрес редакции и издателя: ООО «Рош Диагностика Рус»

115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2, БЦ «Вивальди Плаза»

Тел.: +7 (495) 229-69-99; факс: +7 (495) 229-62-64

www.rochediagnostics.ru

Адрес типографии: ООО «Компания БОРГЕС», 115162, Москва, ул. Хавская, д. 18, корп. 2

Региональный скрининг рака шейки матки в Ростовской области: открытый диалог



По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире от рака шейки матки (РШМ) ежегодно погибает 270000 больных, это вторая по частоте распространения причина смерти среди женщин. В 2016 году в России зарегистрировано 16423 больных с впервые в жизни установленным диагнозом «злокачественная опухоль шейки матки». Ежегодно с 2013 по 2016 год количество новых случаев увеличивалось на 3%¹. Несмотря на то, что в большинстве случаев РШМ развивается продолжительное время – около 10 лет, – чаще он выявляется на поздних стадиях, когда процент выздоровления больных крайне низок.

Проблема заключается не только в поздней выявляемости данного заболевания, но и в гипердиагностике с последующим «залечиванием» пациенток. Неэффективные методы приводят к тому, что пациенткам назначают неадекватное лечение.

На сегодняшний день в некоторых развитых странах, таких как Нидерланды, Швеция, Финляндия, организован скрининг, при котором удается на ранних этапах выявить рак шейки матки и спасти жизни миллионам женщин. Что же включает в себя современный скрининг рака шейки матки?

До недавнего времени одним из основных методов цервикального скрининга служило традиционное цитологическое

исследование, или ПАП-тест, названный так в честь ученого Георгиоса Папаниколау, предложившего данный метод диагностики рака шейки матки². Наряду с преимуществами ПАП-тест имеет свои недостатки, одним из которых является вероятность получения ложноотрицательных результатов, которые связаны с неполным переносом материала на стекло, обилием слизи и форменных элементов крови. На смену ПАП-тесту пришла жидкостная цитология, где материал собирается в виалу со специальной транспортной средой, которая обеспечивает сохранность клеток от месяца до полугода. С помощью автоматизированного оборудования материал из транспортной среды наносится на стекло в виде монослоя

клеток, при этом удаляются слизь и кровь, что на 95% снижает число неадекватных мазков. Также одним из главных преимуществ жидкостной цитологии является возможность использования материала, собранного в вials с консервирующей средой, и для других диагностически значимых тестов, например для выявления вируса папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ ВР).

В 1979 году немецкий медик и ученый Харальд цур Хаузен установил связь между вирусом папилломы человека (ВПЧ) и развитием рака шейки матки³. ВПЧ представляет собой группу вирусов, включающую более 100 типов, 14 из которых относятся к группе вирусов высокого онкогенного риска, в особенности 16-й и 18-й типы. ВПЧ встречаются примерно в 70% всех инвазивных цервикальных карцином, поэтому так важно осуществлять генотипирование, чтобы выявить наиболее опасные, высокоонкогенные типы⁴. В США и Европе тестирование на ВПЧ высокого онкогенного риска проводят для женщин с ASCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance – атипичные клетки неясного значения), а также в дополнение к цитологическому исследованию.

На сегодняшний день существует множество алгоритмов первичного скрининга, включающих только цитологическое исследование или комбинированное тестирование, которое совмещает в себе цитологию и ВПЧ (рис. 1 и 2). В исследовании ATHENA, где участвовало 47000 женщин в возрасте от 21 года, было показано, что, в



Рисунок 1. Первичный ВПЧ-скрининг³

то время как жидкостная цитология выявляет патологические изменения в 53,3% случаев, при комбинированном методе чувствительность возрастает до 96,7%⁵.

Все больше профессиональных сообществ, например ASCCP (Американское общество кольпоскопии и цервикальной патологии) отдают предпочтение именно комбинированному тестированию у женщин от 30 лет и рекомендуют немедленное кольпоскопическое исследование у женщин с нормальной цитологией NILM (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy), инфицированных 16-м или 18-м типами ВПЧ (табл. 1).

Такого рода комбинированное тестирование с использованием одной виалы с цитологическим материалом оптимизирует работу лаборатории, врача-гинеколога и сам алгоритм скрининга.

Что же происходит со скринингом в России? В РФ организованный скрининг отсутствует, он носит скорее оппортунистический характер, то есть несистематический. При таком подходе добиться уменьшения смертности и улучшения качества жизни крайне сложно, но на сегодняшний день ситуация меняется благодаря развитию региональных программ скрининга с использованием иностранных рекомендаций.

Мы поговорили с заведующей лабораторией клинической патоморфологии и молекулярно-биологических исследований ОКДЦ, к.м.н., врачом высшей квалификационной категории Татьяной Олеговной Холодной о том, как удалось организовать полноценный скрининг патологии шейки матки в Ростовской области.

Татьяна Олеговна, на базе ОКДЦ организован Центр патологии шейки матки, который ставит перед собой

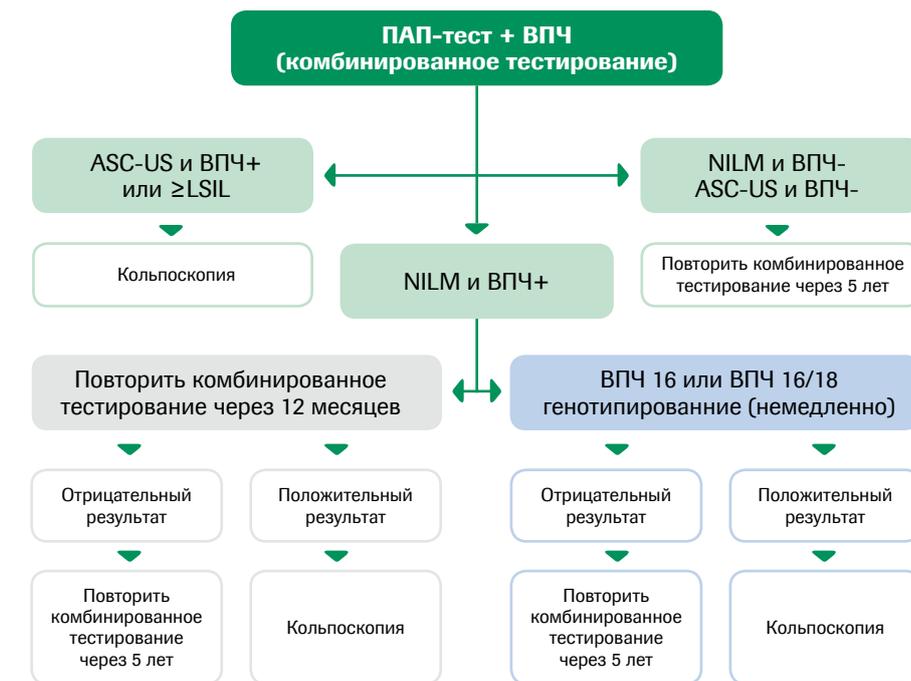


Рисунок 2. Комбинированный скрининг⁴

задачу диагностики и лечения. Как появилась идея его организовать?

Последние десять лет заболевание раком шейки матки молодеет, значительно увеличилось количество случаев рака у женщин до 30 лет. С 2002 года после внедрения цитологического исследования в перечень услуг нашего учреждения и по настоящий день удалось улучшить диагностические показатели выявления патологии шейки матки в Ростовской области, что позволило рассмотреть данный метод как скрининговый.

Вами была проделана огромная работа по организации скрининга. Расскажите, пожалуйста, как все начиналось и к чему удалось прийти?

Сначала были приказы Министерства здравоохранения Ростовской области (№1375, 829 и 1423) о скрининге с оказа-

нием онкологической помощи по раннему выявлению рака шейки матки по области, на основании которых область была поделена на 6 межрайцентров с централизованными цитологическими лабораториями; мы являемся одной из них. К каждой лаборатории были прикреплены пациенты близлежащих учреждений для выполнения цитологических исследований методом жидкостной цитологии (рис. 3).

В 2008 году на базе ГАУ РО «ОКДЦ» был организован Областной центр патологии шейки матки под руководством к.м.н., врача – акушера-гинеколога Димитриды Татьяны Александровны, где наблюдаются пациентки города и области. На основании мирового опыта комбинированного скрининга рака шейки матки и собственных наработок, в учреждении в программу обследования женщин при первичном обращении включен ВПЧ-тест, помимо традиционного цитологического контроля и расширенной видеокольпоскопии. Имея центр патологии шейки матки, технические возможности и основываясь на зарубежных рекомендациях ASCCP, мы организовали комбинированный скрининг.

На сегодняшний день, благодаря Министерству здравоохранения Ростовской области и главному врачу ГАУ РО «ОКДЦ», д.м.н. Бурцеву Дмитрию Владимировичу, в лаборатории есть все необходимое для скрининга: современное оборудование

Таблица 1. Рекомендации Американского общества кольпоскопии и цервикальной патологии

Результат цитологии	Исследование на ВПЧ	Тактика
ASC-US	ВПЧ-ВР-	Повторная цитология через 1 год
ASC-US	ВПЧ-ВР+	Кольпоскопия
NILM	ВПЧ-ВР-	Повторный скрининг не ранее чем через 3 года
NILM	ВПЧ-ВР+	Рекомендовано тестирование на ВПЧ 16 и 18
NILM	ВПЧ-16+/18+	Немедленная кольпоскопия

для жидкостной цитологии, автоматизированная станция просмотра препаратов и оборудование для выявления ВПЧ, которые помогают не пропустить патологические изменения шейки матки.

Что сейчас входит в программу скрининга в вашем учреждении?

По приказу Минздрава России от 01.11.2012 №572н, помимо цитологического исследования в базовый объем обследований в амбулаторных условиях входит и контроль ПЦР на вирус папилломы человека. Используя комбинированное тестирование – цитологию и генотипирование на 16-й и 18-й высокоонкогенные типы ВПЧ, можно существенно повысить выявляемость РШМ и определить группы риска, а следовательно, не упустить и продолжать мониторить ВПЧ-положительных женщин.

Скрининг под собой подразумевает не только выявление предрака, но и дальнейший мониторинг больных. Как удастся не потерять пациенток и контролировать их состояние в дальнейшем?

При выявлении цервикальной патологии на пациентку выделяются квоты (адресная помощь) для углубленной диагностики и лечения и направляются индивидуальные приглашения на прием к врачу-гинекологу в ГАУ РО «ОКДЦ». Возможность продолжить дальнейшую углубленную диагностику мотивирует женщин возвратиться на дополнительные процедуры.

Татьяна Олеговна, Вы упоминали о современном оборудовании, с помощью которого проводится скрининг. Не могли бы Вы немного поподробнее рассказать о нем?

Да, конечно. Начинается все с того, что врач-гинеколог с помощью специальных щеток забирает у пациентки материал в вials с консервирующей средой и направляет к нам в учреждение. Здесь мы готовим монослойные препараты, используя наиболее удобную технологию жидкостной цитологии, которая автоматизирует процесс пробоподготовки и стандартизирует окраску цитологического препарата по Папаниколу. С помощью автоматизированной станции просмотра препаратов мы сортируем их на те, что с патологией или изменениями, и те, что без них. Далее из тех же самых вials с помощью ПЦР-анализатора **cobas**® 4800 мы проводим тестирование на вирус папилломы человека.

АЛГОРИТМ

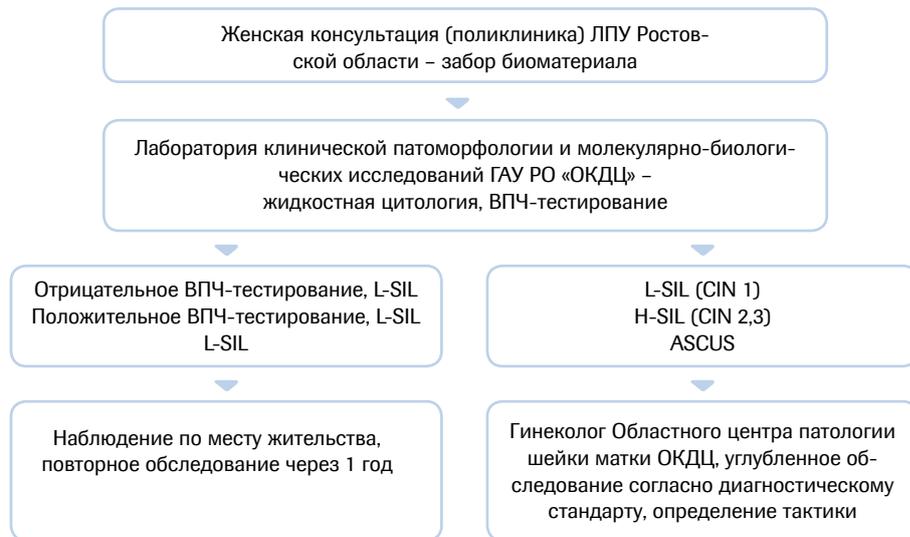


Рисунок 3. Информационное письмо «Диагностика и лечение патологии шейки матки»⁵

С точки зрения технических особенностей прибор идеально подходит для наших потребностей, так как используются стандартизированные процедуры пробоподготовки и амплификации, а выдача результатов занимает всего 5 часов с генотипированием ВПЧ ВР на 16-й, 18-й и другие высокоонкогенные типы.

Как изменился рабочий процесс с появлением данного прибора в лаборатории?

В первую очередь стало удобно работать гинекологам. Если раньше им приходилось на каждый тест осуществлять несколько заборов материала в разные флаконы, то сейчас забор материала производится один раз в вial с консервирующей средой. Второе, что стоит отметить, – удалось исключить человеческий фактор при проведении ПЦР В-третьих, удалось увеличить объемы тестирования без увеличения штата сотрудников лаборатории.

Также очень важно, что цитологию и ПЦР проводят в одной лаборатории, есть обратная связь от цитолога и специалиста молекулярной диагностики. Имеется возможность самоконтроля, прослеживания корреляции результатов, ведь бывают случаи, когда у женщин с нормальной цитологией тест обнаруживает ВПЧ ВР.

О том, насколько изменился рабочий процесс операторов с появлением прибора **cobas**® 4800, вы можете спросить у них, они с радостью поделятся своими впечатлениями.

Нам удалось пообщаться с биологами лаборатории клинической патоморфоло-

гии и молекулярно-биологических исследований ГАУ РО «ОКДЦ» Новиковой Екатериной и Усольцевой Полиной и узнать, что изменилось в ежедневной работе людей, которые первыми сталкиваются с любыми новшествами в лаборатории.

Екатерина, Полина, поделитесь, пожалуйста, как изменился рабочий процесс в лаборатории с появлением оборудования cobas® 4800?

Постановка тестирования от начала и до получения конечного результата на приборе **cobas**® 4800 длится 4 часа, только 1 час из этого времени биолог занят подготовкой материала и запуском прибора, остальное освободившееся время можно потратить на запуск других тестов. С появлением данного оборудования удалось повысить производительность лаборатории и при этом разгрузить себя.

Какие характеристики прибора вы считаете наиболее удобными в работе?

Прибор контролирует работу оператора и сигнализирует о допущенных ошибках. Таким образом, некорректная работа прибора из-за человеческого фактора исключена. Наличие системы штрих-кодов способствует быстрой загрузке образцов, очень удобно работать с программным обеспечением, несмотря на то что оно не русифицировано.

В среднем у нас проходит 2 постановки в день по 94 исследуемых образца. На запуски тратится всего два часа рабочего времени, а ответ получают почти 200 пациенток.

На примере данного учреждения можно наглядно ознакомиться с организованной программой регионального скрининга. Четко отлаженный алгоритм скрининга, заинтересованность Министерства здравоохранения Ростовской области, главного врача Бурцева Дмитрия Владимировича, заведующей лабораторией клинической патоморфологии и мо-

лекулярно-биологических исследований ОКДЦ Холодной Татьяны Олеговны и руководителя Центра патологии шейки матки Димитриады Татьяны Александровны и, конечно же, новейшее оснащение лаборатории позволили воплотить в жизнь эффективную программу, которая помогает на ранних этапах выявлять патологические поражения шейки матки, будущий

риск интраэпителиальных поражений и назначать адекватное лечение, поддерживая здоровую жизнь пациенток.

Автор статьи:

Я.А. Матвеева

Специалист по продукции

ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. Москва, 2017. 235 с.
2. Papanicolaou G. *New cancer diagnosis. In: Third Race Betterment Conference, 1928. Battle Creek, MI: Race Betterment Foundation. 1928: 528-534.*
3. Zur Hausen H. *Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. Curr Top Microbiol Immunol. 1977;78: 1-30.*
4. Castle PE., Stoler M.H., Wright T.C. Jr. et al. *Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. Lancet Oncol. 2011. Vol.12. №9. P. 880-890.*
5. Huh W.K., Ault K.A., Chelmow D. et al. *Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: Interim clinical guidance. Gynecol Oncol. 2015;136:178-182.*
6. Saslow D., Solomon D., Lawson H. et al. *American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. CA Cancer J Clin. 2012;62(3):147-172.*

Влияние витаминов и минералов на результаты анализов у беременных женщин

Инстинкт самосохранения — это врожденная форма поведения живых существ в случае возникновения опасности, действия по спасению себя от этой опасности¹. Именно им руководствуется любая женщина при желании выносить здоровое потомство, и именно он будет главнейшим инстинктом, который с каждым месяцем беременности будет переходить из «самосохранения» в «сохрани потомство». Беременность требует здорового питания, подразумевающего адекватную энергетическую ценность и потребление достаточного количества белков, витаминов и минеральных веществ, необходимых матери и плоду. Именно это заставляет женщину в период беременности действовать всегда по одному алгоритму: правильное питание, немного (или много) спортивной нагрузки, а также в этот перечень всегда включается прием цветных таблеток из красивой баночки с гордым названием «Витамины».

Далее всегда встает выбор между комплексными витаминами, моновитaminaми и минералами, биологически активными добавками в пищу. Прием одних веществ приводит к видимому эффекту, другие вещества имеют эффект плацебо, а некоторые просто губительно влияют на организм женщины, а также будущего ребенка. Не все задумываются, что прием некоторых активных веществ также может влиять на результаты лабораторных анализов.

На сайте Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) вы сможете найти методическое пособие «Рекомендации ВОЗ по оказанию дородовой помощи для формирования положительного опыта беременности», где собраны основные руководства для женщин во время беременности². Предполагается, что данные рекомендации по дородовой помощи станут источником информации для разработки соответствующих стратегий в области здравоохранения и клинических протоколов во всем мире.

Давайте разберем более подробно пункт о рекомендованных мероприятиях,



связанных с питанием, чтобы выяснить, прием каких витаминов рекомендован во время беременности, а далее попытаемся выяснить, может ли заявленная концентрация влиять на результаты анализов у беременных женщин. Интерференция различных веществ на измерение аналита не всегда может быть изучена, и даже крупные поставщики тест-систем для лабораторной диагностики не всегда могут ответить на вопрос: если пациентка принимала «витамины N», то может ли это привести к завышенному/заниженному результату, например, костного маркера P1NP?

В инструкции к любому иммунохимическому или биохимическому тесту компании «Рош» вы найдете раздел «Ограничения – интерференция», где будет приведена имеющаяся информация для теста по возможным интерферирующим факторам. В этом разделе приведена информация как о влиянии некоторых процессов, происходящих в крови (например, гемолиз, липемия, иктеричность), которые влияют на исследуемый аналит,

так и о пороговых концентрациях некоторых лекарственных и активных препаратов, которые могут влиять на сам процесс исследования аналита и на его стабильность в пробе.

В таблице 1 приведена выжимка из рекомендаций, связанных с приемом витаминизированных средств беременными женщинами.

Прием препаратов железа и фолиевой кислоты

Анемии беременных являются наиболее распространенным видом патологических состояний беременности. Анемия связана с дефицитом железа, фолиевой кислоты и витамина B12. По оценкам, в мире она наблюдается у 38,2% беременных³. При анемии страдает не только организм будущей матери, но и ребенок, который начинает испытывать гипоксию. Недостаток кислорода может негативно сказаться на формировании внутренних органов плода. Крайне важно во время беременности точно контролировать показатели железа в крови. Ожидаемые значения для железа при использовании

А. Мероприятия, связанные с питанием

	Рекомендация	Тип рекомендации
Прием препаратов железа и фолиевой кислоты	A.1.1. Для профилактики анемии, послеродового сепсиса, рождения маловесных детей и преждевременных родов. Беременным рекомендуется ежедневный прием внутрь препаратов железа в дозе 30–60 мг в пересчете на железо ^а и фолиевой кислоты ^б в дозе 400 мкг (0,4 мг) ^в	Рекомендовано
	A.1.2. Если ежедневный прием железа невозможен из-за побочных эффектов, а также если распространенность анемии среди беременных в популяции не превышает 20%, для улучшения материнских и неонатальных исходов беременным рекомендуется периодический прием внутрь препаратов железа в дозе 120 мг в пересчете на железо ^г 1 раз в неделю и фолиевой кислоты в дозе 2800 мкг (2,8 мг) 1 раз в неделю ^д .	Рекомендовано при определенных условиях
Прием препаратов кальция	A.2. В группах населения со сниженным потреблением кальция с пищей для снижения риска преэклампсии беременным рекомендуется ежедневный прием внутрь препаратов кальция в дозе 1,5–2 г в пересчете на кальций ^е .	Рекомендовано при определенных условиях
Прием препаратов витамина А	A.3. Назначать препараты витамина А для профилактики гемералопии (ухудшения сумеречного зрения) рекомендуется только беременным, проживающим в районах, где дефицит витамина А является серьезной проблемой общественного здравоохранения ^{ж,з} .	Рекомендовано при определенных условиях
Прием препаратов цинка	A.4. Назначение беременным препаратов цинка рекомендуется только в рамках научных исследований.	Рекомендовано при определенных условиях (научные исследования)

а 60 мг железа содержится в 300 мг сульфата железа гептагидрата, 180 мг fumarата железа и 500 мг глюконата железа.

б Прием препаратов фолиевой кислоты следует начинать как можно раньше (в идеале до зачатия) для профилактики дефектов нервной трубки.

в Данная рекомендация заменяет предыдущую из публикации ВОЗ «Guideline: daily iron and folic acid supplementation in pregnant women» (2012 г.).

г Сто двадцать миллиграммов железа содержится в 600 мг сульфата железа гептагидрата, 360 мг fumarата железа и 1000 мг глюконата железа.

д Данная рекомендация заменяет предыдущую из публикации ВОЗ «Guideline: intermittent iron and folic acid supplementation in non-anaemic pregnant women» (2012 г.).

е Данная рекомендация соответствует представленной в публикации «WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia» (2011 г.) и заменяет предыдущую из публикации ВОЗ «Guideline: calcium supplementation in pregnant women» (2013 г.).

ж Дефицит витамина А считается серьезной проблемой общественного здравоохранения, если у ≥5% женщин в анамнезе имеются указания на эпизоды ухудшения сумеречного зрения во время последней за предшествующие 3–5 лет беременности, закончившейся рождением живого ребенка, или если у ≥20% беременных уровень ретинола в сыворотке составляет <0,70 мкмоль/л. Определение дефицита витамина А как проблемы общественного здравоохранения подразумевает оценку его распространенности в популяции с помощью определенных биохимических и клинических показателей.

з Данная рекомендация заменяет предыдущую из публикации ВОЗ «Guideline: vitamin A supplementation in pregnant women» (2011 г.).

теста компании «Рош» (Iron Gen.2) для взрослых людей следующие: 5,83–34,5 мкмоль/л (33–193 мкг/дл). По результатам мультицентрового исследования Abbassi-Ghanavati M. et al. получены популяционные диапазоны содержания железа для беременных женщин⁴.

Единицы измерения	мкг/дл	мкмоль/л
Первый триместр	72–143	13–26
Второй триместр	44–178	8–32
Третий триместр	30–193	5–35

По рекомендации ВОЗ, все беременные на протяжении II–III триместров беременности и в первые 6 месяцев лактации должны получать препараты железа. Клинические исследования в Дании показали, что прием 40 мг двухвалентного железа начиная с 18 недели беременности предотвращает развитие железодефицитной анемии у 95% женщин⁵. Многочисленные исследования, проводимые Лабораторией обмена витаминов и минеральных веществ Института питания РАМН, показывают, что в зависимости от региона дефицит витаминов группы В (например, фолиевой кислоты) выявляется у 20–100% обследованных и при этом не всегда имеет клинические признаки⁶.

В инструкции к тесту на железо (Iron Gen.2) компании «Рош» указаны следующие рекомендации: «При использовании часто применяемых лекарственных средств в терапевтических концентрациях влияния не обнаружено^{7,8}. При приеме препаратов, связывающих металлы, железо может не вступать в реакции во время проведения тестов, что приводит к искусственно заниженным показателям⁹. За 5 дней до сдачи анализа рекомендуется прекратить прием препаратов железа, чтобы избежать получения ложнозавышенных результатов. Следует отметить, что в литературе нет достоверных источников о влиянии препаратов железа в дозе 30–60 мг в пересчете на железо на результаты лабораторных анализов.

По данным ряда исследований, расчетное количество железа, которое должно усваиваться организмом человека из витаминно-минерального комплекса, составляет около 3,5 мг, и это соответствует суточной потребности организма здорового человека. Однако исследование, проведенное на группах здоровых добровольцев, показало, что из комплексных препаратов всасывается от 1,8 до 3,1 мг железа. Это может быть объяснено тем, что существует конкуренция за белки-переносчики при всасывании между железом и кальцием, а также магнием, содержащимися в этих витаминно-минеральных комплексах¹⁰. Аналогичное уменьшение всасывания железа было показано при употреблении молока или сыра, содержащих кальций¹¹. Было показано, что при снижении содержания в витаминно-минеральном комплексе солей кальция и магния количество всасываемого железа увеличивается до суточной потребности организма (3,5 мг). В то же время при приеме комплекса, содержащего из металлов только железо, количество всосавшегося железа при той же дозе возрастает до 8,1 мг¹⁰.

Роль фолиевой кислоты в организме человека огромна. Она участвует в синтезе нуклеиновых кислот, в обмене белков, а следовательно, в процессах роста и деления клеток. Фолиевая кислота играет важную роль в формировании клеток крови. Дефицит фолиевой кислоты в организме матери затрагивает прежде всего формирующуюся у плода с конца второй недели беременности нервную систему. При выраженном дефиците существенно повышается риск развития дефектов нервной трубки, гидроцефалии, анэнцефалии, мозговых грыж. Организм человека не способен синтезировать фолиевую кислоту, поэтому данное химическое соединение мы можем получить только из пищи или в чистом виде при принятии витаминизированных добавок. Фолиевая кислота в значимых количествах содержится в зеленых свежих листьях (шпинат, петрушка, салат, зеленый лук), в овощах (различные виды капусты), в некоторых цитрусовых, в бобовых, в хлебе из муки грубого помола, дрожжах, печени, входит в состав меда. В небольших количествах данное соединение может производиться бактериями микрофлоры толстой кишки, но эти количества не покрывают суточной потребности в витамине. Для предотвращения возникновения дефекта нервной трубки плода на ранних сроках беременности ВОЗ

рекомендует принимать фолиевую кислоту в дозе до 400 мкг/день. Ожидаемые значения по тесту на фолиевую кислоту компании «Рош» для взрослых людей следующие: 4,6–34,8 нг/мл. По результатам мультицентрового исследования Abbassi-Ghanavati M. et al. получены популяционные диапазоны содержания фолиевой кислоты для беременных женщин⁴.

Единицы измерения	нг/мл
Первый триместр	2,6–15
Второй триместр	0,8–24
Третий триместр	1,4–27

При использовании теста компании «Рош» Folate III Elecsys, **cobas** e протестированы *in vitro* 16 широко применяемых фармакологических препаратов, а также эритропоэтин человека. В данных исследованиях влияния на результаты анализа данного анализата не обнаружено.

В литературе имеются данные о том, что не следует принимать большие дозы препаратов, содержащих фолиевую кислоту (более 800 мкг), менее чем за 24 часа до лабораторного исследования данного показателя.¹² Однако во многих литературных источниках заявленная влияющая концентрация фолиевой кислоты значительно выше.

Прием препаратов кальция

Кальций составляет 1,2–1,6% массы тела человека и необходим для ряда жизненно важных функций организма.

Во время беременности в результате увеличения объема плазмы происходит интенсификация почечной фильтрации, что, соответственно, способствует возникновению физиологической гиперкальциурии. Потери кальция при беременности объясняются также его транспортом от матери к плоду. Кальций нужен для роста костей и зубов, формирования нервной системы, сердца и мышц растущего плода. В течение беременности плод аккумулирует примерно 30 г кальция из материнского скелета, который в основном идет на формирование скелета плода в III триместре беременности¹³. Было выявлено, что по мере увеличения срока беременности плотность костной ткани уменьшается, растет число случаев остеопенического синдрома, возникающего в результате дефицита кальция¹⁴, который можно корректировать ком-

бинированными препаратами, снижающими резорбцию и увеличивающими плотность костной ткани. Очень важно отслеживать данный показатель в крови женщины на всем протяжении беременности. Ожидаемые значения по тесту на кальций компании «Рош» для взрослых людей следующие: 2,15–2,50 ммоль/л. По результатам мультицентрового исследования Abbassi-Ghanavati M. et al. получены популяционные диапазоны содержания кальция для беременных женщин⁴.

Единицы измерения	ммоль/л
Первый триместр	2,2–2,65
Второй триместр	2,05–2,25
Третий триместр	2,05–2,43

Некоторые причины повышенного уровня кальция – наличие злокачественного образования, гиперпаратиреоз, саркоидоз, интоксикация витамином D и гипертиреоз.

Данных об интерференции со стороны кальция на лабораторные результаты не сообщалось.

Прием препаратов витамина А и цинка

Прием препаратов витамина А и цинка вызывает множество споров, поскольку на территории Российской Федерации в основном нет необходимости в поддержании данных показателей в крови женщины искусственным способом, а не через прием соответствующей пищи, богатой данными препаратами. Разнообразие пищи и комбинирование мяса, овощей и круп компенсирует нехватку в организме витамина А и цинка, и их потребление в таблетированной форме становится ненужным.

Витамин D

С 2012 года в документах ВОЗ нет рекомендаций по приему Витамина D беременными женщинами (Рекомендации: дополнительный прием витамина D беременными), однако следует отметить, что согласно МР 2.3.1.2432-08 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» и «Федеральным клиническим рекомендациям по дефициту витамина D у взрослых – диагностика, лечение и профилактика»¹⁵ прием препаратов витамина D на территории РФ крайне актуален. Согласно данным до-

кументам, беременным и кормящим женщинам для профилактики дефицита витамина D рекомендуется получать не менее 800-1200 МЕ витамина D в сутки.

Витамин D является жирорастворимым предшественником стероидных гормонов, который в основном продуцируется в коже под воздействием солнечного света. Витамин D биологически инертен, а для превращения в биологически активную форму (1,25-дигидроксивитамин D) должен пройти два последовательных цикла гидроксирования в печени и почках¹⁶.

В организме человека витамин D существует в двух формах: витамин D3 (холекальциферол) и витамин D2 (эргокальциферол). Наибольшая часть витамина D в сыворотке представлена холекальциферолом^{17,18}. В отличие от витамина D3, витамин D2 не синтезируется в организме человека, а может быть получен при употреблении витаминизированных продуктов питания или пищевых добавок. В человеческом организме витамины D3 и D2 в связанном состоянии с витамин-D-связывающим белком транспортируются в печень, где обе формы гидроксилируются с образованием витамина D (25-OH), т.е. 25-гидроксивитамина D. Витамин D (25-OH) является метаболитом, который должен измеряться в крови для оценки

общего статуса по витамину D, так как он в наибольшей степени отражает запасы витамина D в организме человека. Эта первичная циркулирующая форма витамина D биологически неактивна, ее уровень в 1000 раз более высокий, чем у циркулирующего 1,25-дигидроксивитамина D.

Большая часть витамина D (25-OH), измеряемого в сыворотке, является витамином D3 (25-OH), при этом содержание витамина D2 (25-OH) достигает измеряемых уровней только у пациентов, принимающих витамин D2 в виде витаминной добавки^{17,18}.

В первом и втором триместрах у плода формируется большая часть органов и систем организма, в скелете происходит закладка матрикса коллагена, тогда как в третьем триместре начинается кальцификация скелета, что значительно повышает потребность в кальции¹⁵. Эта потребность восполняется повышенной продукцией 1,25(OH)2D почками матери и плацентой, что увеличивается постепенно к третьему триместру. Исследования свидетельствуют, что дефицит витамина D во время беременности ассоциирован с неблагоприятными исходами беременности: повышенным риском преэклампсии, инфекций, преждевременных родов, кесарева сечения, гестационного диабета.

Оптимальная конверсия витамина D в 1,25(OH)2D во время беременности достигается при уровне 25(OH)D более 40 нг/мл¹⁵. Ожидаемые значения по тесту на витамин D компании «Рош» для взрослых людей следующие: более 75 нмоль/л (более 30 нг/мл).

По результатам мультицентрового исследования Abbassi-Ghanavati M. et al. получены популяционные диапазоны содержания витамина D для беременных женщин⁴.

Единицы измерения	нг/мл	нмоль/л
Первый триместр	18-27	45-67
Второй триместр	10-22	25-55
Третий триместр	10-18	25-45

Выраженный дефицит витамина D с уровнями 25(OH)D менее 10 нг/мл может встречаться с частотой до 30% у беременных белых женщин в европейских странах и до 59-84% у беременных женщин другой этнической принадлежности. Уровни же ниже современных целевых значений в 30 нг/мл наблюдались у 86-88% беременных женщин.

Тест компании «Рош» Vitamin D, Elecsys, cobas e предназначен для количественного определения общего 25-гидроксивитамина D в сыворотке и плазме крови человека. Данный тест также можно использовать для оценки достаточности витамина D в организме и для мониторинга течения некоторых заболеваний. В качестве связывающего вещества в тест-системе Elecsys Vitamin D total используется белок, связывающий витамин D (VDBP), который присоединяется к витамину D3 (25-OH) и витамину D2 (25-OH), и, таким образом, указанная тест-система служит для измерения общего (суммарного) количества витамина D.

Выявленная интерференция при принятии витамина D была показана только на результаты кальция в крови. Однако указание конкретной концентрации найдено не было.

Обобщая полученную информацию, хочется отметить, что все рекомендации по приему витаминов беременными женщинами указывают на прием этих препаратов в низких терапевтических концентрациях и об их каком-либо существенном влиянии на результаты лабораторных анализов в литературе не упоминается.

Согласно рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов предлагается следующая интерпретация концентраций витамина D¹⁵:

Классификация	Уровни 25(OH)D в крови, нг/мл (нмоль/л)	Клинические проявления
Выраженный дефицит витамина D	<10 нг/мл (<25 нмоль/л)	Повышенный риск рахита, остеопороза, вторичного гиперпаратиреоза, миопатии, падений и переломов
Дефицит витамина D	<20 нг/мл (<50 нмоль/л)	Повышенный риск потери костной ткани, вторичного гиперпаратиреоза, падений и переломов
Недостаточность витамина D	≥20 и <30 нг/мл (≥50 и <75 нмоль/л)	Низкий риск потери костной ткани и вторичного гиперпаратиреоза, нейтральный эффект на падения и переломы
Адекватные уровни витамина D	≥30 нг/мл* (≥75 нмоль/л)	Оптимальное подавление паратиреоидного гормона и потери костной ткани, снижение падений и переломов на 20%
Уровни с возможным проявлением токсичности витамина D	>150 нг/мл (>375 нмоль/л)	Гиперкальциемия, гиперкальциурия, нефрокальциноз, кальцифилаксия

Однако следует помнить, что ведение беременности сопряжено с высокой ответственностью для клинициста и сотрудника лаборатории, поэтому указание наличия факта беременности и срока беременности в направлении на лабораторные

анализы существенно сократит возможные ошибки интерпретации полученных результатов, связанные с неточно подобранными референсными диапазонами, а также неучтенными интерферирующими факторами.

Автор статьи:

М.А. Радциг
Старший менеджер
по обучению клиентов
ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. <http://ru.wikipedia.org>
2. Рекомендации ВОЗ по оказанию дородовой помощи для формирования положительного опыта беременности (WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience). Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2017 г. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
3. The global prevalence of anaemia in 2011. Geneva: World Health Organization; 2015 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/177094/1/9789241564960_eng.pdf, по состоянию на 29 сентября 2016 г.).
4. Abbassi-Ghanavati M. et al. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. *Obstet Gynecol.* 2009. Dec. Vol. 114 №6. P. 1326–31. PMID:19935037
5. Milman N. et al. Iron prophylaxis during pregnancy — how much iron is needed? A randomized dose-response study of 20–80 mg ferrous iron daily in pregnant women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2005. V. 84. P. 238–247.
6. Berkane N., Uzan S. The use of supplements in pregnancy. *Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 2004. V. 33. P. 33–36.
7. Breuer J. Report on the Symposium “Drug effects in Clinical Chemistry Methods”. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996. V. 34. P. 385–386.
8. Sonntag O., Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem.* 2001. V. 38. P. 376–385.
9. Tietz N.W., Rinker A.D., Morrison S.R. When Is a Serum Iron Really a Serum Iron? A Follow-up Study on the Status of Iron Measurements in Serum. *Clin Chem.* 1996. V. 42. №1. P. 109–111.
10. Hallberg L. et al. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br. J. Nutr.* 1993. V. 69. P. 533–540.
11. Hallberg L., Brune M., Eriandsson M., Sandberg A.S., Rossander-Hulten L. Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. V. 53. P. 112–119.
12. Nutrition Research. Date: May 1, 2013. Publication: Bottom Line Health.
13. Optimal Calcium Intake. NIH Consensus Statement. 1994. June 6–8. V.12. P. 1–31.
14. Щербавская Э. А., Гельцер Б. И. Состояние костной ткани в динамике неосложненной беременности. *Акушерство и гинекология.* 2003. № 4. С. 14–18.
15. Российская ассоциация эндокринологов ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика. Москва, 2015.
16. Holick M.F. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 2002. V. 9. №1. P. 87–98.
17. Holick M.F. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007. V. 357. P. 266–281.
18. Houghton L.A., Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. *Am J Clin Nutr.* 2006. V. 84. P. 694–697.

Железодефицитная анемия у беременных

Анемия, или малокровие, – это состояние организма, характеризующееся уменьшением количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в единице объема крови¹.

Снижение содержания гемоглобина до уровня менее 120 г/л у взрослого человека и менее 110 г/л у беременной рассматривается как признак анемии². Анемическое состояние может развиваться вследствие различных физиологических и патологических процессов. У беременных чаще всего возникают дефицитные анемии, связанные с недостатком витамина В12, фолиевой кислоты и железа, которые являются необходимыми элементами как кроветворения, так и нормального метаболизма в организме в целом. При дефиците фолиевой кислоты или витамина В12 происходит ингибирование синтеза ДНК при образовании эритроцитов в костном мозге, и такое состояние носит название «мегалобластная анемия»³. Однако у беременных, получающих нормальное питание и не имеющих заболеваний, связанных с желудочно-кишечным трактом, дефицит витамина В12 обычно наблюдается редко. По данным Всемирной организации здравоохранения, во всем мире было зарегистрировано около 1,62 миллиарда человек с анемическими состояниями, что составляет 24,8% всего населения. При этом количество беременных женщин составило около 56 миллионов⁴. Частота анемий у беременных по разным странам представлена на рисунке 1.

Так, в развитых странах наблюдается умеренная (5–19,9%) или средняя (20–39,9%) частота анемий среди беременных женщин, в то время как в развивающихся странах отмечается значительное увеличение частоты анемий у беременных, которая достигает более 40%⁴. Причиной такой неблагоприятной ситуации является низкая биодоступность железа и других необходимых для организма элементов из пищи растительного происхождения. Если оценивать ситуацию по округам Российской Федерации, то с 2003 по 2014 год наблюдается тенденция к снижению частоты анемий у беременных, что связано со своевременной диагностикой на ранних стадиях заболевания. Кроме того, акуше-

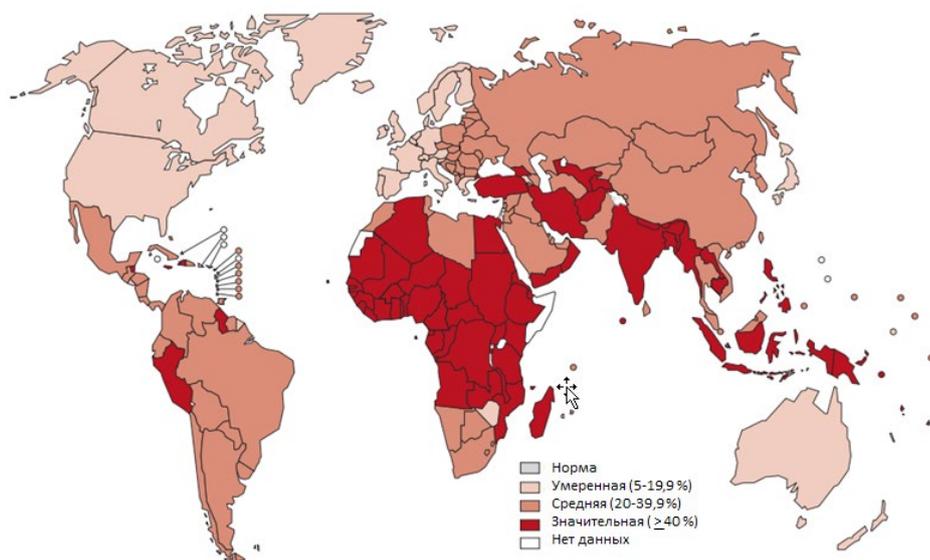


Рисунок 1. Частота анемий у беременных по данным Всемирной организации здравоохранения на основании результатов исследования мировой распространенности анемии за 1993–2005 гг.⁴

рами-гинекологами активно проводится профилактика и лечение дефицитных состояний у беременных и родильниц согласно существующим рекомендациям^{5,6}.

Известно, что железо является жизненно необходимым микроэлементом в организме человека и принимает участие в ключевых биологических процессах, а также в целом ряде окислительно-восстановительных процессов. Железо входит в состав гемоглобина, где обеспечивает важнейшую функцию связывания и доставки кислорода клеткам организма. Общее количество железа в организме взрослого человека составляет приблизительно 4–4,5 г. Железо осуществляет свою биологическую функцию главным образом в составе других биологически активных соединений: примерно 65% общего количества железа входит в состав гемоглобина, 20% – в состав ферритина (депонированного железа), 10% – в миоглобине, 0,1% – в трансферрине, и 5% находится в составе ферментов⁵. По функциям железосодержащие белки можно разделить на четыре основные группы: транспорт электронов (цитохромы); транспорт и депонирование кислорода (гемоглобин, миоглобин); участие в формировании активных центров окислительно-восстановительных ферментов (оксидазы); транспорт и депонирование железа (трансферрин, ферритин)⁷.

За последние годы была выявлена роль целого ряда белков, принимающих участие в метаболизме железа, что позволяет лучше понимать механизм регуляции железа в организме и устанавливать причины возникновения железодефицитных состояний⁸.

Источником железа для поддержания его баланса в организме служат продукты питания, которые содержат гемовое (рыба, мясо) и негемовое (овощи) железо. Для гомеостаза железа важное значение имеет процесс всасывания его в тонком кишечнике клетками эпителиального слоя двенадцатиперстной кишки – энтероцитами. Эти специализированные клетки координируют абсорбцию и транспорт железа ворсинками. Регуляция абсорбции железа происходит в двух слоях мембраны внутреннего эпителия: на апикальной и базолатеральной мембранах. Апикальная мембрана необходима для всасывания железа, в то время как базолатеральная мембрана служит местом для перехода железа в кровоток для дальнейшего его использования организмом. Когда запасы железа снижаются до критического уровня, энтероциты получают сигналы от разных тканей организма, что приводит к увеличению абсорбции железа, пока не наступит насыщение. После восстановления запасов железа его абсорбция снижается. Транспорт гемового

железа внутрь энтероцита осуществляется специальным транспортером HCP1⁹.

Негемовое железо, поступающее с пищей, находится в окисленной трехвалентной форме. Под действием ферроредуктазы – дуоденального цитохрома В (DcytB) – железо восстанавливается и с помощью двухвалентного транспортера металлов DMT1 переносится к базолатеральной стороне клетки, через которую железо проникает в кровоток с помощью ферропортина. В плазме крови железо соединяется с трансферрином – транспортным белком, который может связывать до двух ионов железа (рис. 2).

Синтез свободного трансферрина осуществляется в печени и зависит от ее функционального состояния, потребности в железе и резервов железа в организме. При недостатке железа синтез свободного трансферрина возрастает, а при избытке железа – снижается. При этом насыщение свободного трансферрина железом уменьшается при его дефиците. Итак, трансферрин осуществляет транспорт железа до основных мест его использования или хранения (печени, костного мозга и селезенки). Трансферрин связывается с трансферриновым рецептором, образуя комплекс, который обеспечивает проникновение железа в клетку путем эндоцитоза. При повышенной потребности в железе все больше рецепторов трансферрина располагается на поверхности клетки, и в результате воздействия протеаз от рецептора отделяется фрагмент – растворимая форма трансферринового рецептора, который попадает в кровоток^{11,12}. Поэтому

количество трансферринового рецептора в сыворотке пропорционально количеству трансферрина. При снижении концентрации сывороточного железа концентрация трансферринового рецептора в сыворотке возрастает, что отражается на уровне насыщения трансферрина железом.

Ферритин обеспечивает депонирование железа в клетке, и его уровень служит маркером запаса железа в организме. При избытке железа в организме концентрация ферритина возрастает, что обеспечивает адекватное хранение микроэлемента, а количество трансферринового рецептора снижается, чтобы минимизировать потребление железа. И наоборот, при дефиците железа уровень трансферринового рецептора повышается, что обеспечивает насыщение органов железом¹³.

Особая роль принадлежит гепсидину, который является основным отрицательным регулятором метаболизма железа. Гепсидин синтезируется клетками печени, и его уровень повышается при любых воспалительных процессах в организме. Гепсидин разрушает ферропортин и, таким образом, блокирует транспорт железа из клеток кишечника в плазму и ингибирует экспорт железа из макрофагов. Таким образом, если в результате воспалительных реакций в организме уровень гепсидина повышается, это препятствует выходу железа из энтероцитов, ограничивая тем самым всасывание железа.

Основным источником железа являются разрушенные эритроциты. Эритроциты, содержащие гемоглобин, образуются в красном костном мозге и разрушаются

макрофагами в основном в селезенке. Поэтому большая часть железа, необходимая организму, поступает при его рециркулировании из стареющих эритроцитов. И хотя не существует механизма для активного выведения железа из организма, все равно происходят неизбежные потери железа – в основном через кишечник, а также в ходе менструации, беременности и лактации. Если в организме запас железа снижается из-за нарушения его поступления, усвоения или повышенных потерь, то развивается железодефицитная анемия (ЖДА)^{12,13}.

По данным Всемирной организации здравоохранения, основной причиной развития ЖДА является несбалансированное питание. Гораздо реже ЖДА развивается вследствие кровотечений различной локализации, например кровоточащих язв желудка и кишечника. Кроме того, воспалительные заболевания (в частности, кишечника) или воспаления, связанные с инфекцией, могут привести к снижению эффективного всасывания железа, что также является причиной возникновения дефицита железа¹⁴. Клиническими проявлениями железодефицитной анемии являются анемический и сидеропенический синдромы. Анемический синдром обусловлен развитием анемической гипоксии, что проявляется в виде слабости, повышенной утомляемости, головокружения, обмороков, бледности кожи и видимых слизистых оболочек, снижении аппетита и учащенного сердцебиения. Сидеропенический синдром связан с тканевым дефицитом железа, которое необходимо для функционирования клеток. В частности, это проявляется в изменении состояния ногтей и волос (ломкость, тусклость и т.д.). Также отмечаются мышечная слабость, изменения обоняния и вкуса (нездоровая тяга к тем или иным запахам и малосъедобным вещам)^{6,15}.

Во время беременности потребность организма женщины в железе возрастает, что связано с увеличением массы циркулирующих эритроцитов, с развитием фетоплацентарного комплекса и ростом мышечного слоя матки. Эта потребность восполняется за счет усиления процессов всасывания железа в кишечнике и мобилизации его из депо. Развитие ЖДА во время беременности зависит от исходных запасов железа у женщины, величины плода, многоплодия, количества беременностей и сроков между ними, а также от других факторов. В связи с внутриутробным ростом ребенка происходит достаточно

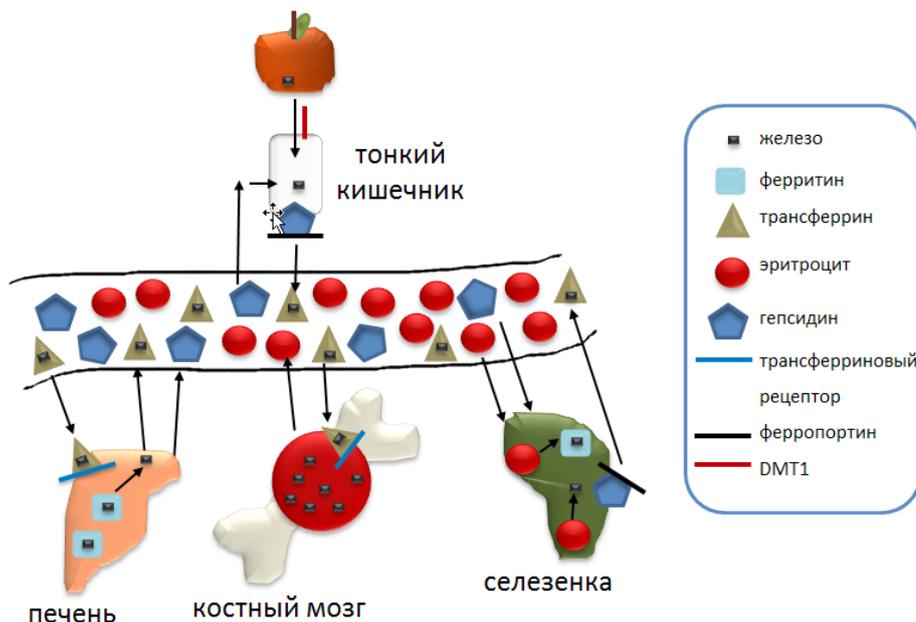


Рисунок 2. Схема метаболизма железа. Адаптировано из статьи [18].



быстрое расходование запасов железа¹⁶. Так, потребность в железе в I триместре увеличивается на 16%, во II – на 59%, в III – на 67%. За период беременности и после родов расходуется до 1200–1400 мг железа. Из них около 500 мг уходит на усиление эритропоэза (увеличение объема эритроцитов), 300 мг – на развитие фетоплацентарной системы (потребности плода – в среднем 280 мг и минимум 25 мг на плаценту), до 190 мг – текущий расход железа, до 230 мг – потери во время родоразрешения, до 400 мг – лактация у родильниц⁶.

Известно, что во II и III триместрах абсорбция железа увеличивается. Однако повышение абсорбции не обеспечивает организм необходимым количеством железа – таким образом, создается его естественный дефицит и возникает риск развития ЖДА¹⁷. Поэтому к концу третьего триместра в большинстве случаев анемия беременных является следствием железодефицитных состояний.

Вызванные нарушением метаболизма железа железодефицитные состояния характеризуются клиническими и лабораторными признаками, проявление которых зависит от стадии дефицита железа. Их можно разделить на предлатентный (ПДЖ), латентный (ЛДЖ) и манифестный (МДЖ) дефицит железа. Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по диагностике, профилактике и лечению железодефицитных состояний у беременных, ПДЖ характеризуется отсутствием клинических и биохимических признаков дефицита данного микроэлемента. ЛДЖ характеризуется полным истощением запасов железа в депо, но при этом также отсутствуют клинические признаки дефицита микроэлемента. При этом уровень гемоглобина, гематокрита и количество эритроцитов находятся в пределах референсных значений. С течением времени ЛДЖ может привести к развитию МДЖ, что увеличивает риск возникновения осложнений во время беременности. МДЖ, в свою очередь, характеризуется нарушениями во всех источниках железа (функциональном, транспортном, запасном). При

МДЖ проявляются клинические признаки нехватки железа и увеличивается частота акушерских осложнений, что сказывается на состоянии плода и новорожденного. Такое состояние увеличивает угрозу прерывания беременности, частоту возникновения плацентарной недостаточности, задержки внутриутробного развития и гипоксии плода. Также при МДЖ возникает высокий риск преждевременных родов, слабости родовой деятельности, увеличиваются частота и объем патологической кровопотери во время родов и в раннем послеродовом периоде, риск инфекционных осложнений и гипогалактии у родильниц⁶. МДЖ у беременных имеет два клинических варианта: «МДЖ у беременных без хронического воспаления» и «МДЖ у беременных с хроническим воспалением». При МДЖ у беременных без хронического воспаления определяются нарушения на всех этапах метаболизма железа, при МДЖ у беременных с хроническим воспалением наблюдаются нарушения во всех источниках железа, кроме депонированного. Клинический вариант МДЖ у беременных с хроническим воспалением имеет две стадии и развивается у беременных с заболеваниями, которые сопровождаются воспалительным процессом. Первая стадия данного клинического варианта МДЖ характеризуется нарушениями в функциональном и регуляторном источниках железа при отсутствии таковых в транспортном. На второй стадии нарушения метаболизма железа более выражены и затрагивают резерв транспортного железа. Следует отметить, что при МДЖ, помимо явных изменений лабораторных показателей, имеются клинические признаки дефицита железа. При клиническом варианте МДЖ у беременных с хроническим воспалением чаще происходят преждевременные роды, развиваются послеродовые инфекционные осложнения, а также чаще рождаются дети с внутриутробной инфекцией (по сравнению с беременными с клиническим вариантом МДЖ у беременных без хронического воспаления)⁶.

Согласно клиническим рекомендациям, необходимо проводить скрининг на железодефицитное состояние у женщин в 5–6 недель беременности или в более поздние сроки (при первичном обращении к врачу). Было установлено, что для достоверной оценки состояния уровня железа в организме беременной I триместр является предпочтительным, поскольку увеличение объема плазмы крови превышает увеличение циркулирующих эри-

троцитов. При диагностике железодефицитного состояния оценивают следующие лабораторные показатели: гемоглобин, эритроциты, гематокрит, железо сыворотки, ферритин сыворотки и коэффициент насыщения трансферрина железом⁶. При этом важное значение имеют размер и форма эритроцитов, а не только их количество. По всем этим показателям врач может установить не только вид анемии, но и ее скрытую форму еще до появления симптомов.

На сегодняшний день самым чувствительным и специфичным параметром для определения дефицита железа является ферритин. Снижение уровня ферритина является диагностическим маркером развития ЖДА (рис. 3). Этот тест позволяет диагностировать раннюю стадию развития ЖДА, в то время как остальные показатели остаются в норме^{18,19}. Однако стоит отметить, что при инфекции или воспалении концентрация сывороточного ферритина увеличивается. Поэтому некоторые ученые полагают, что трансферринный рецептор может также выступать в роли маркера дефицитного состояния, поскольку его уровень не зависит от воспалительного процесса. Дополнительно можно оценивать уровень С-реактивного белка в крови для исключения воспалительного процесса.

Во время беременности содержание ферритина к концу III триместра естественным образом понижается. По литературным данным, концентрация ферритина меньше 30 мкг/л прямо указывает на истощение депонированного железа. А концентрация ферритина ниже 15 мкг/л свидетельствует о ЖДА²⁰. Недавно были проведены исследования, нацеленные на определение группы риска развития ЖДА, и было выявлено, что возраст будущей мамы является определяющим фактором для развития ЖДА в первой половине беременности. На основании результатов исследований было показано, что у беременных женщин старше 30 лет в 2 раза выше риск развития дефицита железа, а у беременных девушек младше 20 лет он выше почти в 13 раз²⁰.

Алгоритм диагностики ЖДА по клиническим рекомендациям у беременных заключается в скрининге беременных на ЖДС по указанным выше параметрам. После установки диагноза ЖДА необходимо определить стадию заболевания: ПДЖ, ЛДЖ, МДЖ. На предлатентной стадии истощение запасов железа первоначально детектируется по снижению уровня депонированного железа, т.е. ферритина

(рис. 3). На латентной стадии наблюдается низкая концентрация ферритина и повышается общая железосвязывающая способность сыворотки. На манифестной стадии уже все запасы железа истощены, и при скрининге все диагностические показатели будут отличаться от нормы.

Если по диагностическим критериям у беременных диагностируется тяжелая стадия заболевания, то далее необходимо определить его клиническую этиологию, основываясь на результатах уровня гемоглобина (табл. 1). Если у пациента в ходе исследований выявляется МДЖ, то необходимо определить его клинический вариант: МДЖ у беременных без хронического воспаления или МДЖ у беременных с хроническим воспалением (табл. 2). Дополнительные исследования и лечение назначаются врачом в зависимости от причины заболевания.

К счастью, в настоящее время существует широкий перечень поливитаминных препаратов с макро- и микроэлементами для беременных и кормящих. Поскольку для успешного усвоения железа требуются аскорбиновая кислота и витамины группы В, то в состав многих перораль-

Рисунок 3. Стадии развития ЖДА. Адаптировано из статьи [18].

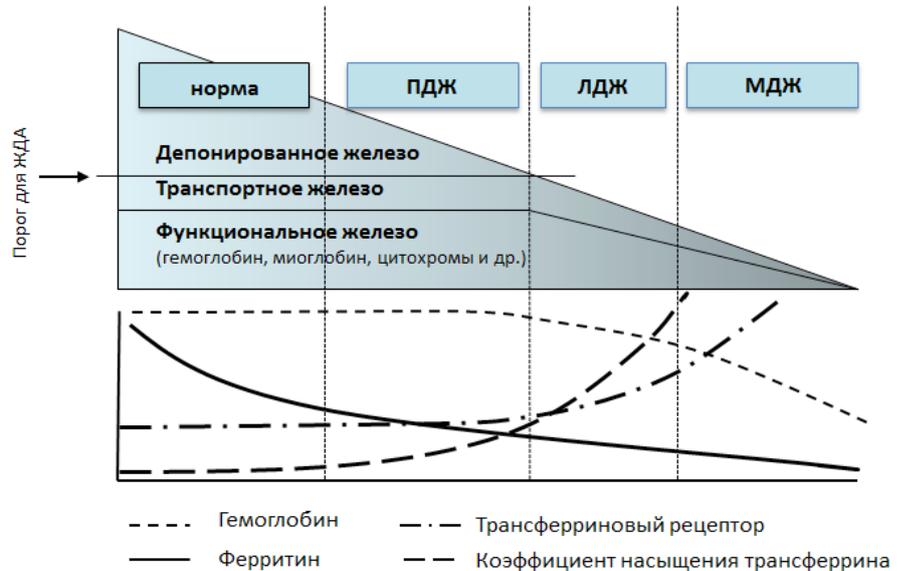


Таблица 1. Классификация манифестного дефицита железа по степени тяжести у беременных⁶

Степени тяжести МДЖ	Уровень гемоглобина (Hb, г/л)
легкая	110-90
средняя	89-70
тяжелая	<70

Таблица 2. Диагностические критерия железодефицитных состояний у беременных⁶

Показатель	Железодефицитное состояние		МДЖ легкой степени	
	ПДЖ	ЛДЖ	Клинические варианты	
			МДЖ без хронического воспаления	МДЖ с хроническим воспалением
Клинические признаки анемического и сидеропенического синдрома	нет	нет	есть	есть или нет
Наличие заболеваний, сопровождающихся воспалением*	нет или есть	нет или есть	нет	есть
Морфологические изменения RBC (гипохромия, анизохромия, анизоцитоз, микроцитоз, пойкилоцитоз)	нет	нет	есть	нет или есть
Изменение эритроцитарных индексов: MCV < 80 фл.; MCH < 27 пг.; MCHC < 30 г/дл; RDW > 14,5%	нет	нет	есть	нет или есть
Гемоглобин, Hb г/л	122-126	110-120	90-110	90-110
Эритроциты, RBC×1012/л	3,9-4,2	3,7-3,85	3,3-3,7	3,3-3,7
Гематокрит, Ht, %	37,5-40	35-37	30,5-35	30,5-35
Ферритин сыворотки, мкг/л	30-50	20-30	≤ 20	> 20
Коэффициент насыщения трансферрина железом, %	≥ 16	≥ 16	< 16	1-я стадия ≥ 16 2-стадия < 16
Железо сыворотки, мкмоль/л	≥ 13	≥ 13	< 12,5	1-я стадия ≥ 13 2-стадия < 12,5

* К заболеваниям, сопровождающимся воспалением у беременных с клиническим вариантом «МДЖ у беременных с хроническим воспалением», относятся: 1) заболевания почек; 2) инфекционно-воспалительные заболевания органов дыхания; урогенитальные инфекции (хламидиоз, трихомониаз, уреаплазмоз, бактериальный вагиноз и влагалищный кандидоз); вирусная инфекция (ВПГ, ЦМВ, ВИЧ, гепатит А, В, С); 3) аутоиммунные заболевания; 4) злокачественные новообразования и т.п.

ных препаратов входит аскорбиновая или фолиевая кислота^{6,21}. Все современные медикаментозные средства и диеты подбираются индивидуально врачом с учетом ранее выявленной группы риска и противопоказаний.

Как уже отмечалось ранее, в России наблюдается тенденция к снижению частоты возникновения дефицита железа, поскольку основными свойствами железодефицитных состояний являются их обратимость и возможность предупреждения. Согласно проведенным исследованиям, отсутствие лечения беременных с ЛДЖ приводит к развитию МДЖ в 65% случаев. Почти каждая беременность приводит к истощению запасов железа в организме

беременной женщины. И только своевременная диагностика и профилактика ЖДА позволяют снизить риск развития осложненной формы заболевания. Так, применение клинических рекомендаций позволяет в 94% наблюдений предупреждать развитие МДЖ у беременных и связанных с ним ухудшений у матери, плода и новорожденного, снижать частоту его развития на 40% у родильниц⁶.

В заключение хотелось бы отметить, что на сегодняшний день существует большое количество доступных методов диагностики ЖДА. Современные анализаторы позволяют оценивать концентрацию анализов в биоматериале с высокой точностью и надежностью. Благодаря пред-

ложенным диагностическим критериям и протоколу исследования ЖДА у беременных стало возможно проводить более точную диагностику заболевания и повысить качество оказания медицинской помощи пациентам с подтвержденным диагнозом. Выявление дефицита железа у беременных на ранних стадиях является важной задачей для успешного родоразрешения и рождения здорового малыша.

Автор статьи:

Д.Ю. Давыдова

Специалист по обучению клиентов
ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. Луговская С.А., Почтарь М.Е. *Гематологический атлас*, Москва, 2008.
2. Геворкян М.А., Кузнецова Е.М. Анемия беременных: патогенез и принципы терапии. *РМЖ*. 2011, 20:1265.
3. Левина А.А., Мещерякова Л.М., Цыбульская М.М., Соколова Т.В. Дифференциальная диагностика анемий. *Клиническая лабораторная диагностика*, 2015. 12.
4. *Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO Global Database on Anaemia*. 2008.
5. Короткова Н.А., Прилепская В.Н. Анемия беременных. Современная профилактика и терапия. Эффективная фармакотерапия. 2016. № 14.
6. Коноводова Е.Н., Бурлев В.А., Серов В.Н. и др. *Диагностика, профилактика и лечение железодефицитных состояний у беременных и родильниц. Федеральные клинические рекомендации*. Москва, 2013.
7. Кишкун А.А. *Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие*. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
8. Zimmermann M.B., Hurrell R.F. Nutritional iron deficiency. *Lancet*. 2007. Aug 11; 370(9586):511–20.
9. Beaton G.H. Iron needs during pregnancy: Do we need to rethink our targets? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 72: 265S–271S.
10. Burke R.M., Leon J.S., Suchdev P.S. Identification, prevention and treatment of iron deficiency during the first 1000 days. 2014. *Nutrients*. 6; 4093–4114.
11. Escobar-Morreale H.F. Special Focus: Fertility and pregnancy. Iron metabolism and the polycystic ovary syndrome. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. October 2012. Vol. 23. №10.
12. Miller J.L. Iron Deficiency Anemia: A Common and Curable Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Jul; 3(7): a011866.
13. MacKenzie E.L., Iwasaki K. Intracellular iron transport and storage: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid. Redox. Signal*. 2008;10:997–1030.
14. Румянцева А.Г., Масчан А.А., Чернов В.М., Тарасова И.С. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению железодефицитной анемии. Москва, 2015.
15. Тарасова И.С., Чернов В.М., Лаврухин Д.Б., Румянцев А.Г. Оценка чувствительности и специфичности симптомов анемии и сидеропении. *Гематология и трансфузиология*. 2011. Т. 56. №5. С. 6–13.
16. Mireku M.O., Davidson L.L., Boivin M.J., Zoumenou R. Prenatal iron deficiency, neonatal ferritin and infant cognitive function. 2016. *Pediatrics*. V.138. №6.
17. Bothwell T.H. Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 72: 257S–264S
18. Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A., Irjala K. Serum Transferrin Receptor and Transferrin Receptor-Ferritin Index Identify Healthy Subjects With Subclinical Iron Deficits. *Blood*. 1998; 92:2934–2939.
19. Killip S., Bennett J.M., Chambers M.D. Iron Deficiency Anemia. 2007. *American Family Physician*. V. 75. №6.
20. Da Costa A.G., Vargas S., Clode N., Graça L.M. Prevalence and Risk Factors for Iron Deficiency Anemia and Iron Depletion During Pregnancy: A Prospective Study. *Acta Med Port*. 2016 Sep; 29(9): 514–518.
21. Parker J.A., Barroso F., Stanworth S.J., Spiby H. et al. Gaps in the evidence for prevention and treatment of maternal anaemia: a review of systematic reviews. *BMS Pregnancy Childbirth*. 2012. Jun 24; 12:56.

Факторы риска ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста

Несмотря на достижения последних лет в области диагностики и лечения, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают оставаться, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ведущей причиной смерти и инвалидизации населения в большинстве развитых стран мира. Отмечается рост заболеваемости ишемической болезнью сердца (ИБС) среди женщин молодого и среднего возраста, в том числе и с сохраненной репродуктивной функцией. Существующее убеждение, что ИБС является преимущественно заболеванием мужчин, а у женщин она развивается в пожилом возрасте, в конечном итоге приводит к недооценке жалоб пациенток лечащим врачом. В Европе до 54% случаев смерти среди женщин приходится на долю ССЗ, при этом каждая пятая женщина умирает от ишемической болезни сердца^{1,2}. В России 65% женщин умирает вследствие ССЗ, и в 32% случаев причиной смерти является ИБС². Роль традиционных факторов риска (ФР) в развитии ИБС у женщин молодого и среднего возраста продолжает изучаться^{3,4}. В силу того, что эти женщины относительно молоды, «классические» шкалы, например американская Фремингемская шкала риска развития ИБС и европейская шкала риска смерти от ССЗ SCORE, при наличии традиционных факторов риска прогнозируют у данной популяции низкий или умеренный кардиоваскулярный риск. Около 20% всех коронарных событий у женщин происходят вообще при отсутствии классических факторов риска ССЗ^{6,7}.

Согласно современным представлениям, ведущая роль в развитии ИБС отводится сочетаниям генотипической предрасположенности и фенотипических проявлений в нарушении системы метаболизма и транспорта липидов крови, с одной стороны, и функциональной активности и структурной целостности сосудистого эндотелия – с другой⁸⁻¹². Определение структурных полиморфизмов генов, лежащих в основе этих нарушений, является одним из подходов к решению проблемы ранней диагностики и профилактики ИБС, поскольку

позволяет проводить оценку индивидуального генетического риска развития заболевания. На сегодняшний день в качестве генетических маркеров ИБС рассматриваются аллельные варианты генов-кандидатов различных групп: гены, кодирующие эндотелиальные факторы и регулирующие сосудистый тонус (гены eNOS, EDN1 и т.д.); гены, участвующие в метаболизме и транспорте липидов (гены ABCA1, apoA-I и т.д.); гены, кодирующие элементы системы антиоксидантной защиты (гены PON-1, супероксиддисмутазы и т.д.), и гены, принимающие участие в регуляции процессов метаболизма (гены GNB3, метилентетрагидрофолат редуктазы и т.д.)^{9,13-17}. Однако следует заметить, что исследование полиморфизмов генов, предрасполагающих к развитию ИБС, в большинстве случаев проводится в смешанных популяциях, без выделения групп по гендерным и возрастным характеристикам, и роль различных генетических детерминант в развитии ИБС среди женщин молодого и среднего возраста остается малоизученной.

Таким образом, оценка значимых для прогноза генетических и биохимических маркеров ИБС остается актуальной задачей не только для прогноза возникновения и течения заболевания, но и для своевременного осуществления профилактических мероприятий по снижению заболеваемости и предупреждению фатальных и нефатальных сердечно-сосудистых событий.

Целью настоящего исследования является определение диагностической значимости генетических и биохимических маркеров для прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

Материалы и методы исследования

Данная работа проведена как наблюдательное аналитическое исследование по типу «случай-контроль», в основную группу которого включали женщин молодого (менее 45 лет) и среднего возраста (45–59 лет) с диагнозом «ИБС», верифицированным по результатам селективной коронарографии (стеноз более 70% по крайней мере в одной из основных коронарных артерий). Контрольную группу (КГ) составили женщины молодого и среднего возраста без анамне-

за и клинических признаков ИБС. При этом для подтверждения отсутствия заболевания у лиц КГ была выполнена нагрузочная проба с физической нагрузкой (тредмил-тест). Женщины, включенные в исследование, являлись жительницами Санкт-Петербурга, не были связаны узлами родства и подписали информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения для женщин основной и контрольной групп являлось наличие тяжелой сопутствующей патологии, способной повлиять на результаты исследования (острые и хронические воспалительные заболевания, системные заболевания соединительной ткани, неопластический процесс, заболевания со стороны крови, декомпенсированные врожденные и приобретенные пороки сердца, хроническая почечная и печеночная недостаточность, алкоголизм).

Сбор данных по анамнезу основного и сопутствующих заболеваний проводился по специально разработанной анкете, в которой особое внимание уделялось факторам риска ИБС и отягощенной наследственности по ССЗ. Всем обследуемым проводилось стандартное физикальное обследование, включающее измерение роста, веса, окружности талии (ОТ) и бедер (ОБ) с последующим расчетом индекса массы тела по Кетле (ИМТ) и соотношения ОТ/ОБ.

Инструментальные методы исследования для основной группы включали: электрокардиографию (ЭКГ), тредмил-тест (по показаниям), коронарографию (КАГ); для контрольной группы – ЭКГ и нагрузочную пробу (тредмил-тест) с целью исключения ИБС.

Лабораторные методы исследования включали: метод полимеразной цепной реакции (термостат программируемый четырехканальный для проведения ПЦР-анализа ТП4-ПЦР-01 – «Терцик» ТУ 9452-001-46482062-98, Россия) с последующим рестрикционным анализом для определения частот аллельных вариантов генов eNOS 4a4b, EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, ABCA1 insG319, GNB3 C825T; энзиматический коллометрический метод для определения показателей липидного спектра крови (общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой и высокой плотности – ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП)

и гексокиназный метод для определения уровня гликемии плазмы на биохимическом анализаторе **Cobas Integra 400 plus** (Roche, Швейцария); иммунотурбидиметрический метод для определения концентрации в плазме апоА-I, апоВ, Лп(а), гликированного гемоглобина HbA1c, С-реактивного белка СРБ на биохимическом анализаторе **Cobas Integra 400 plus**. У женщин контрольной группы забор крови для определения уровня параметров липидного профиля крови, апоА-I, апоВ Лп(а), гликемии плазмы, HbA1c, СРБ, vWf, а также для молекулярно-генетического тестирования проводился натощак в утренние часы. У женщин основной группы забор крови осуществлялся при тех же условиях до проведения коронарографии в 1–5-е сутки госпитализации. У женщин с сохраненной репродуктивной функцией забор крови осуществляли с 10-го по 20-й день менструального цикла. У женщин с ИБС без подтвержденного сахарного диабета (СД) независимо от уровня гликемии плазмы крови натощак выполнялся тест на толерантность к глюкозе.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программной системы STATISTICA for Windows (версия 5.5). Средние величины приведены со стандартным отклонением среднего значения ($M \pm \sigma$). Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводилось с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера. При сравнении частот генотипов полиморфизмов генов в исследуемых группах носители редко встречающегося (мутантного) аллеля в гетеро- и гомозиготном состоянии объединялись в одну группу. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществлялось с использованием критериев Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова, Краскела–Уоллиса и медианного χ^2 -модуля ANOVA. Связь между исследуемыми показателями оценивали с помощью корреляционного анализа Спирмена. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$. Пороговые значения количественных показателей были получены с помощью методов построения классификационных деревьев.

Результаты исследования

Роль полиморфизмов генов eсNOS, EDN1, PON1, ABCA1, GNB3 в развитии ИБС у женщин молодого и среднего возраста.

По результатам проведенного исследования в группе женщин с ИБС по сравнению с КГ наблюдалось достоверное увеличение частоты встречаемости аллеля 4a полиморфизма 4a4b гена eсNOS в гетеро- и гомозиготном состоянии (табл.1).

Частоты аллелей и генотипов других исследованных полиморфизмов генов EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, insG319, GNB3 C825T не отличались между женщинами основной группы и КГ.

Однако при проведении анализа распределения частот аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов генов внутри группы женщин с ИБС оказалось, что у

носителей аллеля insG319 гена ABCA1 в гетеро- и гомозиготном состоянии достоверно реже развивался инфаркт миокарда (ИМ) ($OR=2,8$; $CI_{OR}=[1,3-8,6]$), что может свидетельствовать о влиянии данного полиморфизма на течение ИБС у женщин молодого и среднего возраста.

Также было установлено, что в группе женщин с ИБС у носителей аллеля T825 в гетеро- и гомозиготном состоянии гена GNB3 достоверно чаще встречалась АГ, одновременно с этим среди пациенток с уже сформировавшейся АГ носительство аллеля T825 ассоциировалось с достоверно более высокими значениями систолического

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизмов генов eсNOS, EDN1, PON1, ABCA1, GNB3 у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и в контрольной группе

Полиморфизмы	Основная группа, n=121	Контрольная группа, n=92	
eсNOS 4a4b	4b4b n (%)	64 (52,9)*	62 (67,4)
	4a4b n (%)	52 (43,0)	29 (31,5)
	4a4a n (%)	5 (4,1)	1 (1,1)
	аллель 4a	0,74	0,83
	аллель 4b	0,26*	0,17
EDN1 Lys198Asn	LysLys n (%)	72 (59,5)	54 (58,7)
	LysAsn n (%)	39 (32,2)	37 (40,2)
	AsnAsn n (%)	10 (8,3)	1 (1,1)
	аллель Lys	0,76	0,79
	аллель Asn	0,24	0,21
ABCA1 C69T	CC n (%)	45 (37,2)	32 (34,8)
	CT n (%)	57 (47,1)	51 (55,4)
	TT n (%)	19 (15,7)	9 (9,8)
	аллель C	0,61	0,62
	аллель T	0,39	0,38
ABCA1 insG319	NN n (%)	88 (72,7)	71 (77,2)
	NG n (%)	32 (26,5)	21 (22,8)
	GG n (%)	1 (0,8)	0 (0)
	аллель N	0,86	0,89
	аллель G	0,14	0,11
PON1 Q192R	QQ n (%)	61 (50,4)	46 (50,0)
	QR n (%)	52 (43,0)	44 (47,8)
	RR n (%)	8 (6,6)	2 (2,2)
	аллель Q	0,72	0,74
	аллель R	0,28	0,26
GNB3 C825T	CC n (%)	64 (52,9)	47 (51,1)
	CT n (%)	47 (38,8)	33 (35,9)
	TT n (%)	10 (8,3)	12 (13,0)
	аллель C	0,72	0,69
	аллель T	0,28	0,31

Примечание: * $p < 0,05$; $OR (4a4b+4a4a \text{ vs. } 4b4b) = 1,8 (CI_{OR}=[1,0-3,2])$

(164±2 и 177±21 мм рт. ст. для генотипов СС и СТ+ТТ соответственно, $p<0,005$) и диастолического артериального давления (101±18 и 111±18 мм рт.ст. для генотипов СС и СТ+ТТ соответственно, $p<0,005$).

Распространенность традиционных факторов риска ССЗ у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и в КГ

По результатам проведенного исследования в группе женщин с ИБС по сравнению с КГ было выявлено увеличение частоты встречаемости таких традиционных ФР ССЗ, как АГ, дислипидемия (ДЛ), абдоминальное ожирение (АО), курение, нарушение углеводного обмена и отягощенный семейный анамнез по ИБС (рис. 1).

Наряду с этим, при анализе характера нарушений липидного обмена у обследуемых женщин было обнаружено, что уровень ОХС и ЛПНП превышал референтные значения больше чем в половине случаев как в основной группе (75,6 и 67,0% соответственно), так и в КГ (67,3 и 55,8% соответственно) и не различался по среднему значению этих показателей между группами (табл. 2). В то же время уровень ТГ превышал нормальные значения у 63,8% женщин с ИБС против 11,5% лиц КГ ($p<0,0001$). Средний уровень ТГ в основной группе составил 2,3±1,4 ммоль/л, в КГ – 1,1±0,4 ммоль/л ($p<0,0001$). Методом построения классификационных деревьев было найдено пороговое значение уровня ТГ для исследуемых выборок, и оказалось, что превышение ТГ более 1,3 ммоль/л в плазме сопровождается увеличением относительного риска развития ИБС для женщин молодого и среднего возраста в 17,6 раз ($CIOR=[7,5-41,0]$).

В качестве дополнительных параметров липидного обмена у обследуемых

Таблица 2. Средние значения показателей липидограммы у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и в контрольной группе ($M\pm\sigma$)

Показатель	Женщины с ИБС, n=94	Контрольная группа, n=52	Достоверность различий (p)
ОХС, ммоль/л	5,9±1,7	5,6±1,1	нд
ТГ, ммоль/л	2,3±1,4	1,1±0,4	<0,0001
ЛПНП, ммоль/л	3,6±1,3	3,5±1,0	нд
ЛПВП, ммоль/л	1,3±0,4	1,6±0,3	<0,0001
КА по Климову	4,0±1,6	2,5±1,0	<0,0001
ХС не-ЛПВП, ммоль/л	4,8±1,6	3,9±1,1	<0,01

Примечание: нд – нет достоверности.

женщин оценивали значение ХС не-ЛПВП (ОХС минус ЛПВП) и коэффициент атерогенности (КА) по Климову (ОХС – ЛПВП)/ЛПВП). Средний уровень этих показателей был достоверно выше среди женщин с ИБС по сравнению с лицами из КГ (табл. 2). При этом превышение порогового уровня ХС не-ЛПВП более 4,1 ммоль/л увеличивало относительный риск развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста в 3,1 раза ($CIOR=[1,4-6,1]$), а значение КА более 3,0 – в 4 раза ($CIOR=[2,0-8,6]$).

В основной группе женщин также оценивали содержание в плазме apoB и apoA-I и показатель отношения apoB/apoA-I. Оказалось, что увеличение концентрации apoB в плазме выше референтных значений (0,60–1,17 г/л) наблюдалось у 23 (38,3%) пациенток, в то время как уровень apoA-I был ниже нормы (1,08–2,25 г/л) только у 4 (6,6%) человек. Значение apoB/apoA-I >1,0 встречалось у 11 (18,3%) женщин, что относилось к группе высокого риска развития ССЗ, еще 26 (43,4%) человек находились в зоне среднего риска – их уровень apoB/apoA-I составил от 0,6 до 1,0. Кроме того, по результатам настоящего исследо-

вания было обнаружено, что у женщин молодого и среднего возраста уровень apoB и apoB/apoA-I имеет прямое отношение к тяжести поражения коронарного русла атеросклерозом. Так, среди пациенток с трехсосудистым поражением уровень apoB (1,26±0,33) был достоверно выше по сравнению с лицами, у которых атеросклерозом поражался только один (0,96±0,27) или два (1,01±0,36) сосуда ($p<0,05$). Среднее значение apoB/apoA-I (0,91±0,24) также было выше среди больных с трехсосудистым поражением, чем у женщин с однососудистым поражением (0,70±0,29) ($p<0,05$).

При анализе такого ФР, как ожирение, оказалось, что избыточная масса тела разной степени выраженности (индекс Кетле >24,9 кг/м²) отмечалась у 98 (81,0%) женщин в группе с ИБС и у 53 (57,6%) человек из КГ ($p<0,0005$). При этом среди лиц из КГ преимущественно регистрировалась избыточная масса тела – 38 (41,3%) человек, в то время как в группе женщин с ИБС – ожирение I степени – 46 (38,0%) человек. Ожирение II и III степени было выявлено только в основной группе, и частота его составила 9,1 и 6,6% соответственно. Ожирение по абдоминальному типу (ОТ/ОБ >0,85) отмечалось у 77 (63,6%) женщин основной группы и у 16 (17,4%) человек из КГ ($p<0,0001$). Окружность талии (ОТ) более 80 см в группе женщин с ИБС имел 101 (83,5%) человек, а в КГ – 53 (57,6%) человека ($p<0,005$), среднее значение ОТ в основной группе составило 94,5±14,6 см и было больше, чем у женщин без ИБС, – 83,5±10,1 ($p<0,0001$). При проведении регрессионного анализа было установлено, что если женщина молодого или среднего возраста имеет ОТ более 80 см, то относительный риск развития у нее ИБС увеличивается в 3,7 раз ($CIOR=[1,7-8,1]$), а если ОТ превышает 101 см – в 50 раз ($CIOR=[3,0-834,8]$).

С целью выявления скрытого нарушения углеводного обмена независимо от уровня гликемии плазмы венозной кро-

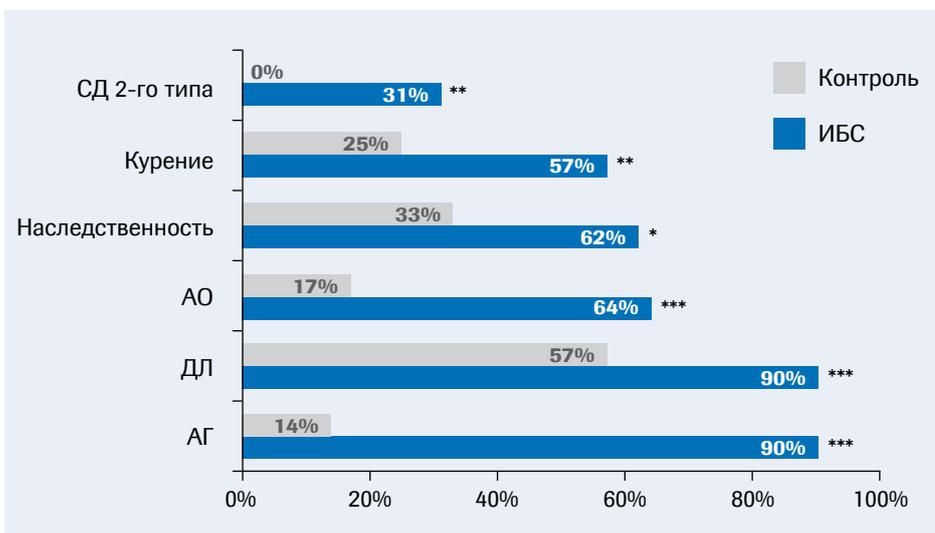


Рисунок 1. Распределение факторов риска в группе женщин с ИБС и в контрольной группе ($*p<0,05$, $***p<0,0001$).

ви натошак в группе женщин с ИБС проводился тест на толерантность к глюкозе, за исключением тех пациенток, у которых был подтвержден диагноз СД 2-го типа на момент включения в исследование, – 26 (21,5%) человек. Случаев СД 1-го типа зарегистрировано не было. По результатам исследования уровня постпрандиальной гликемии оказалось, что среди пациенток с уровнем гликемии плазмы натошак более 6,1 ммоль/л было выявлено нарушение углеводного обмена: у 8 (72,7%) человек – нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) и у 3 (27,3%) человек – СД 2-го типа. Вместе с тем среди пациенток с уровнем гликемии менее 6,1 ммоль/л у 61 (72,6%) женщины глюкозотолерантный тест оказался отрицательным, у 15 (17,9%) выявлено НТГ и у 8 (9,5%) диагностирован СД 2-го типа.

При изучении распределения ФР внутри группы женщин с ИБС в зависимости от возраста было отмечено, что среди пациенток молодого возраста чаще встречается курение, а у женщин среднего возраста – СД 2-го типа. При разделении женщин основной группы в зависимости от статуса их репродуктивной функции не было установлено достоверных различий по распределению ФР.

По результатам проведенного клинико-анамнестического обследования и молекулярно-генетического тестирования были выделены факторы, связь которых с риском развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста носила достоверный характер (рис. 2).

Обсуждение

В 90-х гг. XX века была сформулирована концепция сердечно-сосудистого риска, суть которой заключалась в комплексном подходе к оценке вероятности развития сердечно-сосудистых событий. Первая модель суммарного сердечно-сосудистого риска была разработана на основании самого продолжительного исследования (Framingham Heart Study, 1949–1984 гг.), проведенного в американском городе Фрамингем. В 1966 году фрамингемскими исследователями было предложено рассматривать возраст, артериальную гипертензию, курение, сахарный диабет и гиперхолестеринемию в качестве определяющих факторов риска ИБС. Со временем эти факторы вошли в глобальную шкалу оценки риска фатальных и нефатальных случаев ИБС в ближайшие десять лет^{5,18}. К сожалению, в России и странах Европы эта модель не получила широкого распространения в практической медицине¹⁸.

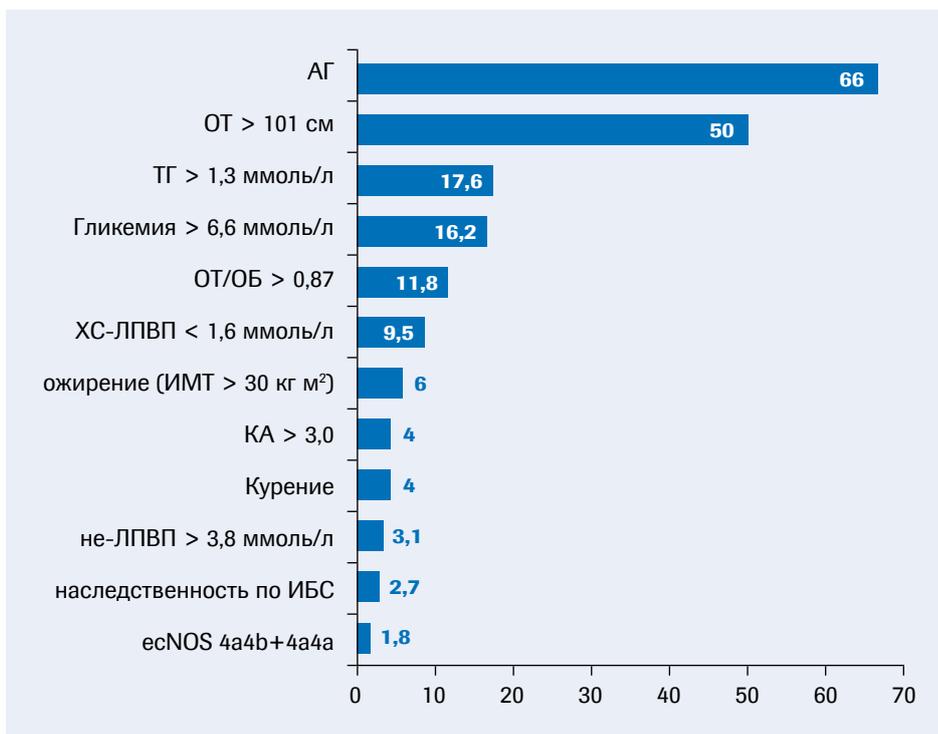


Рисунок 2. Факторы риска ИБС у женщин молодого и среднего возраста (однофакторный анализ, овалом выделены молекулярно-генетические ФР). Пороговые значения количественных параметров получены с помощью методов построения классификационных деревьев.

В России в настоящее время широко применяется в медицинской практике шкала риска SCORE, разработанная экспертами Европейского общества кардиологов на основании данных проспективных исследований, проведенных в 12 странах Европы, в том числе и в России. Шкала прогнозирует 10-летний фатальный риск всех событий, связанных с атеросклерозом¹⁸. Однако, в отличие от Фрамингемской шкалы, модель риска SCORE не позволяет прогнозировать риск несмертельных коронарных событий. Так, в группе наших пациенток с ИБС, перенесших ИМ, 33% имели низкий риск по шкале SCORE, 63% – умеренный риск, и только 3% – высокий, что, по всей видимости, явилось причиной того, что первичная профилактика ССЗ у большинства наших больных не проводилась. Кроме того, уже результаты Фрамингемского исследования показали, что у женщин до 20% всех коронарных событий происходит в отсутствие основных факторов риска и далеко не у всех женщин с традиционными факторами развивается ИБС. В целом, за прошедшие полвека расширилось понимание процессов, лежащих в основе формирования атеросклероза, и в настоящее время в качестве патогенетических механизмов рассматривается не только нарушение липидного профиля крови, но и воспаление, эндотелиальная дисфункция, дефекты гемостаза. В связи с этим до сих пор продолжается поиск но-

вых дополнительных маркеров, которые позволили бы лучше прогнозировать риск развития ИБС⁵.

В 2004 году коллектив ученых из больницы Brigham and Women's Hospital (Бостон, США) разработал новую прогностическую шкалу оценки глобального сердечно-сосудистого риска у практически здоровых женщин 45 лет и старше – The Reynolds Risk Score. При разработке новой шкалы исследователями учитывались 35 параметров, из них наиболее прогностически значимыми оказались возраст, офисное систолическое артериальное давление (САД), статус курения, отягощенный семейный анамнез по ИМ, уровень С-реактивного белка, определенного высокочувствительным методом (hsCRP), гликированного гемоглобина A1c (для лиц с сахарным диабетом), общего холестерина (ОХС), липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛПВП и ЛПНП), аполипопротеинов В100 и А-1 (апоВ100 и апоА-1), липопротеида (а) (если содержание апоВ100 \geq 100 мг/дл). В то же время такие критерии, как уровень гомоцистеина, sICAM-1 (растворимая молекула межклеточной адгезии), фибриногена, креатинина, значение индекса массы тела, количество употребляемого алкоголя, частота физических нагрузок, менопаузальный статус и заместительная гормональная терапия, имели низкий предсказательный риск, поэтому были исключены из прогностической шкалы. Авторами были созданы две

модели шкалы риска Reynolds. Практическое применение среди врачей общей практики получила только модель В, которая оказалась более доступной в использовании и основывается на таких факторах, как возраст, статус курения, офисное САД, уровень ОХС, ЛПВП, ЛПНП, hsСРБ, ИМ в семейном анамнезе⁵. Однако шкала риска Reynolds имеет существенный недостаток, поскольку не может быть использована для прогнозирования риска развития ССЗ среди женщин молодого возраста.

Для ишемической болезни сердца как многофакторного заболевания с многочисленными звеньями патогенеза характерен сложный механизм формирования фенотипа, включающий в себя взаимодействие генетических факторов с факторами внешней среды. Подтверждение ассоциации генетического полиморфизма с заболеванием свидетельствует о том, что белок, кодируемый этим геном, может выступать в качестве причинного фактора развития заболевания¹⁹. В исследовании нами была установлена связь аллеля 4а в гетеро- и гомозиготном состоянии полиморфизма 4а4b гена эндотелиальной NO-синтазы с риском развития ИБС у женщин молодого

и среднего возраста. Подавление экспрессии и активности фермента эндотелиальной NO-синтазы и, соответственно, снижение синтеза оксида азота (NO) эндотелиальными клетками рассматривается в качестве одного из механизмов формирования ЭД (эндотелиальной дисфункции), лежащей в основе атеросклеротического процесса²⁰. Эффекты синтезируемого эндотелиальной NO-синтазой из L-аргинина оксида азота многогранны по своему влиянию на сосудистый гомеостаз. Оксид азота, обладая уникальными свойствами первичного и вторичного мессенджера с высокой диффузионной способностью, с одной стороны, регулирует продукцию эндотелием таких биологически активных веществ, как простаглицлин, гиперполяризующий фактор (EDHF) и эндотелин-1, а с другой стороны, через гуанилатциклазную систему вызывает расслабление гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов, угнетает агрегацию и адгезию тромбоцитов и ингибирует пролиферацию и миграцию ГМК²¹. Про полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы известно, что в европейской популяции 4b-аллель встречается гораздо чаще, чем аллель 4а¹⁶. Существуют исследования, в

которых была установлена ассоциация аллеля 4а с риском развития ИБС у мужчин, однако данные о связи этого полиморфизма с риском развития атеросклероза коронарных артерий у женщин до настоящего момента отсутствовали²².

Таким образом, на основании проведенного исследования выявлены особенности вклада различных факторов риска в развитие ИБС у женщин молодого и среднего возраста. В качестве основных параметров рассматриваются: уровень ТГ, не-ЛПВП, офисное САД, семейный анамнез по ИБС, статус курения, отношение ОТ/ОБ и полиморфизм 4а4b гена эндотелиальной NO-синтазы. Следует отметить, что целый ряд параметров может быть определен с использованием современных лабораторных технологий.

Авторы статьи:

Феокистова В.С.¹, Сироткина О.В.^{1,2}, Болдуева С.А.¹, Вавилова Т.В.^{1,2}

1. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ.

2. ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ.

Литература

1. Vaccarino V., Badimon L., Corti R. et al. *Ischaemic heart disease in women: are there sex differences in pathophysiology and risk factors?* *Cardiovascular research*. 2011. Vol. 90. №1. P. 9–17. **2.** Nichols M., Townsend N., Scarborough P. et al. *European Cardiovascular Disease Statistics. 2012 edition. British Heart Foundation Health Promotion Research Group [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.escardio.org/The-ESC/Initiatives/EuroHeart/2012-European-Cardiovascular-Disease-Statistics>*. **3.** Чазова И.Е., Сметник В.П., Балан В.Е. и соавт. *Ведение женщин с сердечно-сосудистым риском в пери- и постменопаузе: консенсус российских кардиологов и гинекологов. Российский кардиологический журнал*. 2008. №4. С.61–78. **4.** Лебедева А.Ю., Клыков Л.Л., Зайцева В.В. *ИБС у молодых женщин: проблемы диагностики и профилактики. Российский кардиологический журнал*. 2011. Т. 92. № 6. С. 90–97. **5.** Ridker P.M., Buring J.E., Rifai N. et al. *Development and Validation of Improved Algorithms for the Assessment of Global Cardiovascular Risk in Women. The Reynolds Risk Score. JAMA*. 2007. Vol. 297. №6. P. 611–619. **6.** Khot U.N., Khot M.B., Bajzer C.T. et al. *Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. Journal of the American Medical Association*. 2003. Vol. 290. №7. P. 898–904. **7.** Daviglus M.L., Talavera G.A., Avilés-Santa M.L. et al. *Prevalence of major cardiovascular risk factors and cardiovascular diseases among Hispanic/Latino individuals of diverse backgrounds in the United States. JAMA*. 2012. V. 308. № 17. P. 1775–1784. **8.** Шишкин А.Н., Лындина М.Л. *Эндотелиальная дисфункция, метаболический синдром и микроальбуминурия. Нефрология*. 2009. Т. 13. № 3. С. 24–32. **9.** Вериго Я.И., Демко И.В., Петрова М.М. и соавт. *Фактор Виллебранда и его роль в дисфункции эндотелия при ишемической болезни сердца. Сибирское медицинское обозрение*. 2014. № 5(89). С. 23–28. **10.** Lee K.W., Lip G.Y., Tayejee M. et al. *Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. Blood*. 2005. Vol. 105. № 2. P. 526–532. **11.** Oram J.F., Vaughan A.M. *ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease. Circulation research*. 2006. Vol. 99. № 10. P. 1031–1043. **12.** Wang M., Lang X., Cui S. et al. *Assessment of the Influence of Paraoxonase 1 Activity and Coronary Heart Disease Risk. DNA and cell biology*. 2012. Vol. 31. P. 975–982. **13.** Минушкина Л.О., Петрова И.Р., Романова Т.А. и соавт. *Гены ангиотензинпревращающего фермента, NO-синтазы и эндотелина-1 и гипертрофия миокарда левого желудочка у больных с гипертонической болезнью коренных жителей Якутии. Кардиология*. 2005. Т. 41. № 1. С. 41–44. **14.** Родыгина Т.И., Демина Е.П., Шейдина А.М. и соавт. *Влияние вариантов генов ABCA1 транспортера и параоксоназы 1 на риск развития и тяжесть течения атеросклероза. Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2007. Т. 6. №4. С. 21–28. **15.** Wang X.L., Wang J. *Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular disease. Mol. Genet. Metab*. 2000. Vol. 70. P. 241–51. **16.** Zwarts K.Y., Clee S.M., Zwinderman A.H. et al. *ABCA1 regulatory variants influence coronary artery disease independent of effects on plasma lipid levels. Clinical genetics*. 2002. Vol. 61. № 2. P. 115–125. **17.** Zheng H., Xu H., Cui B. et al. *Association between polymorphism of the G-protein β3 subunit C825T and essential hypertension: an updated meta-analysis involving 36,802 subjects. Biological research*. 2013. Vol. 46. P. 265–273. **18.** Мамедов М.Н., Чепурина Н.А. *Суммарный сердечно-сосудистый риск: от теории к практике. Пособие для врачей. Москва*, 2007. С. 40. **19.** Назаренко Г.И., Клейменова Е.Б., Гущина Н.Н. *Лабораторные и генетические маркеры в стратификации риска ишемической болезни сердца. Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2009. Т. 8. С. 35–41. **20.** Яковлева Н.Ф., Маянская С.Д., Яковлева А.В. и соавт. *Влияние полиморфных вариантов гена эндотелиальной синтазы окиси азота на развитие и течение хронической сердечной недостаточности. Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2008. Т. 7. №5. С. 56–61. **21.** Метельская В.А., Гуманова Н.Г. *Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. Лабораторная медицина*. 2005. №7. С. 19–24. **22.** Agema W.R., de Maat M.P., Zwinderman A.H. et al. *An integrated evaluation of endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphisms and coronary artery disease in men. Clin Sci (Lond)*. 2004. Vol. 107. №3. P. 255–261.

Лабораторные анализы как ключевой этап в диагностике эндокринного бесплодия

В силу различий между демографической и эпидемиологической точками зрения единого клинически обоснованного определения бесплодия пока не существует¹.

По данным ВОЗ брак считается бесплодным, если у женщины не происходит зачатие после 12 месяцев регулярных половых контактов без контрацепции.

Проблема бесплодия приобретает все большую остроту во всем мире. В структуре причин бесплодного брака второе место (30–40%) занимает эндокринное женское бесплодие. Оно характеризуется разнообразием клинических и лабораторных проявлений.

Эндокринное бесплодие обусловлено нарушениями процесса овуляции, неспособностью яйцеклетки к оплодотворению или проблемами с имплантацией эмбриона. В основе этого лежат нарушения циклических процессов в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе.

Для определения функционального состояния репродуктивной системы и выяснения уровня нарушений применяются лабораторные исследования в сочетании с методами УЗИ.

При сохраненном ритме менструации главная задача – подтвердить наличие овуляции. Достаточная концентрация прогестерона в середине лютеиновой фазы цикла (21–23-й день) практически полностью гарантирует полноценность менструального цикла. При нарушении менструального цикла по типу олигоменореи или аменореи

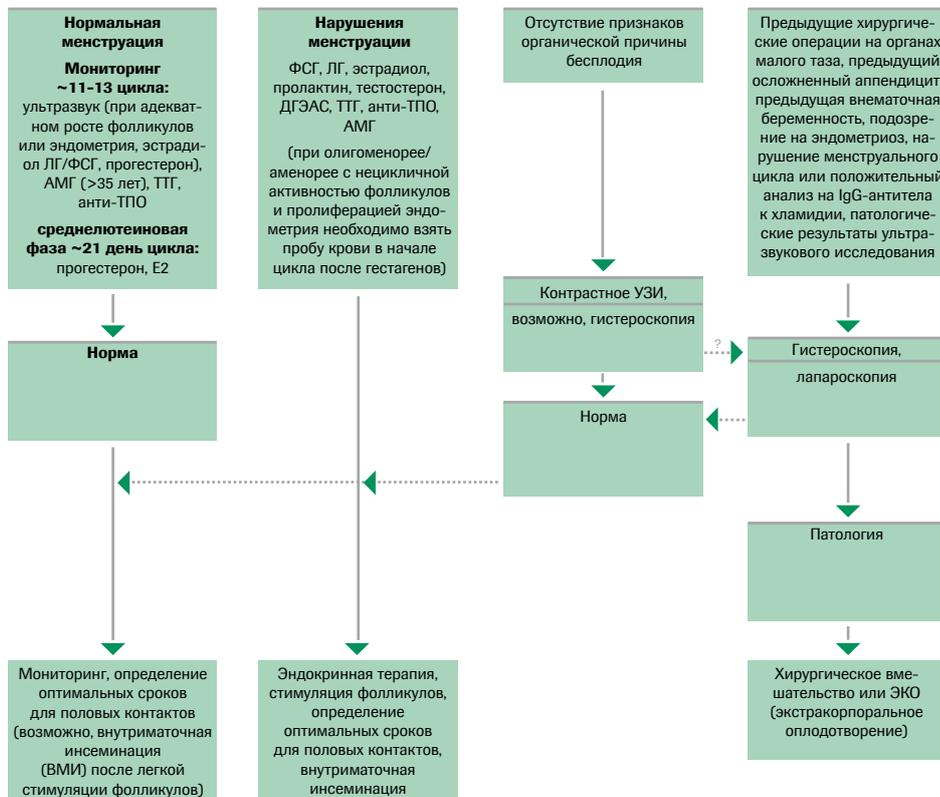


Рисунок 1. Эффективный алгоритм исследования при женском бесплодии

гормональное обследование больных является основным в установлении причины бесплодия.

(Предовуляторная) фаза созревания фолликулов

При оптимальном протекании процесса созревания предовуляторного фолликула доминантный фолликул диаметром более 16 мм может увеличить уровни эстрадиола примерно до 150–350 пг/мл. На рис. 2 изображен типичный

профиль секреции гормонов при нормальном менструальном цикле с овуляцией. Как указано выше, надлежащая оценка гормональных параметров возможна только при знании временных точек цикла и результатов ультразвукового исследования развития фолликулов. В предовуляторной фазе толщина эндометрия должна быть более 8 мм и обладать гладкой структурой. Толщина менее 6 мм ассоциируется с практически нулевой вероятностью имплантации⁷. В случае неудовлетворительной пролиферации эндометрия необходимо оценить достаточность активности яичников путем измерения значений эстрадиола. В частности, если на УЗИ выявлена уплотненная структура эндометрия, то рекомендуется дополнительно измерить уровень прогестерона, чтобы исключить преждевременную лютеинизацию фолликула. В случае значительных расхождений между результатами ультразвуковых показателей созревания фолликулов и пролиферации эндометрия и ожида-

Таблица 1. Диагностика менструального цикла²¹

Ультразвуковое исследование	<ul style="list-style-type: none"> • Рост фолликулов (фолликулометрия) • Проллиферация эндометрия
Контроль шейки матки	<ul style="list-style-type: none"> • Цервикальный фактор (баллы) • Посткоитальный тест
Эстрадиол (Э2)	<ul style="list-style-type: none"> • Созревание фолликулов
ЛГ (лютеинизирующий гормон)	<ul style="list-style-type: none"> • Время овуляции • Хронический повышенный уровень ЛГ
Прогестерон	<ul style="list-style-type: none"> • Преждевременная лютеинизация • Нециклическая активность фолликулов • Функция желтого тела (соотношение П/Э2)

Исследование дисфункции яичников

Обычный менструальный цикл подразделяется на фазы созревания фолликулов, овуляции и лютеинизации.

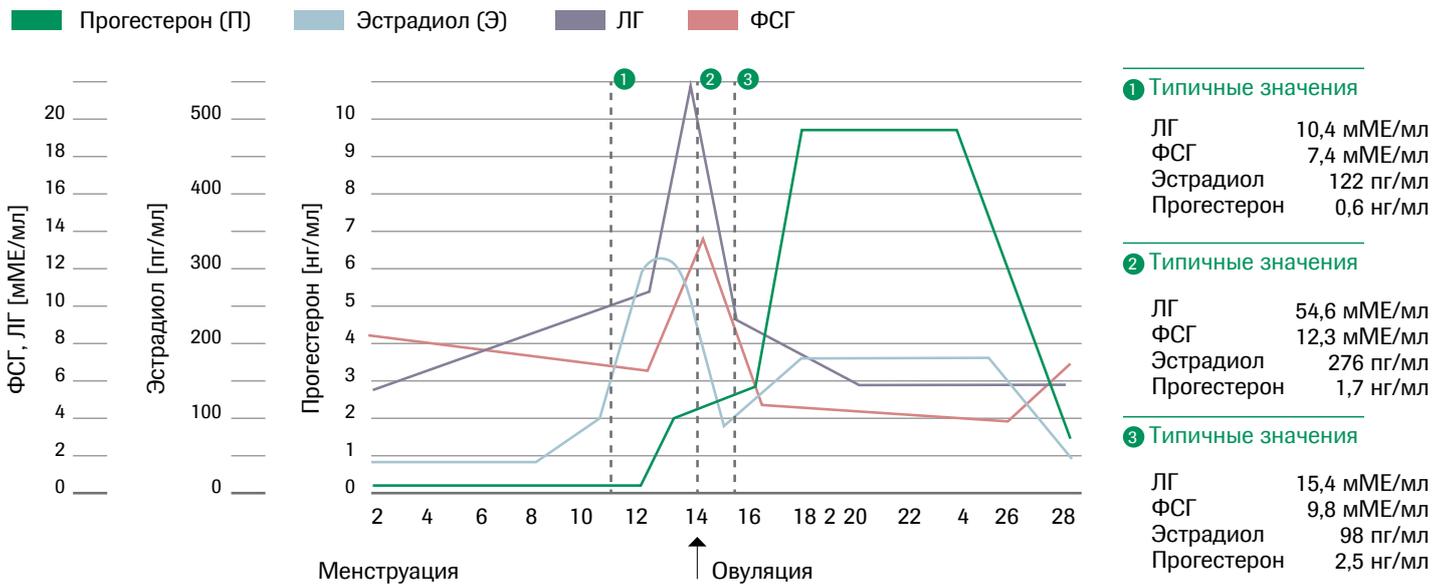


Рисунок 2. Типичное сочетание результатов эндокринного обследования при нормальном овариальном цикле²¹

емыми референсными значениями целесообразно одновременно измерить уровни гипофизарных гонадотропинов ФСГ (фолликулостимулирующий гормон) и ЛГ, а также овариальных гормонов: эстрадиола и прогестерона. Измерение антимюллера гормона (АМГ) – хороший способ оценки фолликулярной деятельности и функционального резерва яичников. По данным Gleicher N. et al.⁸, значения АМГ ниже 1,05 нг/мл можно рассматривать как признак клинически значимого ограничения резерва яичников, что ассоциируется с пониженной фертильностью и повышенным риском выкидыша. Достаточный уровень цервикальной секреции является необходимым условием для свободного продвижения сперматозитов. Вязкость цервикальной слизи – наилучший показатель активности эстрогенов. Секреция достигает своего максимума в последние два дня перед овуляцией и может быть проверена самостоятельно (пальцевая проба). **Дополнительное гормональное исследование функции щитовидной железы крайне важно для исключения субклинического гипотиреоза, который связывается с риском выкидыша.**

Лютеиновая фаза

Лютеиновая фаза характеризуется постовуляторным снижением ФСГ, ЛГ и эстрадиола и повышением прогестерона

до постоянного уровня около 10 нг/мл. Тем не менее, определение критериев оценки полноценности желтого тела в условиях нормальных овариальных циклов представляется затруднительным. Недостаточность лютеиновой фазы чаще всего предполагается в тех случаях, когда секреция прогестерона в середине лютеиновой фазы не превышает 10 нг/мл или наблюдается явное сокращение лютеиновой фазы (менее 12 дней), что, как правило, связано с предменструальными мажущими выделениями. До настоящего времени не установлено, является ли недостаточность лютеиновой фазы одной из причин бесплодия, поскольку это явление носит непостоянный характер. В ходе исследования, проведенного у бесплодных пациенток, было выявлено более частое снижение уровня прогестерона в середине лютеиновой фазы, а также относительное преобла-

дание уровня эстрогенов по сравнению с контрольной группой⁹. Наилучшим способом оценки лютеиновой фазы является одновременное определение показателей прогестерона и эстрадиола. По данным Bispink L. et al., нормальная функция желтого тела характеризуется соотношением прогестерона к эстрадиолу приблизительно 1:10–1:18 (уровень прогестерона выражен в нг/мл, а эстрадиола – в пг/мл)²¹. Одной из возможных причин нарушений в лютеиновой фазе может быть функциональная гиперпролактинемия.

Первичное (гипергонадотропное) истощение яичников.

Симптоматическое истощение яичников обычно сопровождается аменореей. После исключения анатомических причин аменореи (например, синдрома Майера – Рокитанского – Кюстнера – Ха-

Таблица 2. Этиология первичных (гипергонадотропных) нарушений функций яичников

Этиология гипергонадотропной недостаточности яичников

Генетические заболевания (X0 – синдром Тернера, дисгенезия гонад типа XY – синдром Суайра, синдром ломкой X-хромосомы)

Синдром ПИЯ (преждевременного истощения яичников)

Аутоиммунные заболевания (множественные эндокринные заболевания)

Экзогенно-ятрогенные нарушения (химиотерапия, радиация)

Галактоземия, большая талассемия, гемохроматоз

узера, маточной аплазии, синдрома Ашермана и т.д.), для дальнейшего прогнозирования необходимо определить уровень, при котором нарушается гипоталамо-гипофизарно-овариальная ось. Если в яичниках нет фолликулов, способных развиваться, или отсутствуют яйцеклетки, то уровень гипофизарных гормонов ФСГ и ЛГ увеличивается вследствие влияния отрицательной обратной связи со стороны ингибина и эстрадиола. Поэтому в перечень необходимых для диагностики тестов входит определение уровней ФСГ, ЛГ и эстрадиола. Постоянное и заметное повышение концентрации ФСГ свидетельствует о первичном гипергонадотропном истощении яичников. Низкий уровень базальных эстрогенов указывает на функциональное истощение яичников.

Функциональный овариальный резерв можно оценить прежде всего путем определения АМГ (антимюллерова гормона), обеспечивающего более точный и специфичный прогностический анализ функции яичников, чем уровни ФСГ/эстрадиола на 3-й день или ранее определенный ингибин В.

Вторичное (нормо- или гипогадотропное) истощение яичников

Гипоталамическая аменорея характеризуется концентрациями ФСГ и ЛГ от низкой до нормальной, при одновременном низком уровне эстрадиола. Можно проследить связь между этой патологией и нарушениями в пульсирующей секреции гонадолиберина в гипоталамусе. Активность ослабляется нейромедиаторами (катехолаэстрогенами, допамином, серотонином, норадреналином и т.д.), нейропептидами, а также эндогенными опиоидами ЦНС. Для этой ситуации характерно сниженное соотношение ЛГ/ФСГ при гипогадотропном уровне ЛГ и сохраняющейся концентрации ФСГ от низкой до нормальной. В первую очередь всегда следует исключать опухоль как возможную причину гипогадотропной аменореи. Для этого лучше всего использовать визуализирующие исследования (МРТ-сканирование головного мозга).

Гиперпролактинемия

Клинически значимая пролактинемия, как правило, связана с подавлением импульсной секреции гонадолиберина (ГнРГ) и сниженной импульсной секрецией ЛГ. Как следствие, при воз-

Таблица 3. Этиология и патогенез гипогадотропного нарушения функции яичников²¹

Гипоталамо-гипогадотропная недостаточность (истощение) яичников

Недостаточный вес, нервная анорексия
Хронический стресс
Высокие спортивные нагрузки
Гиперпролактинемия
Внутричерепная опухоль
Синдром Каллманна, синдром Шихана
Генетические нарушения (дефект рецептора гонадолиберина)

Таблица 4. Этиология первичных (гипергонадотропных) нарушений функций яичников

Гиперпролактинемия

Допаминаргическая супрессия, сниженная приемом медикаментов (лекарственных препаратов, действующих на психику, нейролептиков)
Эстрогены
Острый стресс
Гипотиреоз
Печеночная и почечная недостаточность
Аденома гипофиза (пролактинома)
Надклеточная опухоль

Таблица 5. Этиология и патогенез гиперандрогении

Гиперандрогения

Хроническая ановуляция / ПКЯ
Гиперинсулинемия / резистентность к инсулину
Ожирение
Дефект фермента надпочечников (поздний АГС)
Дисфункция щитовидной железы
Андрогенпродуцирующая опухоль

растающей тяжести нарушений это приводит к дисфункции яичников, которая начинается с недостаточности лютеиновой фазы, хронической ановуляции, вплоть до недостаточности яичников вследствие гиперпролактинемии и аменореи. Нередко возникает галакторея, но она может и отсутствовать вообще. Легкая форма гиперпролактинемии часто связана с гиперандрогенной дисфункцией яичников (например, синдром поликистозных яичников (ПКЯ).

Гиперандрогения

Гиперандрогенная дисфункция яичников – одна из наиболее часто встре-

чающихся эндокринопатий у женщин. Несмотря на разные первопричины, различные симптомы этой патологии можно отнести к одной общей категории: синдром ПКЯ.

Типичные симптомы – кожная андрогенизация (гирсутизм, акне) – напрямую не связаны с концентрацией андрогенов в кровотоке. Это скорее проявление индивидуальных различий в плотности рецепторов андрогенов и чувствительности ткани-мишени. Кроме того, это зависит от периферической активности андрогена-метаболита (5 α -редуктазы) по метаболизации тестостерона в дигидротестостерон. Био-

доступность андрогенов (в частности, тестостерона и дигидротестостерона) прежде всего в значительной степени зависит от концентрации глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ). В любом случае, у пациентов с признаками андрогенизации или подозрением на гиперандрогению необходимо исследовать следующие параметры: уровни тестостерона, ГСПГ и сульфата дигидроэпиандростерона (ДГЭАС). Основная цель такого исследования заключается в подтверждении или исключении выработки андрогенов надпочечниками или яичниками. Резкое повышение концентрации тестостерона или ДГЭАС может быть вызвано опухолью, что всегда должно быть прояснено с помощью функциональной и ультразвуковой диагностики, МРТ и т.д.

Синдром ПКЯ

Так называемый синдром ПКЯ не является однородной нозологической формой. Согласно текущему определению (NIH, ASRM/ESHRE)¹⁰, это общий термин для всех гиперандрогенных дисфункций, связанных с хронической ановуляцией, в долгосрочной перспективе приводящих к классической картине поликистозных яичников. Как правило, хроническая стимуляция яичников высокими концентрациями ЛГ при относительном дефиците ФСГ приводит к повышенной овариальной секреции андрогенов и ановуляции, характерным признаком которой служит увеличение уровня тестостерона. Примерно в 50% случаев обнаруживается связь с гиперплазией надпочечников (повышенным уровнем ДГЭАС), часто сопровождающейся ожирением. Результаты исследований последних лет привлекли внимание к патогенной роли гиперинсулинемии и резистентности к инсулину как возможным причинным факторам синдрома ПКЯ¹¹.

Надпочечниковая гиперандрогения

Лучшим способом оценки повышенной секреции андрогенов в коре надпочечников является измерение уровня тестостерона, андростендиона и ДГЭАС. Подавление андрогенов при приеме малой дозы кортикостероидов (например, 0,5 мг дексаметазона один раз в сутки на ночь) позволяет предположить надпочечниковое происхождение андрогенов.

Частой причиной надпочечниковой гиперандрогении является дефицит

21-бета-гидроксилазы в цепи синтеза кортизола при биосинтезе надпочечниковых стероидов, что в случае полной потери активности ферментов приводит к андрогенитальному синдрому. В результате нехватки ферментов накапливаются 17α-ОН-прогестерон, прогестерон, а также андроген андростендион, тестостерон и ДГЭАС. Как правило, клинически значимый дефицит 21-бета-гидроксилазы устанавливается по существенному повышению концентрации 17α-ОН-прогестерона. Анализ мутаций в генных локусах, определяющих код 21-бета-гидроксилазы (CYP21), позволяет поставить достоверный диагноз. Это следует считать достоверным диагностическим исследованием для планирующих беременность пациенток с генетическим риском заболевания андрогенитальным синдромом у их дочерей.

Нарушения функции щитовидной железы

Дисфункция щитовидной железы может значительно повлиять на деятельность других органов и зачастую приводит к нарушению функции яичников. В данном контексте заслуживает внимания не только гипертиреоз (частые нарушения менструаций), но и гипотиреоз, приводящий к нарушениям фертильности еще до его клинических проявлений.

Гипотиреоз

Связь между аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы и повышенным риском выкидыша установ-

лена уже давно¹², даже у женщин без нарушения гормональной функции щитовидной железы. Значительное увеличение концентрации ТТГ у беременных женщин с положительным титром антител к тиреопероксидазе должно вызвать подозрение на латентный гипотиреоз. В одном из исследований с относительно небольшим количеством участников было продемонстрировано, что заместительная терапия тироксином может снизить частоту осложнений при беременности у эутиреоидных женщин с положительными результатами на антитела к ТПО¹⁴. Даже при бессимптомной аутоиммунной дисфункции щитовидной железы латентный гипотиреоз ассоциируется со значительно повышенным риском выкидыша¹⁵. Для исключения дисфункции щитовидной железы подходящим методом скрининга является измерение уровня ТТГ.

Гипертиреоз

Распространенность гипертиреоза среди женщин репродуктивного возраста относительно невелика (2%). Симптоматическая форма часто бывает связана с дисфункциональными кровотечениями (полименорея, меноррагия). У беременных пациенток с неконтролируемым гипертиреозом повышен риск преэклампсии, преждевременных родов, выкидышей и мертворождения.

Секреция периферических тиреоидных гормонов Т3 и Т4 регулируется гипоталамическим тиреотропным гормоном (ТТГ). Измерение концентрации ТТГ – устойчивый чувствительный параметр

Таблица 6. Этиология и патогенез дисфункции щитовидной железы

Гипотиреоз
Признаки: значительно повышенный уровень ТТГ, низкий уровень СТ4; латентный, повышен только уровень ТТГ (более 2,5 мМЕ/мл)
Аутоиммунные тиреоидиты (синдром Хашимото)
Ятрогенные нарушения (операции на щитовидной железе, радиотерапия йодом)
Вторичный гипотиреоз (гипофизарная болезнь)
Дефицит йода
Гипертиреоз
Признаки: сниженный ТТГ; менее 0,2 (менее 0,1) мМЕ/мл, повышенный уровень СТ3, СТ4
Аутоиммунный гипертиреоз (базедова болезнь)
Автономно функционирующая железа (автономные аденомы)

проверки для мониторинга функционирования щитовидной железы. Если значение ТТГ выходит за пределы референсного диапазона, то в дополнение к ТТГ рекомендуется контролировать параметры периферических тиреоидных гормонов свободного Т3 (СТ3) и свободного Т4 (СТ4). Низкий (подавленный) уровень ТТГ следует считать признаком гипертиреоза. В случае симптоматического гипертиреоза синтез ТТГ практически полностью подавляется избыточной секрецией периферических тиреоидных гормонов. Нередко гипер-

тиреоз обусловлен базедовой болезнью, характеризующейся присутствием антител к ТТГ-рецепторам.

Быстрое, четкое и правильное установление причин infertility супружеской пары является определяющим фактором дальнейшего успешного лечения бесплодия. Стандартизированная программа ВОЗ (1997) по обследованию и лечению бесплодных супружеских пар включает в себя набор клинических и диагностических тестов. Прочно вошло в жизнь использование метода ЭКО как самого результатив-

ного способа борьбы с гормональным бесплодием, отягощенным спаечными процессами в трубно-перитонеальной области. Бесспорным является то, что правильный диагноз позволяет infertильной женщине с эндокринными проблемами стать матерью.

Автор статьи:

В.С. Аверкиева

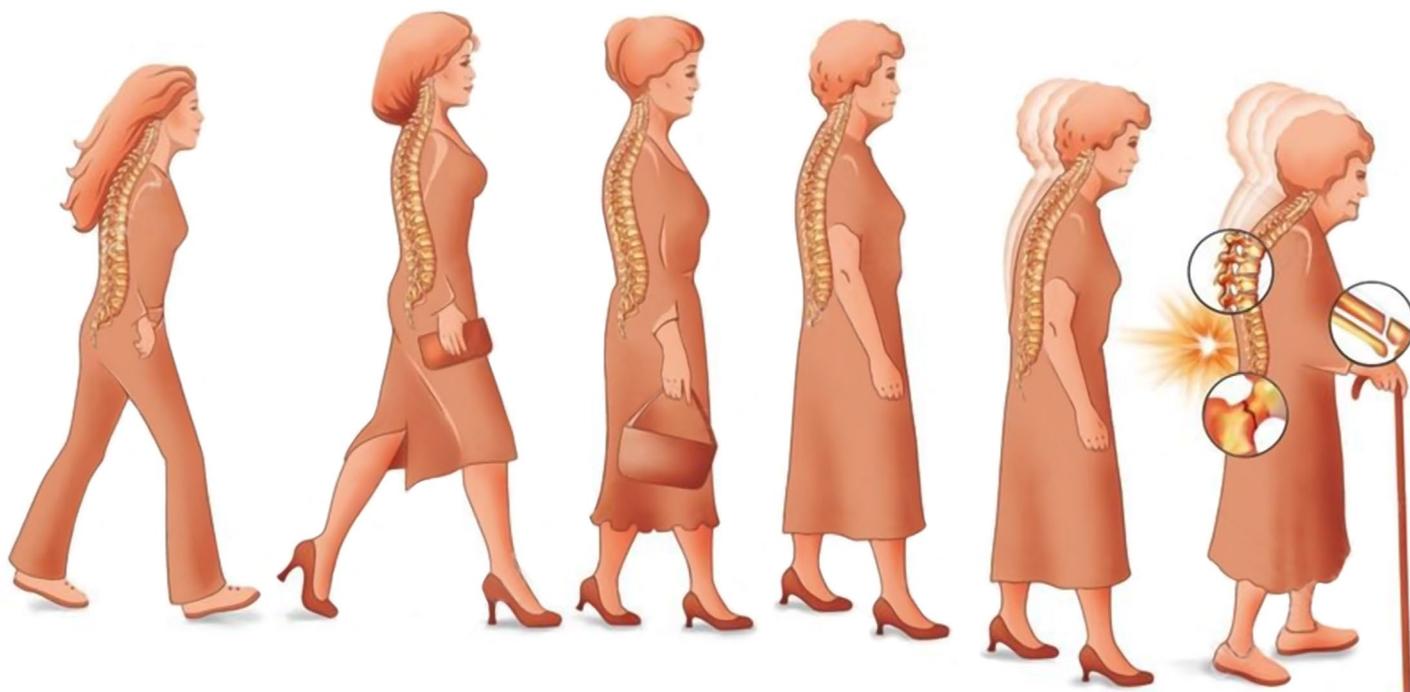
Менеджер по продукции

ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. Gurunath, S., Pandian, Z., Anderson, R.A., Bhattacharya, S. (2011). Defining infertility – a systematic review of prevalence studies. *Human Reproduction Update* 17 (5): 5751.
2. Cooper, T.G., Noonan E., von Eckardstein S., et al. (2010). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum. Reprod. Update* 16 (3): 231–45.
3. Boivin, J., Bunting L., Collins, J.A., Nygren, K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod* 2007; 22:1506-12.
4. Kidd, S.A., Eskenazi, B., Wyrobek, A.J. (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature, *Fertil Steril*; 75: 237.
5. Belsey, M.A., Ware, H. (1986). Epidemical, social and psychological aspects of infertility. In: *Infertility-Male and Female*; 631. Eds. Insler, V., Lunenfeld, B., Churchill Livingstone.
6. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2004). Aging and infertility in women. *Fertil Steril*; 82(suppl 1): S102.
7. Dickey, R.P., Olar, T.T., et al. (1993). Relationship of endometrial thickness and pattern to fecundity in ovulation induction cycles, *Fertil Steril* 59: 756.
8. Gleicher N. et al. (2010). Live births with very low AMH. *Fertil Steril*; 94: 2824-2873.
9. Guermandi, E., Vegetti, W., Bianchi, M.M., Uglietti, A., Rgni, G., Crosignani, P. (2001). Reliability of ovulation tests in infertile women. *Obstet Gynecol*; 97: 92-96.
10. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. (2004). Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*; 81: 19-25.
11. Baptiste, C.G., Battista, M.C., Trottier, A., Baillargeon, J.P. (2010). Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol*; 122: 42-52.
12. Stagnaro-Green, A., Roman, S.H., Cobin, R.H., et al. (1990). Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies. *JAMA*; 264: 1422-1425.
13. Glinoe, D., Rihai, M., Grün, J.P., Klinthaert, J. (1994). Risk of subclinical hypothyroidism in pregnant women with asymptomatic autoimmune thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab*; 73: 421-427.
14. Negro, R., Formoso, G., Mangieri, T., et al. (2006). Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: effects on obstetrical complications. *J Clin Endocrinol Metab*; 91: 2687-2591.
15. Negro, R., Schwartz, A., Gismondi, R., Tinelli, A., Mangieri, T., Stagnaro-Green, A. (2010). Increase Pregnancy Loss Rate in Thyroid Antibody Negative Women with TSH Levels between 2.5 and 5.0 in the First Trimester of Pregnancy. *J Clin Merab* 2010; 10:1210.
16. Lobo, R.A., Paul, W., March, C.M., Granger, I., Kletzky, O.A. (1982). Clomiphene and dexamethasone in women unresponsive to clomiphene alone. *Obstet Gynecol*; 60: 497.
17. Beck, J.I., Boothroyd, C., Proctor, M., Farquhar, C. and Hughes, E. (2005). Oral antiestrogens and medical adjuncts for subfertility associated with anovulation. *Cochrane Database Syst Rev*; 1,CD002249.
18. Azziz, R., Black, V.Y., Knochenhauer, G.A. et al. (1999). Ovulation After Glucocorticoid Suppression of Adrenal Androgens in the Polycystic Ovary Syndrome Is Not Predicted by the Basal Dehydroepiandrosterone Sulfate Level. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 946-950.
19. Dohle, G.R., Diemer, T., Giwmmersman, A., Junhwirth, A., Kopa, Z., Krausz, C. (2010). Members of the European Association of Urology (EAU) Guidelines Office. The updated EAU Guideline on Male Infertility. In: *EAU Guidelines, edition presented at the 25th EAU Annual Congress, Barcelona*.
20. Stirrat, G.M. (1990). Recurrent miscarriage. *Lancet*; 336: 673-675.
21. Bispink L., Breitbach E., Schlote N. (2012). *Practical Investigation of Infertility*. Unimed Verlag. Roche.

Значение биохимических маркеров костного ремоделирования в жизни женщины



Костный метаболизм – это непрерывное циклическое взаимодействие процессов костеобразования и резорбции костной ткани. Точная регуляция этих двух процессов осуществляется за счет сохранения относительного равновесия между эндогенными (гормоны, факторы роста и цитокины) и экзогенными факторами (главным образом, механическая нагрузка). Исследования последнего десятилетия позволили выявить нескольких участников костного ремоделирования, для которых сегодня доступны коммерческие тесты. Маркеры костного ремоделирования (МКР) обычно подразделяются на две категории: маркеры костеобразования и маркеры резорбции. Маркеры костеобразования являются продуктом жизнедеятельности остеобластов. Они включают: костную щелочную фосфатазу, остеокальцин, N-терминальный пропептид проколлагена I типа (P1NP) и C-терминальный пропептид проколлагена I типа. Маркеры костной резорбции являются продуктами деградации коллагена I типа: межмолекулярные сшивки пиридинолина и дезоксипиридинолина, C-терминальный телопептид коллагена I типа (CTX), N-терминальный телопептид и генерируемые матрикс-

ными металлопротеиназами фрагменты коллагена I типа; ферменты, секретируемые остеокластами, в частности изоформа 5 β тартрат-резистентной кислой фосфатазы и активатор лиганда рецептора ядерного фактора NF-KB; протеины, регулирующие активность остеокластов, продуцируемые остеобlastами и клетками иммунной системы (рис. 1).

В 2010 году Объединенная рабочая группа по стандартизации маркеров костного ремоделирования (WG-BMS) Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC) и Международного фонда борьбы с остеопорозом (IOF) опубликовала обширный обзор, в котором было указано, что имеется недостаточно данных для включения маркеров костного ремоделирования в современную клиническую практику. Уже в 2011 WG-BMS выпустила Согласительный документ о предпочтительном определении маркера костеобразования [P1NP] и маркера резорбции кости [CTX = β -CrossLaps] в качестве референсных маркеров при условии их измерения стандартизованным методом.

В настоящее время считается необходимым ориентироваться на референсные интервалы, полученные с учетом геогра-

фического района, этнической и популяционной группы, т.к. корректные значения CTX и P1NP имеют принципиальное значение для интерпретации результатов у пациентов с остеопорозом. Целевой группой для установления женских референсных интервалов являются здоровые женщины в период менопаузы в возрасте 30–45 лет, когда концентрация МКР находятся на самом низком уровне. В идеале волонтеры, принимающие участие в этих исследованиях, должны иметь нормальную минеральную плотность костной ткани (МПКТ) в области тел позвонков. Эксперты WG-BMS считают, что среднее значение референсного интервала в период менопаузы может использоваться в качестве целевого значения при терапии антирезорбтивными препаратами.

Кроме того, из-за различий, существующих между технологиями доступных коммерческих тестов, ожидаемые значения являются специфичными для конкретного метода и не могут рассматриваться как взаимозаменяемые. Чтобы преодолеть указанные ограничения, WG-BMS IFCC/IOF призывает авторов будущих клинических исследований сосредоточиться на использовании стандартных аналитических методов, в частности электрохемилюминесцентной технологии Roche.

Маркеры костного ремоделирования у девочек в детском и подростковом возрасте

В процессе онтогенеза костная система претерпевает возрастные изменения, которые начинаются со второго месяца внутриутробного развития, а затем продолжают в течение всей жизни. Динамика МКР указывает на связь процессов развития костной ткани у здоровых детей с возрастом и полом, а значительные отличия абсолютного содержания костных маркеров у детей по сравнению с аналогичными показателями у взрослых отражают высокие темпы процесса ремоделирования.

С момента рождения до 12 лет концентрация β -CrossLaps умеренно возрастает, но не имеет различий между девочками и мальчиками. После 12 лет содержание β -CrossLaps в сыворотке девушек начинает снижаться, стремясь к 18–20 годам достичь значений, характерных для взрослых женщин. Показательно, что у девочек в возрасте 9–14 лет сывороточная концентрация β -CrossLaps выше, чем у мальчиков, а в старшем возрасте, наоборот, ниже, чем у юношей соответствующего возраста. Возрастные изменения МКР в детском и подростковом возрасте связаны с процессами естественного роста и развития, чутко отвечая на пробуждение гонадной оси. Значительная скорость линейного роста у девочек характерна для года, предшествующего наступлению менархе.

Максимальное содержание P1NP отмечается при рождении, далее динамика маркера в детском и подростковом возрасте характеризуется чередованием подъемов и снижений. Наиболее выраженный подъем наблюдается у девочек в возрасте 9–10 лет, в то время как у мальчиков второй подъем приходится на 13–14 лет, а снижение P1NP с 11 лет у девочек происходит более резко и выражено. Эта динамика отражает действие закона неравномерности скорости роста и совпадает с периодами, определяемыми в педиатрии как периоды «округления» (преимущественное увеличение массы тела по сравнению с ростом) и «вытягивания» (преобладание темпа роста по сравнению с увеличением массы тела). Каждая отдельная кость и скелет в целом растут последовательно, сменяя фазы роста в длину и толщину.

МКР демонстрируют вариабельность в зависимости от возраста. Костное ремоделирование у детей выражено значи-

тельно, но с возрастом его интенсивность быстро снижается, отражая завершение консолидации костной массы и закрытие ростковых зон, когда МПКТ у молодых людей достигает своего пика.

Скачок роста, наблюдаемый у подростков в пубертатный период, зависит от присутствия половых гормонов, т.к. для процесса минерализации костей и закрытия эпифизов необходим эстроген. Известно, что при нарушениях синтеза половых гормонов или рецепторного взаимодействия гормона и клетки-мишени закрытие эпифизов не происходит, а линейный рост продолжается и в период половой зрелости. Обратная ситуация наблюдается при преждевременном половом развитии, при котором рост костей скелета ускоряется. Это приводит к раннему закрытию зон роста, и в результате конечный рост оказывается ниже, чем он мог бы быть при своевременном половом развитии. Следовательно, возрастная динамика МКР у девочек и девушек тесно связана с процессами роста и развития, отражая индивидуальную кривую роста.

Маркеры костного ремоделирования у беременных и кормящих женщин

Как беременность, так и продолжительная лактация являются периодами сильного стресса для материнского скелета, но у большинства женщин метаболизм кальция хорошо адаптирован для обеспечения потребностей скелета плода. Основной целью изменений обмена кальция является обеспечение адекватной минерализации скелета плода. Во время беременности отмечается состояние некоторой гипокальциемии, связанное с физиологической гипоальбуминемией беременных, уровень свободного кальция остается неизменным, а уровень циркулирующего паратгормона незначительно снижается в течение первого и второго триместров беременности, но нормализуется в конце беременности.

При беременности также происходит изменение уровня инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) и гормона роста плаценты, которые также участвуют в регуляции баланса кальция между матерью и плодом. Уровень ИФР-1, стимулированного паратгормоном, повышается в течение третьего триместра беременности, но снижается во время послеродового периода.

С другой стороны, в период лактации никакого увеличения абсорбции кальция в кишечнике не наблюдается. Сывороточ-

ный уровень пролактина остается повышенным, но уровни эстрогена снижаются. Снижение уровня эстрогенов наряду с усилением секреции родственного паратиреоидному гормону пептида (РТНгР) приводит к резорбции кости. Лактация вызывает снижение минеральной составляющей костной ткани на 3–8%, восстановление которой происходит после прекращения лактации. Эта обратимое снижение минеральной составляющей костной ткани, по-видимому, в долгосрочной перспективе не оказывает негативного влияния на скелет.

Физиологические изменения во время беременности, такие как увеличение объема циркулирующей крови и повышенный почечный клиренс, также влияют на уровень МПКТ, что затрудняет интерпретацию результатов исследований. В клинической практике отсутствуют показания к регулярному измерению уровней МКР во время беременности или после родов.

Редко и, вероятно, у хрупких пациенток высокого риска показатели МКР матери будут ухудшаться, что отражает вероятность развития остеопороза и переломов во время беременности, послеродового периода и лактации. Остеопороз в период беременности и лактации может возникать на поздних сроках беременности или в раннем послеродовом периоде. В подобных случаях пациенток лечат с помощью добавок с содержанием кальция и витамина D, прекращения лактации, в некоторых случаях – с помощью антирезорбтивных препаратов, таких как бисфосфонаты. У этих пациенток может быть показано измерение уровней МКР.

Маркеры костного ремоделирования у женщин в период постменопаузы

Остеопороз является наиболее распространенным метаболическим заболеванием костной ткани, и, согласно прогнозам, по мере старения населения значимость этой проблемы будет возрастать во всем мире. Его часто называют «бесшумной эпидемией», потому что на ранней стадии заболевание протекает незаметно, пока не осложнится образованием трещины или возникновением перелома. При этом основная медицинская, социальная и экономическая нагрузка связана именно с переломами, риск которых у лиц, страдающих остеопорозом, является более высоким. Больше всего распространен первичный остеопороз, который возникает преимущественно после 50 лет, у женщин в 6 раз чаще, чем у

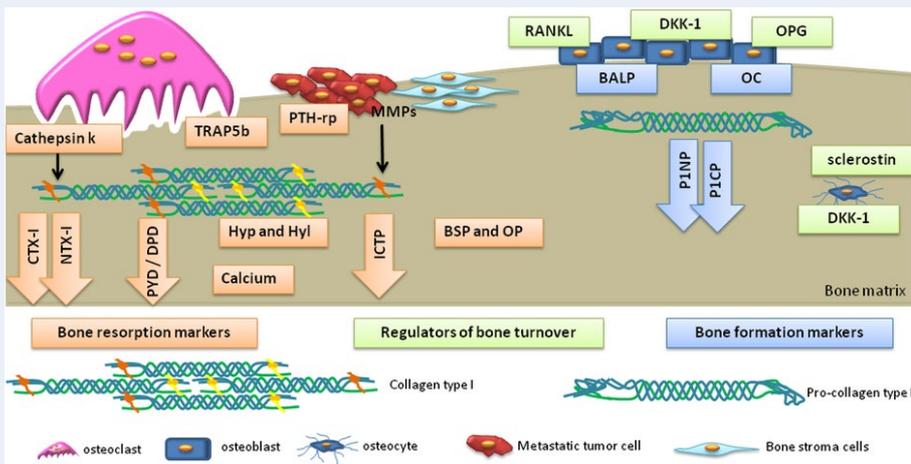


Рисунок 1. Биохимические маркеры костного ремоделирования

Голубая заливка обозначает маркеры формирования кости: костную щелочную фосфатазу (BALP); остеокальцин (OC); N- и C-терминальные пропептиды проколлагена I типа (P1NP и P1CP). Оранжевая заливка обозначает маркеры резорбции: пиридинолин (PYD); дезоксипиридинолин (DPD); C-терминальный телопептид коллагена I типа (CTX-I); N-терминальный телопептид коллагена I типа (NTX-I); гидроксипролин (Hyp); гидроксизин (Hyl); костный сиалопротеин (BSP); остеопонтин (OP); тартрат-резистентная кислая фосфатаза 5b (TRAP5b); катепсин K. Зеленая заливка обозначает регуляторы костного обмена: активатор рецептора лиганда NF-κB (RANKL), остеопротегерин (OPG), диккопф-1 (DDK-1) и склеростин.

В ходе процесса костного ремоделирования остеобласты продуцируют RANKL и OPG, которые регулируют дифференцировку и созревание остеокластов. Ремоделирование кости начинается с активации покровных клеток покоящейся зоны при помощи специфических цитокинов. На костном матриксе при участии специфических цитокинов происходит разрушение протективного слоя, к оголенной поверхности мигрируют предшественники остеокластов, сливаются в многоядерную структуру – зрелый остеокласт, который деминерализует костный матрикс (резорбция, катализируемая при помощи катепсина K и TRAP5b). Деградация костного коллагена I типа I приводит к высвобождению CTX-I и NTX-I, PYD, DPD и Hyp/Hyl. Во время процесса резорбции кости также происходит выброс кальция и ферментов костного матрикса: BSP и OP. Образование костной ткани представляет собой процесс, связанный с высвобождением BALP и OC-специфических ферментов остеобластов. Остеобласты выделяют во внеклеточное пространство коллаген типа I как молекулу проколлагена типа I; после чего его окончания расщепляются, освобождая P1NP и P1CP. В присутствии DDK-1 и склеростина Wnt* путь подавляется, и дифференцировка остеобластов ингибируется. Остеобласты остаются внутри костного матрикса, превращаясь в остеоциты. Остеобласты, оставшиеся на поверхности вновь сформированной кости, дифференцируются в покровные клетки. Начинается синтез костных протеинов, формирование органического матрикса кости, после чего минерализация, в соответствии с новыми условиями статической и динамической нагрузки на кость, завершает цикл ремоделирования.

Wnt* – один из внутриклеточных сигнальных путей, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей.

мужчин. Полагают, что он связан с гормональными изменениями, характерными для периода постменопаузы. Следовательно, именно в этом возрасте определение МРК у женщин приобретает особую значимость.

Остеопороз определяется как заболевание, характеризующееся низкой костной массой и нарушением микроstructures костной ткани, что приводит к повышенной хрупкости костей и последующему увеличению риска переломов. Диагностическим критерием ВОЗ для остеопороза является измерение минеральной плотности костной ткани, равное или превышающее 2,5 стандартных отклонения (СО) ниже среднего значения для женщин молодого возраста (20–29 лет) (Т-критерий < -2,5 СО). Пограничное снижение

для оценки реакции на терапию. Примечательно, что биохимические МРК отражают изменения костного метаболизма быстрее, чем изменения значений других клинических показателей, таких как МПКТ, и могут потенциально использоваться в качестве индикаторов при диагностике и мониторинге метаболических заболеваний костей.

Маркеры костного ремоделирования при оценке исходного состояния костной ткани

Наибольший объем костной массы и наименьшее содержание МРК наблюдается в третьем десятилетии жизни женщины. При наступлении менопаузы в каждой базисной многоклеточной единице рассасывается больший объем костной ткани, чем формируется, итоговый баланс приобретает отрицательное значение, что объясняет ускоренное снижение костной массы после менопаузы. Отражая процесс потери костной массы, концентрация маркеров костеобразования и резорбции начинает возрастать в период ранней менопаузы. У женщин пожилого возраста маркеры костного ремоделирования продолжают повышаться, часто вследствие мальабсорбции кальция и/или дефицита витамина D, а также развития вторичного гиперпаратиреоза.

У женщин в периоде постменопаузы часто отмечаются отрицательные и статистически значимые корреляции между значениями МРК и МПКТ в области поясничных позвонков и тазобедренного сустава, однако данные о чувствительности, специфичности и предиктивных значениях МРК при обследовании пациенток с остеопорозом отсутствуют. Также ни одно проведенное исследование не концентрировалось на возможности дифференциальной диагностики первичного и вторичного остеопороза на основе первичного результата значения МРК. Согласно имеющимся данным, обследование на МРК не может быть рекомендовано для скрининга эндокринных заболеваний у пациентов, которым был поставлен диагноз остеопороза или остеопении. Было показано, что МРК не имеют решающего значения для выявления пациентов с бессимптомными переломами позвонков и без переломов.

Маркеры костного ремоделирования и прогнозирование переломов

Положительные и отрицательные данные о взаимосвязи МРК и риска переломов следует интерпретировать с осторож-

МПКТ (Т-критерий от -1,0 до -2,5) определяется как остеопения. Таким образом, основное внимание при клиническом лечении остеопороза сфокусировано на предотвращении или уменьшении риска переломов и на получении последующего ответа на терапию.

Во многих обзорах уже давалась критическая оценка интереса, который представляют МРК при обследовании пациентов с остеопорозом и мониторинге их лечения. При наблюдении за группами с высоким риском поражения костной ткани первостепенное значение имеет выявление пациентов, у которых возможно получение наиболее выраженного положительного результата. Для пациентов, уже получающих лечение, большое значение имеет выбор оптимального способа

ностью. Клиническое применение МКР для прогнозирования переломов требует дополнительной стандартизации времени получения биологических образцов, выбора МКР, определения клинически достоверных пороговых значений, а также выбора типа перелома и продолжительности последующего наблюдения, в течение которого значения МКР могут быть валидными.

Потенциально МКР могут способствовать выявлению женщин, у которых ожидается выраженный эффект от лечения остеопороза и будет достигнуто снижение затрат на лечение. Имеются убедительные доказательства, что высокие показатели маркеров костного ремоделирования предсказывают более быструю потерю костной ткани, а фармакоэкономическое исследование показало, что применение антирезорбтивного препарата у женщин с остеопенией и высоким содержанием МКР экономически эффективно. В связи с этим в клинических рекомендациях «Остеопороз» содержится положение, что уровень МКР в верхней четверти референтного интервала рекомендуется оценивать как дополнительный фактор риска для инициации терапии остеопороза у женщин в постменопаузе с остеопенией.

Маркеры костного ремоделирования и мониторинг лечения остеопороза

МКР отражают метаболическое влияние лекарственных препаратов на обменные процессы в костной ткани. Ингибирование разрушения костной ткани антирезорбтивными препаратами приводит к снижению концентраций маркеров резорбции кости, за которыми следует период стабилизации их содержания в крови. Напротив, процесс костеобразования продолжается в базисных многоклеточных единицах, активированных до лечения, поэтому концентрация маркеров костеобразования может быть стабильной в течение нескольких недель. Затем, когда остеобласты заполняют уже меньшее количество базисных многоклеточных единиц, сформированных после начала лечения, их уровень постепенно снижается и, наконец, достигает стабильной концентрации. Изменения МКР при терапии антирезорбтивными препаратами зависят от клеточного механизма действия препарата, степени ингибирования резорбции кости и пути введения.

Соразмерное снижение маркеров резорбции и костеобразования при лечении распространенными антирезорбтивными препаратами, такими как бисфосфонаты

и моноклональные антитела человека к лиганду рецептора активатора ядерного фактора κ B (RANKL), и, соответственно, повышение уровня МКР при лечении препаратами, стимулирующими костеобразование, такими как рекомбинантный человеческий паратгормон, отражает механизм действия этих препаратов на остеокласты и остеобласты, активность которых связана с применяемой терапией с помощью ряда матриксных факторов и кластокинов.

Таким образом, моноклональные антитела для лечения остеопороза, применяемые в виде подкожных инъекций, ингибируют костную резорбцию через 12 часов после введения. Бисфосфонаты, применяемые внутривенно, ингибируют резорбцию кости и снижают уровни маркеров резорбции кости быстрее, чем при пероральном способе их применения. Кроме того, бисфосфонаты ингибируют резорбцию кости и снижают уровни МКР сильнее, чем селективные модуляторы рецепторов эстрогенов.

Мощные стимуляторы костеобразования, такие как рекомбинантный паратгормон, быстро усиливают костеобразование, особенно концентрацию P1NP. За этим следует увеличение костной резорбции. На ранней стадии лечения костеобразование усиливается, главным образом в области эндохортикальной и трабекулярной поверхностей, тогда как резорбция кости по-прежнему остается низкой. Во время этого раннего этапа лечения, называемого «анаболическим окном», концентрации МКР быстро нарастают. Повышение уровня P1NP в сыворотке крови, вызванное действием рекомбинантного человеческого паратгормона, происходит уже через 3 дня после начала лечения, а затем повышаются концентрации других МКР. Возможное объяснение этой последовательности состоит в том, что паратгормон стимулирует незрелые остеобласты, которые экспрессируют коллаген I типа. Повышение сывороточной концентрации P1NP более чем на 10 пг / мл может прогнозировать большее увеличение МКР. Раннее повышение концентраций МКР при лечении аналогом паратгормона положительно коррелирует с последующим повышением этих маркеров.

При лечении антирезорбтивными препаратами большее снижение уровня МКР в течение первого года лечения связано с большим увеличением МПКТ и большей эффективностью профилактики переломов в течение 3 лет лечения.

Мониторинг МКР у каждого пациента может улучшить соблюдение режима лечения при терапии остеопороза. В связи с этим клинические рекомендации «Остеопороз» и Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению остеопороза предлагают определять маркеры костного ремоделирования (резорбции при назначении антирезорбтивной терапии и костеобразования при назначении анаболической терапии) исходно и через квартал от начала терапии с целью ранней оценки эффективности лечения и приверженности к терапии. Оправдано исследование уровня маркеров костного ремоделирования, можно ожидать как минимум 30-процентного изменения их содержания через 3 месяца от начала лечения. Неадекватный ответ маркеров костного ремоделирования является ранним сигналом о необходимости дополнительного лечения или смены терапии.

Кроме того, в условиях отсутствия возможности проведения денситометрии маркеры костного ремоделирования могут служить суррогатным критерием эффективности терапии. При проведении мониторинга лечения оптимально исследовать маркеры костного ремоделирования в одно и то же время на одинаковом анализаторе, используя наборы одного и того же производителя.

Маркеры костного ремоделирования при метастазах в кости

Кости являются наиболее распространенными областями образования отдаленных метастазов рака молочной железы и могут поражаться более чем у 50% женщин с прогрессирующим заболеванием. Хотя сегодня существуют методы лечения метастазов, по-прежнему отмечаются высокие уровни осложнений и смертности среди пациенток с раком молочной железы, имеющих метастазы в кости. Средняя продолжительность жизни этих пациенток составляет 4 года после постановки диагноза.

В дополнение к своей обширной площади костная ткань обладает множеством особенностей, которые делают ее «излюбленным» местом для роста раковых клеток и обеспечивают ее восприимчивость к потенциально разрушительным осложнениям, таким как сильная боль и объективные осложнения, называемые событиями, связанными со скелетом. У пациенток со злокачественными поражениями костей взаимодействие между опухолью и костью нарушает пространственные соотношения и процессы жизнедеятельности

костных клеток, что ведет к увеличению скорости остеолитического, представляющего собой патологическое и/или разобщенное костеобразование. Как и в случае других заболеваний, связанных с изменениями костной ткани, развитие метастазов рака молочной железы в кости является многоэтапным процессом, зависящим от соотношения процессов костеобразования и резорбции кости. В общих чертах процесс метастазирования состоит из отделения опухолевых клеток от первичной опухоли, миграции опухолевых клеток и их фиксации в костном мозге, клеточной инвазии костного матрикса и взаимодействия между клетками опухоли и костным матриксом (аналогично «посеву семян в почву») с развитием в результате очагов остеолитического. Некоторые из МКТ рассматриваются с целью выявления пациенток с повышенным риском развития метастазов рака молочной железы в кости.

Исследование Dean-Colomb W. et al., базирующееся на измерении МКТ у пациенток с раком молочной железы, выявило корреляцию уровней остеокальцина, β -CrossLaps и P1NP. Однофакторный ана-

лиз показал, что сывороточные уровни P1NP, остеокальцина и β -CrossLaps при диагнозе рака молочной железы статистически незначимо коррелируют с показателем общей выживаемости. Однако после корректировки по клиническим факторам многовариантный регрессионный анализ пропорциональных рисков показал, что уровень остеокальцина является независимым прогностическим показателем для общей выживаемости. Корреляция между повышенными уровнями остеокальцина в сыворотке крови на момент постановки диагноза «рак молочной железы» и неблагоприятным прогнозом подтверждается во многих сообщениях. Концентрация P1NP в сыворотке, составляющая не менее 75 нг/мл на момент постановки диагноза «рак молочной железы», коррелировала с быстрым развитием метастазов в кости и низким показателем общей выживаемости у пациенток, страдающих раком молочной железы I–III стадий. Повышенные уровни маркеров ремоделирования костной ткани являются неблагоприятными прогностическими признаками.

Заключение

Точная роль биохимических маркеров костного ремоделирования в лечении метаболических заболеваний костей остается предметом изучения. Однако, если измерение МКТ проводится должным образом, они могут способствовать лучшей оценке патофизиологического процесса и прогнозировать долгосрочные результаты терапии. МКТ являются перспективным дополнением к мониторингу эффективности лечения и адаптации у пациентов с метастазами в кости, получающих лечение антирезорбтивными средствами. С учетом экономических аспектов, маркеры костного ремоделирования являются важным элементом лечебных стратегий при заболеваниях костной ткани.

Автор статьи:

В.С. Берестовская
 Менеджер по централизованным
 решениям
 ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. Ивашикина Т.М., Котова Т.Н. и соавт. Возрастная динамика уровня сывороточных костных маркеров у здоровых детей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010. № 11. С.7–10.
2. Клинические рекомендации «Остеопороз». 2016.
3. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению остеопороза. 2014.
4. Cavalier E., Bergmann P. et al. The role of biochemical of bone turnover markers in osteoporosis and metabolic bone disease: a consensus paper of the Belgian Bone Club. *Osteoporos Int*. 2016 Jul;27(7):2181–2195. doi: 10.1007/s00198-016-3561-3.
5. Dean-Colomb W., Hess K.R. et al. Elevated serum P1NP predicts development of bone metastasis and survival in early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 Jan;137(2):631–6. doi: 10.1007/s10549-012-2374-0.
6. Morris H.A., Eastell R. et al. IFCC-IOF Working Group for Standardisation of Bone Marker Assays (WG-BMA). Clinical usefulness of bone turnover marker concentrations in osteoporosis. *Clin Chim Acta*. 2017 Apr;467:34–41. doi: 10.1016/j.cca.2016.06.036.

Диагностика сифилиса сегодня

Сифилис – это инфекционное заболевание, передающееся преимущественно половым путем и характеризующееся поражением кожи, слизистых оболочек, нервной системы, внутренних органов и опорно-двигательного аппарата.

Возбудитель сифилиса

Возбудителем сифилиса является внутриклеточная грамотрицательная спирохета *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), которая относится к порядку *Spirochaetales*, семейству *Spirochaetaceae*, роду *Treponema*, виду *T. pallidum*, подвиду *pallidum* (син. *Spirochaeta pallidum*). *T. pallidum* разрушается под воздействием внешних агентов, таких как высушивание, прогревание при 55° С в течение 15 мин, этилового спирта. При этом низкие температуры способствуют выживанию. *T. pallidum* представляет собой микроорганизм спиралевидной формы: число оборотов спирали от 8 до 12, ее завитки равномерны, имеют идентичное строение. Размножается *T. pallidum* преимущественно путем поперечного деления на два или несколько сегментов, каждый из которых вырастает затем во взрослую особь¹.

Актуальность проблемы

Конец XX века характеризовался резким подъемом заболеваемости сифилисом в России. В период с 1988 по 1996 г. в Российской Федерации (РФ) было отмечено увеличение показателей заболеваемости сифилисом в 62 раза². С 1997 г. эпидемия сифилиса пошла на спад, и к 2004 году уровень заболеваемости сифилисом снизился почти в 4 раза среди городского населения. Среди сельских жителей России показатель заболеваемости к 2004 г. снизился в 2,6 раза. Темпы снижения заболеваемости сифилисом всего населения РФ в этот период варьировали от 11,5 до 20,5% в год³.

Заболеваемость сифилисом в 2009 г. в РФ составила 53,3 человека на 100 тыс. населения. С 2003 по 2007 г. уровень заболеваемости сифилисом снизился на 33,7%. В среднем снижение происходило на 6,8% в год⁴. За январь 2016 г. по сравнению с аналогичным периодом 2015 г. зарегистрировано существенное снижение

заболеваемости сифилисом, впервые выявленным, – на 19,0%. Однако, несмотря на снижение заболеваемости сифилисом в целом по РФ, ее уровень превышал в десятки раз не только европейские показатели, но и показатели прежних волн подъема заболеваемости в России⁵.

Наряду со снижением общего уровня заболеваемости сифилисом сохранялись некоторые неблагоприятные тенденции: рост удельного веса в структуре заболеваемости сифилисом молодежи и подростков, женщин; высокий удельный вес латентных форм; увеличение числа случаев нейросифилиса. Рост регистрации случаев нейросифилиса свидетельствует о том, что пациенты несвоевременно обращаются за медицинской помощью в специализированные лечебные учреждения, а используемые в клинической практике методы диагностики и лечения сифилиса не всегда адекватны⁶.

Стадии заболевания и симптоматика

Согласно клиническим наблюдениям, симптомы данного заболевания можно разделить на две стадии. Безболезненные язвы в месте проникновения в организм (первичный сифилис) сменяются сыпью по всему телу по мере распространения бактерии в организме (вторичный сифилис). Если болезнь не диагностирована на одной из перечисленных стадий, сифилис вступает в продолжительную латентную (асимптоматическую) фазу, характеризующуюся сероконверсией к *T. pallidum*. В случае если инфекция не подвергалась лечению, развивается поздняя стадия сифилиса, характеризующаяся развитием гранулематозных поражений кожи, нейросифилиса и сердечно-сосудистого сифилиса (с возможным летальным исходом)¹.

У женщин, инфицированных сифилисом и не проходивших лечение, неблагоприятные исходы беременности могут наблюдаться в 66,5% случаев. Неблагоприятные исходы беременности включают поздние выкидыши, недоношенность, низкую массу новорожденных для данного гестационного возраста, смерть плода⁷. При этом врожденный сифилис может приводить, в зависимости от тяжести, к неонатальной смертности, неонатальному заболеванию или латентной инфекции с



Один из самых известных портретов больного сифилисом.
Рембрандт. Портрет Герарда де Лересса, 1665.

отсроченными последствиями. К сожалению, до двух третей инфицированных младенцев рождаются без симптомов. Раннее выявление и адекватное лечение сифилиса у беременных женщин являются ключевыми шагами к предотвращению распространения сифилиса в современном мире⁸.

Серологический ответ

Иммунный ответ организма на *T. pallidum* является основной причиной образования поражений на коже и слизистых оболочках. Антитела формируются как к специфическим антигенам *T. pallidum* (трепонемные антитела), так и к неспецифическим антигенам, например кардиолипинам (нетрепонемным антителам), которые, в частности, высвобождаются в результате повреждения клеток организма в результате инфекции. Однако исследование нетрепонемных антител может быть неспецифическим. Так, в частности, кардиолипин (дифосфатидилглицерол) – фосфолипид, который присутствует в плазме крови в составе липопротеинов и входит в состав внутренней мембраны митохондрий. Формируется при целом ряде заболеваний: аутоиммунных заболеваниях, инфекциях (сифилис, лептоспироз, болезнь Лайма, микоплазмоз, туберкулез, вирусных инфекциях – ВИЧ, ВЭБ, парвовирус В 19, гепатитах), злокачественных новообра-

зованиях. Кроме того, синтез данных анти-тел может быть спровоцирован приемом целого ряда лекарственных препаратов: β-блокаторами, гидралазином, α-интерфероном, кокаином, фенотиразином, фенитоином, хлорпромазином, хинином и другими⁹.

Через 2–3 недели после инфицирования в крови пациента могут быть детектированы иммуноглобулины класса М, иммуноглобулины класса G появляются в среднем на 2 недели позже¹⁰.

Методы диагностики сифилиса

Существует два типа методов лабораторной диагностики сифилиса – прямые и непрямые. Прямые иммунологические методы выявляют антитела к возбудителю сифилиса в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости.

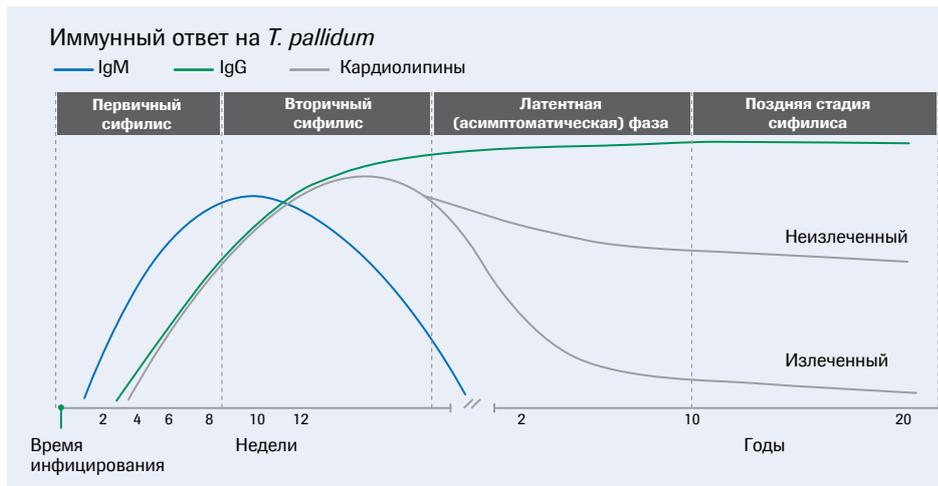
Абсолютным доказательством наличия заболевания является обнаружение *T. pallidum* в образцах, полученных из очагов поражений, с помощью микроскопии или прямой иммунофлуоресценции, а также выявление специфической ДНК и РНК возбудителя методом полимеразной цепной реакции.

Прямые методы используются для диагностики ранних форм заболевания (первичный и вторичный сифилис) с клиническими проявлениями (эрозивно-язвенные элементы), для подтверждения врожденного сифилиса (ткань пуповины, плаценты, органы плода, отделяемое слизистой оболочки носа, содержимое пузырей, отделяемое с поверхности папул).

Также методы диагностики сифилиса разделяют на трепонемные и нетрепонемные.

К нетрепонемным тестам относятся:

- реакция микропреципитации (РМП) с плазмой и инактивированной сывороткой или ее аналога;
- RPR (РПР) – тест быстрых плазменных реагинов (Rapid Plasma Reagins), или экспресс-тест на реагины плазмы;
- VDRL – Venereal Disease Research Laboratory test (тест Исследовательской лаборатории венерических заболеваний);
- TRUST – тест с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой (Toluidin Red Unheated Serum Test);
- RST – тест на скрининг реагинов (Reagin Screen Test);
- USR – тест на реагины с непрогретой сывороткой (Unheated Serum Reagins).



В нетрепонемных тестах используется антиген нетрепонемного происхождения (стандартизованный кардиолипидный антиген), при этом положительными данные тесты становятся через 1–2 недели после образования первичной сифиломы, также нетрепонемные тесты имеют умеренную чувствительность (до 70–90% при ранних формах сифилиса и до 30% – при поздних) и могут давать ложноположительные результаты за счет неспецифической реакции.

К преимуществам нетрепонемных тестов можно отнести низкую стоимость, техническую простоту выполнения, а также быстроту получения результатов.

К трепонемным тестам относятся:

- ИФА – высокочувствительный и специфичный тест. Чувствительность при первичном и вторичном сифилисе – 98–100%, специфичность – 96–100%. Дает возможность дифференцированного или суммарного определения IgM и IgG антител к возбудителю сифилиса;
- иммуноблоттинг является модификацией ИФА. Чувствительность и специфичность – 98–100%. Может применяться для подтверждения диагноза, в особенности при сомнительных или противоречивых результатах других трепонемных тестов.

Относительно новыми для использования в Российской Федерации являются методы выявления трепонемоспецифических антител, основанные на методах иммунохемилюминесценции (ИХЛ) и иммунохроматографии (ИХГ).

Метод ИХЛ, обладающий высокой чувствительностью и специфичностью (98–100%), дает возможность количественного определения уровня антител к возбудите-

лю сифилиса и может быть использован для подтверждения сифилитической инфекции и скрининга.

ПБТ (простые быстрые тесты у постели больного, или иммунохроматографические тесты) позволяют проводить быстрое определение содержания трепонемоспецифических антител к возбудителю сифилиса в образцах сыворотки и цельной крови без использования специального лабораторного оборудования и применяться при оказании первичной медико-санитарной помощи, в том числе по эпидемиологическим показаниям. Ограничения применения: не могут быть использованы для контроля эффективности терапии, могут давать ложноположительный результат.

РПГА (реакция пассивной гемагглютинации) – умеренно чувствительный и высокоспецифичный тест. Чувствительность при первичном сифилисе – 76%, при вторичном – 100%, при скрытом – 94–97%, специфичность – 98–100%.

РИФ (реакция иммунофлуоресценции, в том числе в модификациях РИФабс и РИФ200) – умеренно чувствительна на всех стадиях сифилиса (чувствительность при первичном сифилисе – 70–100%, при вторичном и позднем – 96–100%), специфичность – 94–100%. РИФ применяется для дифференциации скрытых форм сифилиса и ложноположительных результатов исследований на сифилис.

РИБТ (РИТ) (реакция иммобилизации бледных трепонем) – классический тест для выявления специфических трепонемных антител; чувствительность (суммарно по стадиям сифилиса) составляет 87,7%; специфичность – 100%. Трудоемкий и сложный для постановки тест, требующий значительных средств для проведения тестирования. Сфера применения

РИБТ сужается, однако она сохраняет свои позиции как «реакция-арбитр» при дифференциальной диагностике скрытых форм сифилиса с ложноположительными результатами серологических реакций на сифилис.

В трепонемных тестах применяются антигены трепонемного происхождения, при этом чувствительность данных тестов лежит в диапазоне от 70 до 100% (в зависимости от вида теста и стадии сифилиса), при этом специфичность составляет 94–100%. Важно отметить, что тесты РИФ, ИФА, иммуноблоттинг (ИБ) и ИХЛ становятся положительными с 3-й недели от момента заражения и ранее, РПГА и РИБТ – с 7–8-й.

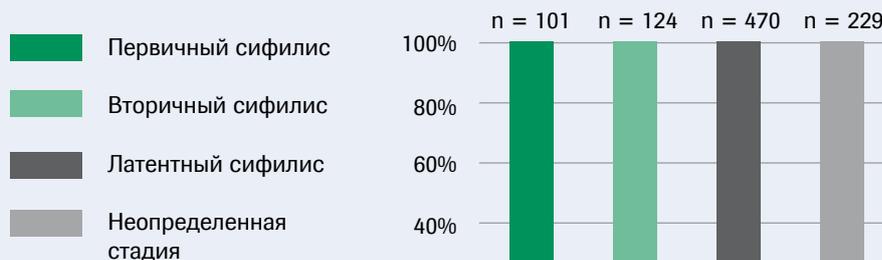
К преимуществам трепонемных тестов можно отнести их относительно высокую чувствительность и специфичность¹.

(Адаптировано из Федеральных клинических рекомендаций по ведению больных сифилисом Российского общества дерматовенерологов и косметологов, 2013 г.)

Тест Elecsys® Syphilis от Рош

Во втором квартале 2017 года в Министерстве здравоохранения Российской Федерации был зарегистрирован иммунохимический тест на общие антитела к *T. pallidum* Elecsys® Syphilis. Данный тест дополняет меню тестов Рош для диагностики инфекционных заболеваний. Тест Elecsys®

100% выявление положительных образцов на всех стадиях инфекции



Syphilis основан на методе электрохемилюминисценции с использованием сэндвич-принципа и одновременно детектирует в образце специфические к *T. pallidum* иммуноглобулины классов G и M. Трепонемные антитела в процессе постановки теста связываются со смесью рекомбинантных антигенов TrN15, TrN17 и TrN47.

Отличительной особенностью данного теста является сочетание 100-процентной чувствительности с очень высоким (99,88%) значением специфичности¹¹.

К преимуществам теста можно отнести следующие характеристики:

Экономическая эффективность

Высокая специфичность сокращает количество повторных тестирований.

Калибраторы входят в состав набора реагентов.

Малый объем образца

Для выполнения теста используется всего 10 мкл сыворотки или плазмы.

Быстрота получения результата

Время до получения результата составляет всего 18 минут.

Четкая интерпретация результата

Однозначная граница между положительным и отрицательным результатом без «серой зоны».

Автор статьи:

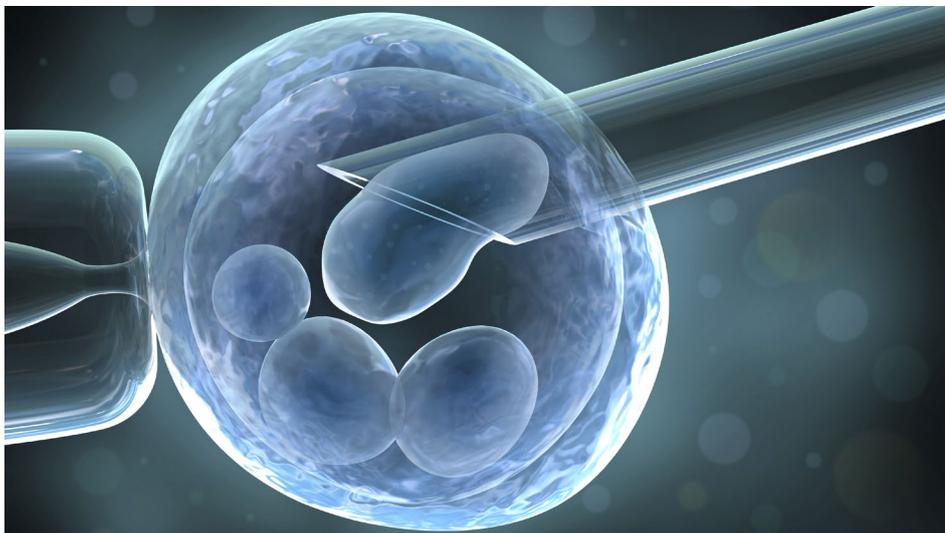
Н.В. Коробан
Менеджер по продукции
ООО «Рош Диагностика Рус»

Данная статья была напечатана в журнале «Современная медицина», выпуск №3, 2017.

Литература

1. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. 2013.
2. Тихонова Л.И., Сафарова Э.А., Салахов Э.Р. Масштаб распространения, определяющие факторы и последствия врожденного сифилиса в Российской Федерации: результаты оценки в пяти регионах. Вестник дерматологии и венерологии. 2006. № 4. С.41–43.
3. Кубанова А.А. Развитие российской дерматовенерологии на современном этапе (по материалам доклада на IX Российском конгрессе дерматовенерологов). Вестник дерматологии и венерологии. 2005. № 6. С.1–11.
4. Кубанова А.А. Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. Вестник дерматологии и венерологии. 2010. № 5. С.4–22.
5. <http://www.rospotrebnadzor.ru>.
6. Иванова М.А., Шинский Г.Э., Мерзляков В.А., Никитина Л.С., Зельцер А.В., Шевченко А.Г. Клинико-эпидемиологические особенности сифилиса у детей в период последней эпидемии в России. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2006. №6. С. 69–72.
7. Gomez G., Kamb M., Newman L., Mark J., Broutet N., Hawkes S. Untreated maternal syphilis and adverse outcomes of pregnancy: a systematic review and meta-analysis. Bull World Health Organ. 2013. № 91(03). P. 217–226.
8. Le Chevalier de Prévaille M., Alessandri J., Traversier N., Cuillier F., Robin S., Ramful D. Evaluation of the management of pregnancies and infants at risk for congenital syphilis. J. Perinatol. 2017. № 37(02). P. 116–121.
9. Chicco A., Sparagna G. Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. Am J Physiol Cell Physiol. 2007. № 292 (1). P. 33–44.
10. Peeling R., Ye H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. Bull World Health Organ. 2004. № 82. P. 439–446.
11. Syphilis MCE Evaluation study.

Преимплантационная генетическая диагностика: вчера, сегодня, завтра



**Сделай первый шаг, и ты увидишь,
что все не так страшно.**

Луций Анней Сенека

Что такое ПГД?

Сегодня все чаще в различных клиниках, которые занимаются женским здоровьем и планированием семьи, можно встретить такую услугу, как «ПГД». Что же это такое? И нужна ли она женщинам?

Преимплантационная генетическая диагностика, или ПГД, – это диагностика различного рода генетических заболеваний у эмбрионов при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) перед непосредственной имплантацией одного из них в матку.

Что собой представляет процесс экстракорпорального оплодотворения? Вначале для ЭКО необходимо получить несколько яйцеклеток, чтобы впоследствии получить сразу несколько эмбрионов. Как известно, в норме у женщины за один менструальный цикл образуется одна яйцеклетка. Для получения нескольких нужно провести процедуру стимуляции. Обычно стимуляцию проводят сочетанием нескольких гормональных препаратов: фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), хорионического гонадотропина (ХГ) и агонистами или антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ). При этом дозировку и длительность приема подбирают индивидуально для каждой пациентки.

Созревание яйцеклеток диагностируют по росту фолликулов яичника методом УЗИ. При достижении главным фолликулом определенного размера (16–20 мм) с помощью пункции отбирают фолликулярную жидкость, в которой должны быть яйцеклетки или ооциты. Полученные таким образом ооциты отмывают и помещают в питательную среду в инкубатор до добавления сперматозоидов.

Для оплодотворения используют как свежие сперматозоиды (полученные в день пункции фолликулярной жидкости), так и замороженные, в случае если нет возможности получить их непосредственно перед оплодотворением. Далее сперматозоиды отмывают и после этого либо добавляют примерно 100–200 тыс. на одну яйцеклетку, через несколько часов после чего происходит образование эмбриона, либо, в случае плохого качества спермы, сперматозоид вводится непосредственно в яйцеклетку микрохирургическим путем.

После этого эмбрионы подращивают 2–6 дней и далее могут быть имплантированы будущей маме. Обычно подсаживают несколько эмбрионов для большей вероятности наступления беременности. Но при этом ЭКО не является 100-процентной гарантией того, что беременность наступит и родится здоровый ребенок.

Поэтому по определенным причинам рекомендуют проводить ПГД в процессе ЭКО.

ПГД значительно повышает вероятность удачной беременности, если до этого было несколько неудачных попыток ЭКО или «замерших» беременностей у женщины, а также в случае наличия генетических заболеваний у будущих родителей или в случае рождения ребенка с наследственной патологией. Помимо этого, проведение ПГД будет рекомендовано, если в паре возраст мужчины превышает 39 лет, а возраст женщины превышает 35 лет.

При этом важно отметить, что врач не может назначить проведение ПГД, он может только рекомендовать данную процедуру, а решение пара должна принять самостоятельно.

Что собой представляет ПГД? Это альтернативный способ пренатальной диагностики, который исключает риск прерывания беременности и значительно повышает возможность рождения ребенка без генетических патологий.

На первом этапе проводят забор нескольких клеток у эмбриона. Процедура осуществляется на 5–6 сутки его развития. Специальный лазер отсекает примерно 2–6 клеток трофобласта за несколько секунд, что не травмирует эмбрион. Далее клетки передаются на генетические тесты, а сами эмбрионы либо продолжают дальше инкубироваться в питательной среде, либо замораживаются до непосредственной процедуры оплодотворения¹.

Генетические отклонения, на которые проводят ПГД, делятся на две большие категории: хромосомные аномалии и моногенные заболевания.

К хромосомным аномалиям относятся либо изменение числа хромосом, либо структурное изменение внутри хромосомы, когда, например, один участок меняется с другим местами, что может привести к необратимым последствиям. Наиболее часто встречающиеся хромосомные аномалии – это трисомии по 21-й хромосоме (синдром Дауна), по 13-й хромосоме (синдром Патау), моносомия по X-хромосоме (синдром Шерешевского – Тёрнера), полисомия или мозаицизм по половым хромосомам (синдром Клайнфельтера), трисомия по 22-й хромосоме (синдром кошачьего глаза), отсутствие отцовской

копии участка 15-й хромосомы (синдром Прадера – Вилли) и т.д.

Моногенные заболевания – это заболевания, которые ассоциированы с мутациями только в одном из генов (например, муковисцидоз, болезнь Тея – Сакса, серповидноклеточная анемия, гемофилия А, миодистрофия Дюшена и т.п.).

В зависимости от типа генетических отклонений на сегодняшний день применяются различные методы диагностики. Но для более полного понимания того, как работает ПГД, вначале хотелось бы рассказать о том, как развивались методы преимплантационной диагностики.

История развития методов ПГД

Первая, так называемая преимплантационная генетическая диагностика была проведена еще до появления искусственного оплодотворения у женщин.

В 1967 году вышла статья Р. Эдвардса (*R.G. Edwards*) и Р. Гарднера (*R.L. Gardner*) об определении пола эмбрионов кроликов по наличию или отсутствию полового хроматина². Половой хроматин, или X-хроматин, представляет собой свернутую в плотную структуру одну из X-хромосом, которая не участвует в делении клетки и инактивируется, образуя сверхскрученное или, иными словами, гетерохроматиновое тельце в интерфазе. При этом чаще всего X-хроматин можно наблюдать с внутренней стороны ядерной оболочки в треугольной форме. Но также он встречается на ядрышке или в нуклеоплазме, и при этой локализации он обладает сферической формой и его гораздо сложнее детектировать³.

Р. Эдвардс и Р. Гарднер определяли пол по наличию треугольного или овального X-хроматина, с помощью флуоресцентной микроскопии. Из матки кроликов спустя 5 дней после зачатия извлекали бластоцисты и помещали их в среду со специализированным красителем *Euchrysin* 2 GNX, который позволяет окрашивать живые клетки. После окрашивания в микроскоп наблюдали монослой трофобластов, в ядрах которых и определяли наличие или отсутствие хроматина. В эксперимент было взято 48 бластоцистов, и в результате с помощью данного подхода правильно определить пол удалось только в 39 случаях, в 9 случаях пол был определен неверно. Процент ошибки составил порядка 19%, что говорит о том, что такой подход требует доработок для внедрения его в медицинскую практику. Также авторы отмечают,

что применение данного метода может быть мутагенным из-за влияния коротких волн на структуру ДНК, а связывание флуорохроме может нарушить клеточную функцию бластоцистов. Более предпочтительно использовать контрастно-фазовую микроскопию, в этом случае риск повреждения живых клеток снижается до минимума².

Преимплантационная генетическая диагностика у человека стала возможной лишь в начале 90-х годов, когда был достигнут достаточный технологический уровень экстракорпорального оплодотворения, а также разработана полимеразная цепная реакция (ПЦР), чувствительность которой позволяет анализировать любые изменения в ДНК у единичных клеток.

В 1989 году была проведена первая успешная попытка определения пола уже при помощи ПЦР-анализа бластомера, взятого у эмбриона на стадии дробления (6–10 бластомеров). Одна клетка была отобрана от каждого из 30 человеческих эмбрионов на третьи сутки после ЭКО. Далее была выделена ДНК, и методом ПЦР на специфичную повторяющуюся последовательность на Y-хромосоме были выявлены мужские эмбрионы. В 15 эмбрионах с нормальными двумя пронуклеусами пол определяли также путем гибридизации *in situ* с Y-специфическим зондом или флуоресцентным хромосомным окрашиванием для обнаружения метафазных Y-хромосом, которые образуются при делении клеток. Таким образом были подтверждены результаты ПЦР. Используемый подход, в отличие от гибридизации, позволяет определять пол эмбриона всего лишь по одной клетке, не нарушая дальнейшего развития эмбрионов, и при этом сам анализ можно проводить в течение одного дня, в отличие от гибридизации, где на диагностику требуется несколько дней и эмбрион при этом необходимо заморозить. Авторы работы считают, что метод ПЦР может быть применен для того, чтобы исключить рождение мальчика с рецессивным заболеванием, связанным с X-хромосомой⁴. Первые успешные роды после подобной процедуры у супружеских пар с риском по рецессивному X-специфичному заболеванию состоялись в 1990 году⁵.

В 1990 году также произведена диагностика моногенного заболевания до оплодотворения. Методика включала ПЦР-анализ полярных телец яйцеклетки⁶. У женщины, несущей гетерозиготную мутацию, было выделено 8 ооцитов. Из семи ооцитов было выделено по одному поляр-

ному тельцу. Полярные тельца образуются в процессе оогенеза в результате первого и второго мейотического деления. Они несут гаплоидный набор хромосом, соответственно, каждый ген в одной копии, и есть возможность определить только те ооциты, в которых отсутствует мутация. Далее из телец был выделен генетический материал, и методом ПЦР было определено наличие или отсутствие мутации. Система была разработана для определения дефицита генотипов серпина-1 типа Z и серпина-1 типа M для альфа-1-антитрипсина. Альфа-1-антитрипсин – белок, который вырабатывается печенью. Он помогает организму в инактивации ферментов, при этом основная его функция состоит в защите легких от эластазы – она производится нейтрофилами в ответ на повреждение и воспаления. Эластаза расщепляет белки, которые затем перерабатываются организмом и удаляются. Если ее активность не контролируется альфа-1-антитрипсином, она начинает разрушать ткани легких. Синтез альфа-1-трипсина регулируется двумя копиями гена серпина-1, т.е. каждая копия отвечает за образование половины альфа-1-антитрипсина. Если в копиях гена есть патогенные мутации, то нарушается регуляция синтеза белка альфа-1-трипсина. Две наиболее распространенные мутантные формы серпина-1 – S и Z. В случае если встречается норма M и мутантная копия Z или S, то содержание альфа-1-трипсина чуть ниже нормы, но при этом защитные функции организма сохраняются. Но при этом мутантная форма Z может передаваться по наследству. Самое тяжелое состояние, в котором образуется только до 10% альфа-1-трипсина, – это сочетание двух копий ZZ серпина-1⁷.

Авторы статьи применили метод ПЦР как раз для диагностики формы ZZ серпина-1, что приводит практически к нулевой концентрации альфа-1-антитрипсина. Из 7 ооцитов были извлечены полярные тельца, и затем 6 из них были оплодотворены. Далее был проведен успешный ПЦР-анализ для 5 телец. Одно из них показало форму M, два из них – форму Z, и еще два – гетерозиготу MZ из-за эффекта кроссинговера. Эмбрионы, из которых были извлечены тельца с формой Z, были трансплантированы женщине, но, к сожалению, беременность не наступила. Точность определения формы гена серпина-1 из выделенного полярного тельца было подтверждено ПЦР на неоплодотворенном ооците.

Первое рождение ребенка после преимплантационной ПЦР-диагностики моногенного заболевания (муковисцидоза) состоялось в 1992 году. Муковисцидоз – это наследственное заболевание, которое характеризуется поражением желез внутренней секреции и нарушениями функции дыхания. При этом у больных людей наблюдаются мутации в гене трансмембранного регулятора муковисцидоза. Алан Хендисайд (Handyside A.H.) с коллегами провели диагностику методом ПЦР гена трансмембранного регулятора муковисцидоза на наличие делеции трех нуклеотидов ($\Delta F508$). У трех женщин, носительниц данной мутации, были получены ооциты. После их оплодотворения на 3-й день из каждого из них были извлечены 1–2 клетки и проведена ПЦР. У одной из женщин удалось успешно оплодотворить только 2 ооцита, при этом анализ одного из них не дал никакого результата по техническим причинам, а во втором была диагностирована гомозиготная делеция ($\Delta F508$). У двух других женщин были выявлены эмбрионы, несущие гетерозиготную мутацию, гомозиготную мутацию, и эмбрионы без делеции. В результате женщинам подсадили здоровые эмбрионы, и у одной из них родилась девочка без делеции в гене трансмембранного регулятора муковисцидоза⁸.

В дальнейшем для определения пола эмбриона, а также хромосомных аномалий стали использовать метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Начиная с 2012 года метод FISH для определения хромосомных аномалий постепенно вытесняется методом сравнительной геномной гибридизации. Метод ПЦР остался незаменимым для диагностики моногенных заболеваний.

Современные методы ПГД и перспективы развития методов

На сегодняшний день в ПГД применяются два основных подхода для анализа хромосомных аномалий:

1. Метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) – анализ числовых нарушений трех, пяти или семи хромосом, чаще всего хромосом 13, 18, 21, X и Y.
2. Метод сравнительной геномной гибридизации на микрочипах, или сравнительный геномный скрининг (СГС). СГС позволяет протестировать все хромосомы одновременно. FISH – наиболее распространенный метод определения хромосомного стро-

ения эмбриона. В отличие от кариотипирования, его можно использовать на межфазных хромосомах, исследуя бластомеры, полярные тельца. При этом полученные клетки фиксируют на стеклах для микроскопии и гибридизуют с ДНК-зондами. Каждый из этих зондов комплементарен части хромосомы и помечен флуорохромом. После процедуры гибридизации, в случае образования гибридной молекулы ДНК-зонда и ДНК-мишени, на исследуемом цитогенетическом препарате можно наблюдать свечение специфических последовательностей ДНК на хромосомах или в ядрах при помощи флуоресцентного микроскопа.

Также используется двойной FISH, как наиболее эффективный метод определения пола эмбрионов человека и дополнительная возможность обнаруживать аномальное число копий хромосом, что не позволяет детектировать ПЦР⁹.

В настоящее время для разных участков всех хромосом разработана большая панель зондов, но так как существует ограниченное количество различных флуорохромов, то за один раз нельзя проанализировать все хромосомы на все известные аномалии.

Тип и количество зондов, которые используются в выборке, зависят от пациентов. Для определения пола (например, когда протокол ПЦР для данного X-связанного нарушения не подходит) зонды для хромосом X и Y наносят вместе с зондами для одной или нескольких аутосом в качестве внутреннего контроля FISH. Также могут быть добавлены дополнительные зонды для проверки анеуплоидий, особенно тех, при которых может быть жизнеспособная беременность (например, трисомия 21). Использование зондов для хромосом X, Y, 13, 14, 15, 16, 18, 21 и 22 позволило обнаружить до 70% анеуплоидий, которые были определены при спонтанных абортах.

Чтобы детектировать больше хромосом для одного эмбриона, можно провести до трех последовательных раундов FISH. В случае хромосомных перегруппировок следует выбирать конкретные комбинации зондов, которые фланкируют область, представляющую интерес.

Основной проблемой использования FISH для изучения хромосомной конституции эмбрионов является повышенная скорость мозаичности, наблюдаемая на стадии преимплантации эмбриона. Результатом метаанализа более 800 эмбри-

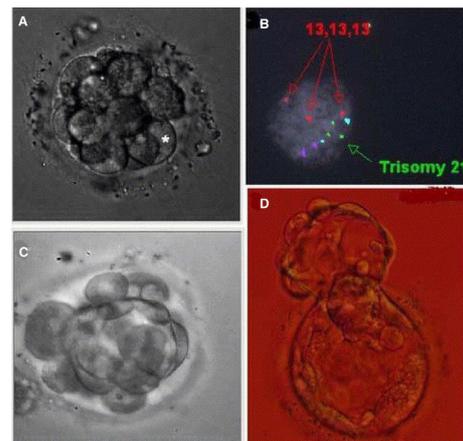


Рис. 1. (А) эмбрион на 3-й день развития (* показан бластомер, который был биопсирован на 3-й день). (В) Результат FISH 3-го дня, показывающий три красных сигнала (трисомия 13) и три зеленых сигнала (трисомия 21). (С) эмбрион на 4-й день. (D) эмбрион на 5-й день. Повторный анализ выявил, что ДНК эмбриона не содержит хромосомных перестроек.

онов стало то, что порядка 75% преимплантационных эмбрионов мозаичны, из которых примерно 60% составляют диплоидно-анеуплоидную мозаику и примерно 15% – анеуплоидную мозаику¹⁰. По данным работы Мань Ли (Man Li), 40% эмбрионов, диагностированных как анеуплоид на 3-й день, получило эуплоидную внутреннюю клеточную массу на 6-й день (рис. 1) (опционально). Как следствие, было поставлено под сомнение, действительно ли одна или две клетки, взятые из эмбриона на исследование, показывают истинную картину по всему эмбриону, а также достаточно ли использовать всего несколько зондов для определения мозаичности¹¹.

Кроме того, процесс фиксации одной клетки на стекле также достаточно сложен и требует большого опыта. К сожалению, частота ошибок среди разных лабораторий ПГД колеблется от 2–70%^{14,15} до 40–50%¹⁶, при частоте ошибок около 50% фактически снижаются скорости имплантации¹⁷.

Поэтому сейчас большей популярностью в ПГД пользуется другой метод, основанный на сравнительной геномной гибридизации. СГС был разработан для анализа различий вариаций количества копий (CNV) между двумя образцами ДНК и нашел свое применение в онкологии для выявления различных делеций и дупликаций в клетках опухолей по отношению к клеткам нормальной ткани.

Принцип метода основан на конкурентной флуоресценции *in situ*. Что это значит? ДНК из двух образцов, которые планирует-

ся сравнивать, метят двумя разными флуоресцентными красителями, обычно зеленым и красным. После этого их смешивают в соотношении 1:1 и проводят гибридизацию между ними. Далее по интенсивности и типу флуоресценции детектируется разница между отдельными участками хромосом. Так, например, преобладание одного цвета флуоресцентного красителя над другим в определенном регионе на хромосоме говорит либо о потере данного участка в одном из образцов, либо, наоборот, о его удвоении. Если цвет желтый (нейтральный), то это значит, что в данном регионе образцы генетически идентичны. Анализ проводится с помощью флуоресцентного микроскопа и специализированного программного обеспечения¹².

С помощью СГС возможно обнаруживать только несбалансированные хромосомные перестройки, т.е. те, которые приводят к увеличению или уменьшению генетического материала. Это связано с тем, что сбалансированные хромосомные перестройки, такие как взаимные транслокации, инверсии или кольцевые хромосомы, не влияют на количество копий, а СГС как раз и детектирует количество копий. При этом СГС позволяет исследовать все 46 человеческих хромосом за один раз и обнаруживать делеции и повторы, даже очень небольшие¹².

На сегодняшний день СГС применяется совместно с ДНК-микрочипами, что позволяет определять хромосомные аномалии с высоким разрешением и точностью. Два образца ДНК (исследуемый и референсный), меченные разными флуоресцентными красителями, наносят на чип, содержащий олигонуклеотиды на определенных участках ДНК, в которых могут быть аномалии. Далее, также по интенсивности и типу флуоресценции, определяется количество копий данного участка в исследуемом образце¹³.

На сегодняшний день СГС все чаще и чаще применяется в ПГД. Он позволяет анализировать одновременно сразу 23 хромосомы в клетках эмбриона и выявлять как все известные хромосомные аномалии, так и транслокации, такие как сбалансированные взаимные транслокации или транскрипции Робертсона, которые могут вызывать хромосомные дисбалансы у следующего поколения¹⁸.

Для анализа моногенных заболеваний также используют ряд методов.

Основной метод – это ПЦР в реальном времени. С помощью данного метода

определяют наличие или отсутствие мутаций, ассоциированных с тем или иным моногенным заболеванием.

Но ПЦР определяет только наличие известных и самых распространенных мутаций. К сожалению, в той или иной популяции людей за возникновение моногенного заболевания не всегда отвечают известные мутации. Помимо этого, использование ПЦР несет в себе опасность получить ложные результаты, а также контаминировать образец. Исходный материал для проведения ПЦР – это одна или две клетки, и, соответственно, количество молекул ДНК для начала ПЦР очень мало, поэтому для детекции того или иного гена используют повышенное число циклов ПЦР, что может привести к контаминации образцов ДНК извне. Поэтому очень важно использование стерильных боксов при работе с малым количеством генетического материала. Помимо этого, при ПЦР есть большая вероятность выпадения аллеля (dropout), т.е. при наличии двух аллелей (один с мутацией, другой – без) в процессе амплификации нарабатывается только один из них, в случае если мутация попала на место посадки праймеров. Таким образом, можно получить ложноотрицательный результат и использовать данный эмбрион (несущий мутацию) для имплантации. В таких случаях необходимо применять несколько разных пар праймеров на один и тот же участок, что удорожает анализ.

С развитием методов высокопроизводительного секвенирования стало возможно использовать таргетное секвенирование и, в частности, технологию NimbleGen SeqCap для поиска всех возможных, включая редкие, мутаций с высокой точностью и достоверностью даже из малых количеств ДНК¹⁹. Этот подход также постепенно находит свое применение в ПГД.

Одной из первых работ, где применяется таргетное секвенирование NimbleGen SeqCap, разработанной компанией Roche, стала работа Xiong Wen Ping²⁰. Было описано исследование пары, у которой родился ребенок с нарушениями слуха. Беременность была естественной, и родители до этого не сдавали анализ на генетические заболевания. Ребенка и родителей проверили на наличие мутаций в генах, ассоциированных со слуховыми заболеваниями GJB2, SLC26A4 и 12SrRNA. Из крови была выделена геномная ДНК, и методом мультиплексной нестед-ПЦР были получены фрагменты тандемных коротких повторов.

Далее они были секвенированы с помощью секвенатора на основе капиллярного электрофореза. В результате было диагностировано, что оба родителя являются носителями мутации 235delC/c.299-300delAT. У ребенка же она была в гомозиготной форме, что и вызвало тяжелое заболевание.

После этого паре, решившей родить второго ребенка, было назначено ЭКО с ПГД и дальнейшей неинвазивной пренатальной диагностикой. Из бластоцистов была выделена ДНК, и далее были секвенированы отдельные участки генома, которые могли нести мутацию. Анализ показал, что 5 из восьми полученных эмбрионов несли гомозиготную мутацию в гене GJB2, связанную с потерей слуха, а в трех из них мутация была гетерозиготной. В результате пара приняла решение пересадить один из трех эмбрионов. Это привело к успешной беременности. Далее на 13-й неделе ДНК из плазмы матери была протестирована с помощью таргетного секвенирования NimbleGen. Была создана панель зондов, комплементарных 164 тысяч пар нуклеотидов экзонов гена GJB2. Предварительно были получены ДНК из крови матери, отца и первого ребенка, которые также были взяты на анализ путем таргетного секвенирования. Полиморфизмы, найденные в образцах ДНК, выделенных из крови, послужили картой для создания гаплотипа, с которым потом сравнили ДНК из плазмы матери. В результате было показано, что в плазме содержался аллель, несущий мутацию 235delC/c.299-300delAT, а также аллель без мутации, что было подтверждено потом секвенированием по Сенгеру, который используется в качестве золотого стандарта.

Еще одним успешным примером использования таргетного секвенирования NimbleGen SeqCap стала работа Чень Сунчана (Song-Chang Chen)²⁰. Молекулярная диагностика аутосомно-доминантного поликистозного заболевания почек (ADPKD) основана на мутационном скрининге генов PKD1 и PKD2, который осложняется обширной гетерогенностью аллелей и наличием шести высокомолекулярных последовательностей PKD1. Высокая стоимость и длительное время обработки мутаций PKD1 и PKD2 с использованием традиционных методов ограничивают его широкое применение в клинических условиях.

Авторы работы создали панель зондов, в которую включили регионы, разделив их на три большие части. Первая часть включала области альтернативного

сплайсинга, а также регионы, связанные с наследственными заболеваниями. Эта группа как раз должна была определять мутации. Вторая часть была областью, содержащей 2000 единичных полиморфизмов. Полиморфизмы были получены из международной базы данных проектов 1000 геномов (International HapMap Project). Из-за большого числа полиморфизмов было возможно использовать эти SNP (single-nucleotide polymorphism) в качестве общих генетических маркеров для индивидуальной идентификации. Третья часть была специфичной для X- и Y-хромосом для идентификации пола.

В исследование было взято 10 образцов ДНК. Первый образец принадлежал мужчине, носителю гетерозиготной делеции с.595_595 + 14delGGTAAGAGCGCGCA в экзоне 1 гена PKD2. Второй образец ДНК был получен от его матери, также носительницы данной мутации. Третий образец был получен от жены мужчины, у которой данная мутация отсутствует. Остальные образцы ДНК относятся к 7 эмбрионам после ЭКО. Результаты анализа ДНК взрослых пациентов стали основой для создания гаплотипа, позволяющего отсеивать полиморфизмы и находить мутации в образцах ДНК эмбрионов в процессе ПГД.

Поскольку таргетный массив содержал тысячи SNP с широким распределением по геному, он хорошо подходил для анализа гаплотипов без необходимости скрининга генетических маркеров у разных людей в дальнейшем. Кроме того, авторы добавили X- и Y-хромосомные области в панель зондов для идентификации пола некоторых ассоциированных с X-генетическими заболеваниями. При этом было случайно обнаружено, что у эмбриона 6 не хватало X-хромосомы, что подтвердилось методом СГС. Анализ гаплотипов гена PKD2 показал, что эмбрионы 1, 2, 4 и 7 унаследовали гетерозиготный гаплотип отца, а вот эмбрионы 3, 5 и 6 содержали здоровый гомозиготный гаплотип.

К сожалению, прямое обнаружение мутации гена PKD2 с.595_595 + 14delGGTAAGAGCGCGCA методом таргетного секвенирования не удалось выполнить, потому что мутация была расположена в экзоне 1 с плохой эффективностью захвата зондами. Более того, результаты прямого обнаружения мутаций секвенированием по Сенгеру были несовместимы с гаплотипами эмбрионов 2 и 7. Поэтому очевидно, что применение высокопроизводительного секвенирования NGS для высококачественных SNP в PKD2 и в со-

четании с анализом гаплотипов более эффективно для ПГД.

На сегодняшний день существует достаточно большое количество подходов, которые применяются в ПГД. Какой именно подход использовать, зависит от задачи диагностики. Для исследования хромосомных аномалий применяется как FISH, так и СГС. Если же планируется диагностика моногенных заболеваний, то здесь используется как ПЦР, так и секвенирование. Причем применение таргетного секвенирования позволяет определять целые гаплотипы у эмбрионов, отличая тем самым здоровые эмбрионы от больных. При этом каждый из методов не дает 100-процентной гарантии того, что у женщины родится здоровый ребенок после оплодотворения выбранным эмбрионом. Все сегодняшние подходы имеют свою погрешность, которая в некоторых случаях может достигать 40%, однако благодаря применению ПГД значительно возросло количество успешных беременностей и рождений здоровых детей.

Автор статьи:

И.Ю. Карпова

Специалист по продукции

ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. <http://www.genetik-glinkina.ru/article1.shtml>.
2. Edwards R.G., Gardner R.L. Sexing of live rabbit blastocysts. *Nature*. 1967. Vol. 214. P. 576–577.
3. <http://meduniver.com/Medical/gistologia/652.html>.
4. Handyside A.H. et al. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet*. 1989. Vol. 1. № 8634. P. 347–349.
5. Handyside A.H. et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*. 1990. Vol. 344. № 6268. P. 768–770.
6. Verlinsky Y. et al. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Human Reproduction*. 1990. Vol. 5. № 7. P. 826–829.
7. <http://helix.ru/kb/item/06-078>.
8. Handyside A.H. et al. Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *New England Journal of Medicine*. 1992. Vol. 327. № 13. P. 905–909.
9. Griffin D.K. et al. Clinical experience with preimplantation diagnosis of sex by dual fluorescent in situ hybridization. *J. Assist. Reprod. Genet.* 1994. 11 (3). P. 132–143.
10. Van Echten-Arends et al. Chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos: A systematic review. *Human Reproduction Update*. 2011. Vol. 17. № 5. P. 620–627.
11. Li M. et al. Fluorescence in situ hybridization reanalysis of day-6 human blastocysts diagnosed with aneuploidy on day 3. *Fertil. Steril.* 2005. Vol. 84. № 5. P. 1395–400.
12. Weiss M. et al. Comparative genomic hybridization. *Molecular Pathology*. 1999. Vol. 52. P. 243–251.
13. Oostlander A.E. et al. Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet*. 2004. Vol. 66. P. 488–495.
14. Colls P. et al. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for infertility through reanalysis of dubious signals. *Fertil. Steril.* 2007. Vol. 88. P. 53–61.
15. Magli M.C. et al. Embryo morphology and development are dependent on the chromosome complement. *Fertil. Steril.* 2007. Vol. 87. P. 534–541.
16. Geraedts J. et al. Polar body array CGH can be achieved within 12 hours with an acceptable level of accuracy for prediction of the status of the corresponding oocyte. *Human Reprod.* 2011. Vol. 26. P. 3173–3180.
17. Baart E. et al. Fluorescence in-situ hybridization analysis of two blastomeres from day-3 frozen-thawed embryos followed by analysis of the remaining embryo on day-5. *Human Reprod.* 2004. Vol. 19. P. 685–693.
18. Mastenbroek S. et al. Preimplantation genetic screening: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Human Reproduction Update*. 2011. Vol. 17 №4. P. 454–466.
19. Карпова И.Ю. Таргетное секвенирование – новый путь к диагностике наследственных заболеваний. *Диагностика в диалоге*. 2016. №6. P. 26–28.
20. Song-Chang Ch. et al. Identification of PKD2 mutations in human preimplantation embryos in vitro using a combination of targeted next-generation sequencing and targeted haplotyping. *Sci Rep*. 2016. Vol. 6. P. 25488.

Диагностическая значимость тестов при скрининге беременных

Сомнительно, чтобы во всей вселенной было что-нибудь отраднее тех чувств, которые пробуждаются в сердце матери при виде крошечного башмачка ее ребенка.

В. Гюго

В настоящее время диагностике беременных женщин уделяется повышенное внимание, ведь физиологическое течение беременности очень важно для благоприятного прогноза здоровья будущего малыша. Многочисленные исследования показывают, что одной из основных причин развития перинатальной патологии является патологическое течение беременности. Осложнения гестации имеют многофакторную природу, а ведущая роль в наличии и формировании данных осложнений принадлежит экстрагенитальной патологии у матери. Именно поэтому в течение всей беременности следует контролировать состояние матери и проводить мониторинг ряда параметров, по которым можно своевременно выявить развитие патологии.

В соответствии с приказом Минздрава России от 01.11.2012 № 572н (ред. от 11.06.2015) «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)"» скрининговое ультразвуковое исследование в течение беременности проводится трехкратно: при сроках беременности 11–14 недель, 18–21 неделя и 30–34 недели¹.

При сроке беременности 11–14 недель женщину направляют в медицинскую организацию, осуществляющую экспертный уровень пренатальной диагностики (как правило, это женская консультация по месту жительства). В данном учреждении ей проводят комплексную дородовую диагностику нарушений развития ребенка, включающую ультразвуковое исследование (измерение толщины воротникового пространства) врачами-специалистами, прошедшими специальную подготовку и имеющими допуск к проведению ультразвукового скринингового обследования в I триместре, и определение материнских сывороточных маркеров: связанного с беременностью плазменного протеина А



(PAPP-A) и свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина, с последующим программным комплексным расчетом индивидуального риска рождения ребенка с хромосомной патологией. Использование данного подхода позволяет выявить 85–90% случаев синдрома Дауна уже в I триместре беременности (при этом количество ложноположительных результатов составляет около 5%).

Рассмотрим более подробно диагностические тест-системы, используемые для проведения скринингового обследования в I триместре беременности.

Ассоциированный с беременностью белок плазмы А (PAPP-A) – это гликопротеин, который впервые был выделен из плаценты. Этот белок выявляется в крови беременной женщины, так как синтезируется трофобластом в высокой концентрации. Считается, что данный белок обладает антипротеазной активностью и воздействует на секреторную активность клеток иммунной системы. В норме во время беременности концентрация данного анализита в крови должна повышаться. При пониженном содержании PAPP-A в крови беременной женщины снижена способность плазмы подавлять пролиферацию лимфоцитов. Снижение данного показателя связано с хромосомными аномалиями у эмбриона – именно поэтому данный тест используется в скрининговых целях в I триместре беременности. Наибольшее информативное значение ассоциированный с беременностью белок плазмы А имеет для выявления синдрома Дауна².

Не менее важным параметром является концентрация хорионического гонадотропина (ХГЧ), которая у небеременных женщин очень низкая. Максимальное значение данного показателя наблюдается в I триместре, около 8-й недели беременности (до 1–3% от всех производных ХГЧ), затем наблюдается постепенное снижение концентрации. Начиная с 15-й недели концентрация данного анализита практически не изменяется до конца беременности. В сыворотке беременных женщин содержится главным образом интактный ХГЧ, однако незначительные фракции α - и β -субъединиц циркулируют в кровотоке в несвязанной форме. По сравнению с интактным ХГЧ пропорция свободного β -ХГЧ в среднем составляет ~1%.

В настоящее время установлено, что концентрация β -ХГЧ в сыворотке является надежным маркером эмбриональной анеуплоидии^{2,5}.

Измерения с помощью тестов Elecsys free β HCG и Elecsys PAPP-A были произведены в 6 клинических центрах Бельгии, Швейцарии, Дании, Англии и Германии. С помощью анализа логарифмической линейной регрессии 4842 значений свободного β -ХГЧ были получены следующие значения медиан (с 8+0 по 14+0 недели беременности) для середины соответствующей недели беременности (неделя $n+3$) (табл. 1). Срок беременности определили с помощью ультразвукового исследования (УЗИ) по Robinson.

Более высокое содержание свободной β -субъединицы ХГЧ наблюдается в моче

беременной женщины, где оно достигает до 9% от всех производных данного показателя. При патологических отклонениях (в частности, при синдроме Дауна у плода) наблюдается увеличение концентрации данного анализатора. Оптимальным является совместное определение свободной β -субъединицы ХГЧ и PAPP-A. Результаты указанных выше тестов выражаются как отношение полученного значения к референсному значению медианы того же срока – МоМ (степень отклонения показателя от среднего значения). Выражение значений МоМ позволяет нормализовать результаты, полученные в разных лабораториях. Выбирая порог нормативных значений, лаборатория может регулировать частоту выявления ложноположительных и ложноотрицательных результатов. МоМ = концентрация маркера в сыворотке / значение медианы.

N (норма) = 0,5-2 МоМ.

Пороговое значение риска cut off составляет 1:250³. Это означает, что статистическая вероятность рождения ребенка с хромосомной патологией (синдром Дауна, синдром Эдвардса) составляет 1 случай из 250. Сравнение полученного результата с пороговым значением позволяет выделить женщин группы риска, для которых должны быть проведены дополнительные исследования. Для увеличения риска врожденной хромосомной патологии у плода характерно уменьшение цифры в знаменателе этой дроби (например, 1:50 или 1:100).

При этом не стоит забывать, что диагностическая значимость тест-систем является только вспомогательным компонентом для ультразвукового исследования, проводимого в I триместре. Толщина воротникового пространства (ТВП) в норме увеличивается во время беременности с увеличением копчико-теменного размера плода. Для каждого значения копчико-теменного размера плода величина ТВП представляет значение отношения правдоподобия, на которое необходимо умножить исходный риск, определенный на основании возраста матери и срока беременности, для установления нового индивидуального риска. Чем больше значение ТВП, тем больше величина отношения правдоподобия и, соответственно, выше новый индивидуальный риск. Напротив, чем меньше значение ТВП плода, тем меньше величина отношения правдоподобия и ниже новый индивидуальный риск (рис. 1)³.

Таблица 1. Оценка технических характеристик теста Elecsys free β hCG и теста Elecsys PAPP-A для определения риска трисомии 21 в первом триместре (исследование Roche № B05P020, статус на май 2011, и исследование Roche № CIM 000950, статус на май 2011)

Неделя беременности	8+0 до 8+6	9+0 до 9+6	10+0 до 10+6	11+0 до 11+6	12+0 до 12+6	13+0 до 13+6
Количество образцов	178	302	465	805	1557	1439
Значение в середине недели (МЕ/л)	70,7	75,5	57,3	42,8	34,5	29,5

Большинство хромосомных заболеваний сопровождаются увеличением ТВП при сроке 11–13+6 недель беременности. При трисомиях 21, 18 и 13 ультразвуковые проявления выражаются в увеличении ТВП примерно на 2,5 мм по сравнению с ее медианой для соответствующей величины копчико-теменного размера плода в норме (табл. 2). При синдроме Тернера, например, медиана ТВП примерно на 8 мм больше медианы ТВП для плодов при нормальном кариотипе.

В дополнение к увеличению ТВП при трисомии 21 у 60–70% плодов не визуализируются кости носа, у 25% плодов имеет место укорочение верхней челюсти и у 80% плодов при доплерометрии определяется патологический характер кривых скоростей кровотока в венозном протоке. Для трисомии 18 характерны ранние проявления замедления развития плода и тенденция к брадикардии, у 55% плодов – отсутствие визуализации костей носа и у 75% – единственная артерия пуповины.

При трисомии 13 у 70% плодов отмечается тахикардия, а также у 40% плодов может иметь место раннее выявление замедления развития плода, мегацистис, голопрозэнцефалия. При синдроме Тернера у 50% плодов отмечаются тахикардия и ранние проявления замедления развития плода.

При исследовании по типу «случай – контроль» в 11–13+6 недель беременности, включавшем 100 плодов при трисомии 21 и 400 плодов при нормальном кариотипе, была проведена оценка потенциальной эффективности скрининга трисомии 21 при комбинированной оценке ультразвуковых признаков – величины ТВП, наличия или отсутствия визуализации костей носа и значения концентрации маркеров PAPP-A и β -ХГЧ в сыворотке крови матери, и было установлено, что при частоте ложноположительных результатов 5% частота выявления трисомии 21 составляет около 97%².

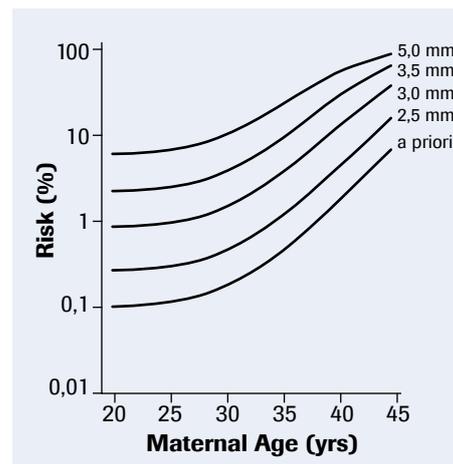


Рисунок 1. Риск трисомии 21 плода в 12 недель беременности в зависимости от возраста пациентки и различных величин ТВП

Таким образом, можно говорить о высокой вероятности выявления патологических отклонений у плода уже в I триместре беременности при комплексной оценке.

При сроке беременности 18–21 недель беременную женщину направляют в медицинскую организацию, осуществляющую пренатальную диагностику, в целях проведения УЗИ для исключения поздно манифестирующих врожденных аномалий развития плода. При ультразвуковом исследовании во втором триместре беременности, так же как и в первом, каждое хромосомное заболевание имеет специфические синдромальные признаки.

Важно отметить, что в соответствии с ред. приказа Минздрава России от 17.01.2014 № 25н во II триместре при поздней первой явке беременной женщины помимо УЗИ проводится дополнительное исследование маркеров альфа-фетопротеина (АФП) и β -субъединицы ХГЧ¹.

Определение АФП в сыворотке крови беременных в настоящее время рассматривается как основа скрининговых программ для обнаружения пороков развития плода во втором триместре беременности. При наличии у плода таких пороков, как дефект нервной трубки, гастрошизис, кре-

Таблица 2. Мультицентровое исследование, координированное Fetal Medicine Foundation. Частота выявления различных хромосомных нарушений у плодов пациенток группы повышенного риска (1 на 300 и более). Риск наличия у плода хромосомной патологии рассчитывался на основании возраста беременной женщины и измерения ТВП и КТР плода

Кариотип плода	Количество	ТВП ≥ 95 перцентили	Риск ≥ 1 на 300
Норма	95,476	4,209 (4,4%)	7,907 (8,3%)
Трисомия 21	326	234 (71,2%)	268 (82,2%)
Трисомия 18	119	89 (74,8%)	97 (81,5%)
Трисомия 13	46	33 (71,7%)	37 (80,4%)
Синдром Тернера	54	47 (87,0%)	48 (88%)
Триплоидия	32	19 (59,4%)	20 (62,5%)
Другие	64	41 (64,1%)	51 (79,7%)
Всего	96,127	4,767 (5,0%)	8,428 (8,8%)

цтово-копчиковая тератома, эмбриональная грыжа, отмечается резкое повышение концентрации АФП в крови матери. Концентрация АФП повышается также при угрозе прерывания беременности и гибели плода. Причинами повышения концентрации АФП в крови матери могут являться увеличенный синтез АФП у плода (крестцово-копчиковая тератома, эмбриональная грыжа), особенности маточно-плацентарного кровотока (повышение артериального давления у плода при угрозе прерывания беременности), особенности плодового гематопоэза при открытых пороках развития у плода (дефект нервной трубки и гастрошизис)⁴.

Считается, что при открытых пороках нервной трубки происходит просачивание белка из сосудистого русла плода в амниотическую жидкость через образовавшиеся дефекты, в результате чего уровень АФП в ней возрастает в несколько раз. Если повышен уровень АФП и имеется дефект нервной трубки, то риск возникновения этого же дефекта во время следующей беременности увеличивается в 5 раз, однако следует отметить, что 90% случаев этих пороков у плодов приходится на долю матерей, ранее не имевших детей с этой патологией. При беременности двойней уро-

вень АФП в средней в 2 раза выше, чем при беременности одним плодом. Повышение концентрации АФП более чем в три раза, кроме перечисленных выше состояний, также встречается при дефектах передней брюшной стенки, атрезии пищевода и/или двенадцатиперстной кишки и омфалоцеле, врожденном нефрозе (финский тип), поликистозе почек, агенезии почек, при повышенной экзогенности кишечника плода (по данным УЗИ). При простом буллезном эпидермолизе, когда поражена слизистая желудочно-кишечного тракта, уровень АФП значительно возрастает в амниотической жидкости⁶.

Биологический маркер АФП не является специфичным для синдрома Дауна, поскольку не все случаи этого заболевания у плода сопровождаются отклонениями уровня маркера. Точность диагностики синдрома Дауна повышается при динамическом контроле за уровнем АФП в сроках беременности от 15 до 20 недели. При беременности плодом без хромосомной патологии концентрация АФП в эти сроки увеличивается на 5 Е/мл в неделю. При наличии у плода синдрома Дауна увеличение концентрации АФП в крови матери будет значительно менее выражено⁷.

Таким образом, ни одна из комбинаций сывороточных маркеров, используемых для диагностики врожденной и наследственной патологии плода, не является абсолютно специфичной и чувствительной, поскольку на концентрацию маркеров могут влиять гормональные препараты, применяемые для сохранения беременности, особенности течения беременности и ряд других факторов⁸.

Помимо указанных маркеров, на протяжении всей беременности очень важными показателями у матери являются гормоны щитовидной железы. Для нормального развития плода, прежде всего на ранних этапах эмбриогенеза, необходим достаточный уровень тиреоидных гормонов. Поскольку во время беременности щитовидная железа оказывается под воздействием комплекса стимулирующих физиологических факторов, в случае ее поражения аутоиммунным процессом можно ожидать, что она не сможет ответить адекватным усилением синтеза тиреоидных гормонов. Ряд исследований демонстрируют, что в группе женщин с анти тиреоидными антителами имеется риск развития спонтанного аборта в I триместре беременности (табл. 3).

Таблица 3. Анти тиреоидные антитела и риск самопроизвольного выкидыша.

Распространение выкидышей (%)		Автор
Антитела ↑↑↑	Количество	
17%	8%	Stagnaro-Green A., 1990
13,3%	3,3%	Glinoe D., 1991
22%	5%	Lejeune B., 1993
7%	3,3%	Glinoe D., 1994
62%*	14%*	Pratt D.E., 1993
36%*	9%*	Bussen S., 1995

* – женщины, имевшие 3 и более выкидышей в I триместре.

По данным популяционных исследований, 2–2,5% беременных женщин имеют на ранних сроках повышенный уровень ТТГ. Манифестный гипотиреоз очень часто приводит к бесплодию. Если женщина с гипотиреозом беременеет, у нее имеется повышенный риск акушерских осложнений, включая внутриутробную смерть плода, гестоз, отслоение плаценты и др. Выраженный гипотиреоз у матери во время беременности ведет к тяжелым психоневрологическим нарушениям у плода⁹.

Это определяется тем, что материнские тиреоидные гормоны необходимы для развития плода на ранних сроках беременности, когда щитовидная железа плода еще не функционирует.

Таким образом, знание особенностей функционирования щитовидной железы во время беременности и использование современных лабораторных методов позволяют своевременно диагностировать и следить за лечением, а также прогнозировать особенности течения беременности у женщин с заболеваниями щитовидной железы¹⁰.

Подводя итог, хотелось бы обратить внимание, что только полное и своевременно выполненное проведение диагностических анализов и их грамотная интерпретация в значительной степени способствуют

снижению инвалидизации новорожденных, позволяют избежать развития тяжелых осложнений у беременных и своевременно решить вопрос об оптимальных сроках и способах родоразрешения.



Рисунок 2. Скрининг аутоиммунных тиреопатий и гипотиреоза при беременности

Автор статьи:

М.А. Жукова
Старший менеджер
по обучению клиентов
ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

1. Приказ Минздрава России от 01.11.2012 № 572н (ред. от 11.06.2015) «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».
2. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. Москва: РАМН, 2003. С. 125-137, 155-160.
3. Николаидес К. Ультразвуковое исследование в 11-13+6 недель беременности. Пер. с англ. А. Михайлова, Е. Некрасовой. Санкт-Петербург: ИД «Петрополис», 2007. 144 с.
4. Иванец Т.Ю., Алексеева М.Л., Екимов А.Н. и др. Некоторые биологические маркеры в акушерстве, перинатологии и неонатологии.
5. Алексеева М.Л., Екимова Е.В., Колодыко В.Г. и др. Хорионический гонадотропин. Структура, функция, диагностическая значимость. Проблемы репродукции. 2006. №3.
6. Palimaki G.E., Knight G.J., Neveux L.M. et al. Maternal serum invasive trophoblast antigen and first trimester Down syndrome screening. Clin Chem 2005, 51: 1499-504.
7. Abelev G.I. Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. Advanc Cancer Res 1971; 14:295-358.
8. Гитель Е.П., Фадеев В.В. Лабораторная диагностика и мониторинг заболеваний щитовидной железы во время беременности. Лаборатория. 2002. №2.
9. Weinans M.J., Sancken U., Pandian R. et al. Invasive trophoblast antigen (hyperglycosylated human chorionic gonadotropin) as a first-trimester serum marker for Down syndrome. Clin. Chem 2005; 51: 1276-9
10. Glinoe D. Trends Endocrinol Metabolism. 1988. Vol. 9. №10. 403-411.

Возможно ли прогнозировать развитие преэклампсии?

Обзор исследования PROGNOSIS

Тема диагностики и прогноза преэклампсии (ПЭ) не теряет своей актуальности на протяжении последних десятилетий. По данным ВОЗ, гипертензивные расстройства занимают 2-е место в структуре материнской смертности. В Российской Федерации частота артериальной гипертензии составляет 5–30% среди беременных. По данным Минздрава России, в течение последнего десятилетия гипертензивные осложнения при беременности занимают 4-е место в списке причин материнской смертности и составили в 2014 году 15,7% в структуре материнских потерь.

Компания Рош считает направление «Женское здоровье» одним из приоритетных для инвестиций в разработке новых тестов, а также клинических исследований. Одним из них стало исследование H. Zeisler и соавт., включившее 14 стран-участников, о прогнозировании преэклампсии в краткосрочной перспективе у беременных (исследование PROGNOSIS). В ходе данной работы было определено пороговое значение отношения sFlt-1:PIGF для исключения вероятности развития преэклампсии в течение 1-й недели после первого посещения, а также для определения риска дебюта данной патологии в течение 4 недель. Публикация исследования состоялась в 2016 году в Медицинском журнале Новой Англии (New England Journal of Medicine).

Но прежде чем перейти к обзору данного исследования, стоит немного подробнее остановиться на природе маркеров, описанных в нем. Проангиогенные факторы, как известно, представлены сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF) и фактором роста плаценты (PIGF), антиангиогенные – растворимым рецептором fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt1) и эндоглином (sEng). VEGF и PIGF стимулируют рост сосудов, которые принимают участие в формировании плацентарного кровообращения. Белок sFlt1 был предложен в 2003 году в качестве возможного фактора, повреждающего эндотелий при ПЭ. VEGF экспрессируется активированными эндотелиальными клетками при гипоксии, PIGF вырабатывается в плацентарной ткани и здоровых эндотелиальных клетках, при повреждении которых концентрация PIGF значительно увеличивается. ПЭ считается антиангиогенным состоянием, ассоциированным с избыточным попаданием белка sFlt1 в кровоток, который является антагонистом VEGF и PIGF. Избыток sFlt1 в материнском

кровотоке приводит к уменьшению уровня свободно циркулирующих VEGF и PIGF, что в дальнейшем снижает их благоприятные эффекты на эндотелий сосудов и проявляется гипертензией с протеинурией. Клинически установлено, что преэклампсия характеризуется низкой сывороточной концентрацией свободного PIGF, а также высокими концентрациями sFlt1 и sEng по сравнению с физиологически протекающей беременностью.

При изучении функционального состояния эндотелия сосудов у беременных с ПЭ отечественными авторами было выявлено достоверное снижение VEGF и PIGF, увеличение концентрации sFlt1 в 2–4 раза по сравнению со здоровыми беременными и нормализация данных показателей в течение 2–5 суток после родоразрешения. Изложенные выше данные также подтверждают феномен гестационной эндотелиальной дисфункции при ПЭ, который завершается после прекращения беременности. Необходимо отметить, что как при ранней, так и при поздней форме ПЭ изменяется уровень sFlt1 в сыворотке крови матери. В исследовании A.K. Wikstrom и соавт. было показано увеличение концентрации sFlt1 в 43 раза при ранней форме и в 3 раза – при поздней форме ПЭ по сравнению с физиологически протекающей беременностью. В настоящее время считается, что повышение уровня sFlt1 во II триместре достоверно коррелирует с развитием преэклампсии и данный белок является лучшим маркером развития ранней ПЭ. По данным H. Stepan и соавт., совместное определение sFlt1 и sEng в 13 и 20 недель беременности обладает высокой чувствительностью и специфичностью в отношении развития ранней ПЭ. В связи с приведенными выше данными исследование PROGNOSIS представляет большой интерес. В ходе исследования было уточнено, могут ли низкие отношения sFlt-1: PIGF (равные или ниже полученного предельного значения) прогнозировать отсутствие преэклампсии в течение 1 недели после первого посещения, а также могут ли высокие отношения (выше предельного значения) прогнозировать развитие преэклампсии в течение 4 недель.

На когорте, включившей 500 женщин, была определена пороговая точка отношения sFlt-1:PIGF, равная 38, как имеющая важное прогностическое значение. В последующем валидационном исследовании среди дополнительно обследованных 550 женщин было подтверждено, что отношение sFlt-1:PIGF \leq 38 имело отри-

цательное прогностическое значение (то есть отсутствие преэклампсии в течение последующей недели) в 99,3% (95% доверительный интервал [ДИ], от 97,9 до 99,9%) с чувствительностью 80,0% (95% ДИ, от 51,9 до 95,7%) и специфичностью 78,3% (95% ДИ, от 74,6 до 81,7%). Положительное прогностическое значение отношения sFlt-1:PIGF выше 38 для диагноза «преэклампсия» в течение 4 недель составило 36,7% (95% ДИ, от 28,4 до 45,7%) с чувствительностью 66,2% (95% ДИ, от 54,0 до 77,0%) и специфичностью 83,1% (95% ДИ, от 79,4 до 86,3%), что подтвердило диагностическую ценность предложенной пороговой точки.

Диагностическими критериями преэклампсии на сегодняшний момент являются протеинурия и повышенные цифры артериального давления, но ее клинические проявления изменчивы. Существует очевидная потребность в надежном и объективном прогностическом факторе преэклампсии (в частности, ее отсутствия) в краткосрочной перспективе у женщин с подозрением на данное осложнение беременности. Ряд пациенток часто госпитализируют до момента, пока заболевание и связанные с ним нежелательные последствия не будут исключены. В то же время другие пациентки, которым действительно необходима госпитализация, бывают упущены. Хотя профилактическая или терапевтическая стратегия все еще отсутствует, за исключением приема низкой дозы ацетилсалициловой кислоты, которая обладает умеренным профилактическим действием при беременностях высокого риска после I триместра, клинический опыт свидетельствует, что раннее обнаружение и мониторинг приносят пользу.

В исследовании был проведен анализ полученных результатов для определения связи между отношениями sFlt-1:PIGF и общими осложнениями (преэклампсия, эклампсия или HELLP-синдром, а также нежелательные последствия для матери или плода) в течение 1 и 4 недель после момента первого определения ангиогенных факторов. Дополнительно сравнивалось значение клинических данных в отдельности (результаты экспресс-пробы с импрегнированным субстратом на протеинурию и измерений кровяного давления) со значением клинических данных в сочетании с отношением sFlt-1:PIGF с точки зрения прогнозирования преэклампсии.

Прогностические модели были получены на основе пороговых точек sFlt-1:PIGF и срока беременности. Для каждого прогноза приме-

нялось три модели (1-недельное исключение и 4-недельное определение): модель с одной пороговой точкой (независимо от срока беременности); модель с двумя пороговыми точками, одна для ранней стадии беременности (от 24 до 34 недель), а другая для поздней стадии (>34 недель); а также модель с пороговой точкой для каждой недели беременности. Применение одной пороговой точки 38 для всех сроков беременности и для обоих сроков (1-недельное исключение и 4-недельное определение) было признано простой и эффективной прогностической моделью.

В когорте подтверждения среднее отношение sFit-1:PIGF составило 87,8 и 59,4 для участников, у которых преэклампсия или HELLP-синдром развились в течение 1 недели и 4 недель соответственно, по сравнению с 8,0 и 6,3 среди участников, у которых данные заболевания не развились. Отрицательное прогностическое значение (отсутствие диагноза «преэклампсия», «эклампсия» или «HELLP-синдром» в течение 1 недели) 38 или ниже для отношения sFit-1:PIGF составило 99,3% (95% ДИ, от 97,9 до 99,9%), положительное прогностическое значение (диагноз «преэклампсия», «эклампсия» или «HELLP-синдром» в течение 4 недель) составило 36,7% (95% ДИ, от 28,4 до 45,7%).

Прогностическая эффективность sFit-1 и PIGF, использовавшихся по отдельности, не превышала прогностическую эффективность отношения sFit-1:PIGF. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что добавление отношения sFit-1:PIGF к протеинурии и показателям артериального давления улучшает прогнозирование преэклампсии (как исключение в течение 1 недели, так и определение в течение 4 недель).

Отношение sFit-1:PIGF 38 или ниже являлось прогностическим фактором отсутствия нежелательных последствий для плода в течение 1 недели (отрицательное прогностическое значение в когорте определения – 99,5% (95% ДИ, от 98,1 до 99,9%); отрицательное прогностическое значение в когорте подтверждения – 99,3% (95% ДИ, от 97,9 до 99,9%); отношение выше 38 являлось прогностическим фактором наличия данных последствий по прошествии 4 недель (положительное прогностическое значение в когорте определения – 37,2% (95% ДИ, от 28,6 до 46,4%); положительное прогностическое значение в когорте подтверждения – 47,5% (95% ДИ, от 38,4 до 56,8%). Отношение sFit-1:PIGF выше 38 также было связано с более ранним сроком родов.

Преэклампсия является одним из основных факторов, связанных с заболеваемостью и смертностью беременных, при этом лечение данного комплексного синдрома требует усовершенствования. Артериальная гипертензия и протеинурия имеют низкое прогностическое значение для преэклампсии и связанных с ней нежелательных последствий. Ангиогенные и антиангиогенные факторы, в свою очередь, имеют отношение к патофизиологии преэклампсии. В исследовании PROGNOSIS для исключения преэклампсии, эклампсии и HELLP-синдрома в течение 1 недели после определения отношения была подтверждена одна пороговая точка для отношения sFit-1:PIGF, независимо от срока беременности.

Способность точного исключения преэклампсии, эклампсии и HELLP-синдрома в течение 1 недели на основе отношения sFit-1:PIGF позволит снизить необоснованные госпитализации на фоне интенсивного амбулатор-

ного наблюдения. В клинической практике отрицательное прогностическое значение играет ключевую роль в обследовании пациента с подозрением на преэклампсию, поскольку невозможность выявления заболевания может иметь крайне неблагоприятные последствия для плода или матери. Наблюдаемое положительное прогностическое значение отношения sFit-1:PIGF составило 36,7%, что обосновывает его использование для прогнозирования по сравнению с клиническими переменными. Определение белка в моче и измерение артериального давления имеют положительное прогностическое значение, равное всего лишь 20%, в выявлении связанных с преэклампсией нежелательных последствий.

В заключение хочется отметить, что отношение sFit-1:PIGF продемонстрировало лучшую диагностическую эффективность, чем любые отдельные биомаркеры. В данном исследовании прогностическая эффективность sFit-1 и PIGF по отдельности не превышала прогностическую эффективность отношения sFit-1:PIGF. Пороговая точка отношения sFit-1:PIGF 38 или ниже также имеет значение в прогнозировании отсутствия преэклампсии или нежелательных последствий для матери или плода в течение 1 недели. В обеих когортах вместе, объединяющих 1050 участников, было выявлено только два нежелательных последствия для матери, оба у женщин, которые имели высокие отношения sFit-1:PIGF.

Автор статьи:

В.С. Аверкиева

Менеджер по продукции

ООО «Рош Диагностика Рус»

Литература

- Verlohren S., Stepan H., Dechend R. (2012). Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clin Sci*. 122(2), 43–52.
- Magee L.A., Pels A., Hewlewa M., Rey E., von Dadelszen P., on behalf of the Canadian Hypertensive Disorders of Pregnancy (HDP) Working Group (2014). Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Pregnancy Hypertension* 4 (2), 105–145.
- Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Yeo L., Romero R. (2014). Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat Rev Nephrol*. *JO* (8), 466–80.
- Meads C.A., Crossen J.S., Meher S. et al. (2008). Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. *Health Technol Assess*. 12 (6), iii–iv.
- Anderson U.D., Olson M.G., Kristensen K.H., Akerstrom B., & Hansson S.R. (2012) Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*. 33(suppl), 542–7.
- Shennan A.H., Redman C., Cooper C. & Milne F. (2012). Are most maternal deaths from pre-eclampsia avoidable? *Lancet*. 379 (9827), 1686–1687.
- Andraweera P.H., Dekker G.A., Roberts C.T. (2012). The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update* 18 (4), 436–57.
- Rana S., Karumanchi S.A., Lindheimer, M.D. (2014). Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in preeclampsia. *Hypertension* 53 (2), 198–202.
- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) (2008). Antenatal care-routine care for the healthy pregnant woman. *NICE clinical guideline* 62.2nd edition. London: RCOG Press.
- Milne F., Redman C., Walker J., Baker P., Bradley J., Cooper C. et al. (2005). The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. *flr Med J*. 30, 576–580.
- Rana S., Powe C.E., Salahuddin S., Verlohren S., Perschel F.H. et al. (2012). Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*, 225(7), 911–919.
- Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Korzeniewski S.J., Yeo L., Romero R. (2014). Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Naftev Nephrol*. 10 (9):531–40.
- Verlohren S., Herraiz I., Lapaire O., Schlembach D., Moertl M. et al. (2012). The sFit-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol*. 206, 58.e1–8.
- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) (2011). Hypertension in pregnancy. *NICE clinical guideline* 107, August 2010, revised reprint January 2011. London: RCOG Press.
- ACOG Task Force on Hypertension in Pregnancy (2013). Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 122,1122–1131.
- Williams D., Craft N. (2012). Preeclampsia. *Br Med J*. 345, e4437.
- Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Korzeniewski S.J., Yeo L., Romero R. (2014). Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Nat Rev Nephrol*. 10 (9), 531–540.
- Levine R.J., Maynard S.E., Qian C., Lim K.H., England L.J. et al. (2004). Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 350, 672–683.
- Garovic V.D. (2012). The role of angiogenic factors in the prediction and diagnosis of preeclampsia superimposed on chronic hypertension. *Hypertension*. 59,555–557.
- Gomez-Arriaga P.I., Herraiz I., Lopez-Jimenez E.A., Escobedo D., Denk B., Galindo A. (2014). Uterine artery Doppler and sFit-1/PIGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 43 (5), 525–32.



Прогресс в ведении беременных при подозрении на преэклампсию при использовании соотношения sFlt-1/PlGF с помощью тестов Elecsys®

С целью поиска высокочувствительных и специфичных маркеров преэклампсии был исследован широкий спектр биологических соединений в сыворотке крови. В результате этих исследований установлено, что высокочувствительными и специфичными прогностическими показателями преэклампсии являются маркеры ангиогенеза плацентарный фактор роста (**PlGF**) и растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (**sFlt-1**), являющаяся вариантом рецептора фактора роста эндотелия сосудов.

Не пропустите диагноз «преэклампсия»

Для врачей очень важно правильно диагностировать преэклампсию...

- ... заболевание, **клиническая картина которого не всегда ясна**
- ... заболевание, **развитие которого сложно прогнозировать**
- ... заболевание, **своевременная диагностика которого может иметь решающее значение как для матери, так и для плода**

Соотношение sFlt-1/PlGF позволит **своевременно определить группы риска и дифференциально диагностировать** данное заболевание



COBAS и LIFE NEEDS ANSWERS являются товарными знаками группы компаний Рош.
ООО «Рош Диагностика Рус»:
Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2, бизнес-центр «Вивальди Плаза».
Тел.: +7 495 229-69-99, Факс: +7 495 229-62-64;
www.roche.ru | www.rochediagnostics.ru
© 2017 ООО «Рош Диагностика Рус»

cobas®

Life needs answers



Иммунохимический тест на сифилис Elecsys® Syphilis

Качественный тест на суммарные антитела
к *T. pallidum* в сыворотке и плазме человека

Преимущества теста

Выявление общих антител к *T. pallidum*

- Выявление IgG- и IgM-антител к антигенам TrN15, TrN17 и TrN47

Высокая чувствительность и специфичность

- Минимизирован риск ложноотрицательных результатов

Экономическая эффективность

- Высокая специфичность сокращает количество повторных тестов
- Калибраторы входят в состав набора реагентов

Четкая интерпретация результата

- Однозначная граница между положительным и отрицательным результатом без «серой зоны»

**Малый
объем образца**



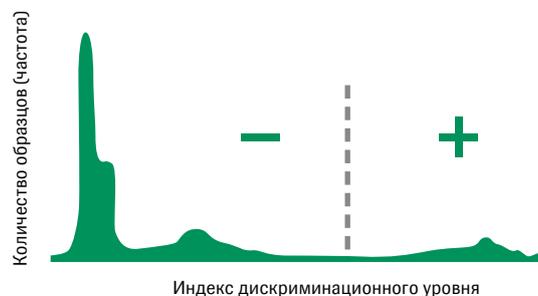
10 мкл

**Быстрое получение
результата**



18 мин
Elecsys®
Syphilis

**Однозначная
интерпретация**



COBAS и LIFE NEEDS ANSWERS являются товарными знаками компании Рош.

ООО «Рош Диагностика Рус»:
Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2, бизнес-центр «Вивальди Плаза».
Тел.: +7 495 229-69-99. Факс: +7 495 229-62-64;
www.roche.ru | www.rochediagnostics.ru
© 2017 ООО «Рош Диагностика Рус»

cobas®

Life needs answers

МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛИСТОВ