



№1 (48) март 2014

Главный редактор:

Эмануэль В. А., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор

научно-практического журнала
«Клинико-лабораторный консилиум»:

Ковальчук Ю. П., к. м. н.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Ответственный секретарь:

Джавлах Е. С.

Адрес редакции:

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

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

ejvcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

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

Свидетельство о регистрации:

ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

**ГОУ ВПО «СПб Государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
Федерального агентства
по здравоохранению
и социальному развитию»**

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

Журнал издается при поддержке

ООО «АкваТест СПб»

Решением Методического Совета

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

Подготовка к печати и печать:

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

Санкт-Петербург,
Новочеркасский пр., д. 58

Тираж 2000 экз.

Заказ № 314



КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Уважаемые коллеги!

Коренные преобразования в клинической медицине, обусловленные принципиальными, подчас революционными достижениями медицинской науки, особенно ярко заметны в области кардиологии. Еще недавно такие распространенные осложнения атеросклероза, как инфаркт миокарда или инсульт, длительно лечились в терапевтических или неврологических стационарах, и это скорее напоминало паллиативную помощь. Не менее грозными являлись и нарушения ритма.

Сейчас эффективность лечения этих распространенных заболеваний принципиально изменилась в связи с внедрением кардиохирургических и нейрохирургических технологий. Достижения фармакоиндустрии позволяют существенно изменять метаболические процессы, снижая активность атеросклеротического процесса, предотвращая тромботические осложнения.

Современные медицинские технологии требуют безукоризненного представления о состоянии органов и систем, специфике метаболических процессов, которые предоставляют инструментальные и лабораторные методы диагностики.

Глубина познаний в каждой из медицинских специальностей все в большей степени разобщает специалистов различных направлений, что, однако, компенсируется слаженным, комплексным, командным подходом к лечению каждого конкретного пациента. Иначе говоря, успех деятельности такой команды зависит не только от искусства каждого из специалистов, но и от слаженности междисциплинарного «оркестра».

Лабораторная диагностика является примером интегрирующего звена клинической медицины и во многом определяет эффективность врачебного искусства воздействия на патологический процесс, предоставляя клиницисту объективные критерии диагностики заболеваний на клеточном, молекулярном уровне.

Представляя читателям журнала современную информацию о метаболических процессах на клеточном, молекулярном уровне, редакция одновременно знакомит с реальными возможностями их регистрации лабораторными технологиями и клиническими рекомендациями по реализации в лечебно-диагностическом процессе.

В этих условиях клинико-лабораторный консилиум становится критерием эрудиции всех его участников.

Директор Федерального медицинского
исследовательского Центра имени В. А. Алмазова,
Президент Российского кардиологического общества,
академик РАН, профессор

Е. В. Шлякто

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

- | | |
|---|---|
| Антонова И.Н.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Кишкун А.А.,
д. м. н., профессор, Заслуженный врач РФ,
Российская ассоциация медицинской лабораторной
диагностики, Москва |
| Афанасьев Б.В.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Ларионова В.И.,
д. м. н., профессор, в. н. с. ФГБУ «НИДОИ
им. Г.И. Турнера» Минздрава России |
| Вавилова Т.В.,
д. м. н., СЗГМУ им. И. И. Мечникова, СПб | Лиознов Д.А.,
д. м. н., ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Власов Т.Д.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Матвеев С.В.,
д. м. н., профессор, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Жлоба А.А.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Смирнов А.В.,
д. м. н., профессор, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Звартау Э.Э.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Сухоруков В.С.,
д. м. н., профессор,
НИЛ общей патологии
НИИ педиатрии и детской хирургии РАМН (Москва) |
| Зыбина Н.Н.,
д. б. н., профессор,
ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС
(Санкт-Петербург) | Хоровская Л.А.,
д. м. н., ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Зуева Е.Е.,
д. м. н., ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | Чухловин А.Б.,
д. м. н., ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Карпищенко А.И.,
д. м. н., профессор, СПб ГУЗ МИАЦ | Эмануэль В.А.,
д. м. н., профессор, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| | Ягмуров О.Д.,
д. м. н., профессор, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |

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

- | | |
|--|---|
| Айламазян Э.А.,
академик РАМН, д. м. н., профессор, з. д. н. РФ,
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН (Санкт-Петербург) | Сапрыгин Д.Б.,
д. м. н., профессор, РМАПО (Москва) |
| Дидур М.Д.,
д. м. н., профессор, ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН
(Санкт-Петербург) | Соколовский Е.В.,
д. м. н., профессор,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова |
| Дубина М.В.,
член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор,
СПбФТНОЦ РАН | Стивен Хау Ян Вонг,
Ph. D., DABCC (TC), FACS,
председатель секции протеомики
и молекулярной патологии AACCC (США) |
| Дюк В.А.,
д. т. н., профессор, СПИИРАН (Санкт-Петербург) | Бринкманн Т.,
адъюнкт-профессор клинической биохимии
медицинского факультета
Университета Рура в Бохуме (Германия) |
| Каллер Андерс,
д. м. н., профессор, Каролинский госпиталь
(Стокгольм, Швеция) | Цыган В.Н.,
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАЕН,
ВМА им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург) |
| Мазуров В.И.,
академик РАМН, д. м. н., профессор, з. д. н. РФ,
СЗГМУ имени И. И. Мечникова (Санкт-Петербург) | Шляхто Е.В.,
академик РАМН, д. м. н., профессор, з. д. н. РФ,
ФГУ «Федеральный центр сердца, крови
и эндокринологии им. В.А. Алмазова»
(Санкт-Петербург) |
| Петришев Н.Н.,
д. м. н., профессор, академик МАНВШ,
академик РАЕН, з. д. н. РФ,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова | |

Содержание

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ ЖУРНАЛА «КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ»	2
В.Н. Титов КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ. ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА	4
В. В. Вельков ПЕРИОПЕРАЦИОННЫЕ ИНФАРКТЫ МИОКАРДА ПРИ НЕКАРДИАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ: ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ТРОПОНИНОВ И НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ	38
А.Г. Рахманова, З.Н. Лисицина РОЛЬ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ В ДИАГНОСТИКЕ, ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ И ЛЕЧЕНИЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ	54
С.В. Артюхов, А.В. Маляра ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИХ ЛЕЧЕНИЕ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ	59
Резникова О. И. ПРОКАЛЬЦИТОНИН И ПРЕСЕПСИН КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЕПТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ (ТЕЗИСЫ)	68
Т.В. Пархоменко, Н.Б. Михайлова, Б.В. Афанасьев, О.В. Галибин, В.В. Томсон ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПО ИЗМЕНЕНИЮ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕЧЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ЗОНДА ИОДИД 2- [П ДИМЕТИЛАМИНО) СТИРИЛ] –1-МЕТИЛПИРИДИНИЯ	69
К.Г. Косякова МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФЕКТАНТАМ И АНТИСЕПТИКАМ	75

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

В.Н. ТИТОВ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ключевые слова: липопротеины, филогенез, функции.

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

V.N. TITOV

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Keywords: lipoproteins, phylogenesis, functions.

Данные для корреспонденции

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

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ

ПЕРЕНОС В МЕЖКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЕ, ПАССИВНОЕ И АКТИВНОЕ ПОГЛОЩЕНИЕ КЛЕТКАМИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. ЛИПОПРОТЕИНЫ ВЫСОКОЙ, НИЗКОЙ И ОЧЕНЬ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ В ФИЛОГЕНЕЗЕ

Основная биологическая роль системы липопротеинов (ЛП), в том числе и ранних, в филогенезе ЛП высокой плотности (ЛПВП) состоит в переносе и поглощении клетками экзогенных и эндогенно синтезированных жирных кислот (ЖК). Они являются субстратом для: а) построения клеточных мембран; б) синтеза биологически активных, филогенетически ранних гуморальных медиаторов эйкозаноидов, включая простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, липоксины и резольвины, и в) наработки клетками энергии, синтеза АТФ.

ХС — не жир; это циклический, вторичный, одноатомный, гидрофобный спирт; роль его, как и спирта глицерина (ГЦ), состоит в том, что, реагируя ковалентно, он превращает полярные ЖК в неполярную форму эфиров глицеридов или эфиров холестерина (ЭХС). Трехатомный спирт ГЦ формирует глицериды (полярные моно- и диглицериды (ДГ) и неполярные триглицериды (ТГ)). ТГ — это неполярные формы насыщенных ЖК (НЖК), мононенасыщенных ЖК (МЖК) с одной двойной связью ($-C=C-$) и ненасыщенных ЖК (ННЖК) с двумя и тремя двойными связями (ДС). Неполярную форму полиеновых ЖК (ПНЖК) с четырьмя—шести ДС в цепи атомов С формирует иной спирт — ХС.

Весь спирт ХС в апоВ-48 ХМ, апоВ-100 ЛП низкой (ЛПНП) и ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП) — это, главным образом, материал для образования неполярных форм ЖК. Это также полярный монослой из фосфолипидов (ФЛ) + ХС, в который «завернута» вся масса ТГ, которые в ЛПОНП и ЛПНП связывает апоВ-100. В отличие от ЛПОНП, в ЛПНП спирт холестерин (ХС) упаковывает каждую полярную молекулу ПНЖК отдельно; он превращает ее в неполярные полиеновые эфиры спирта ХС (поли-ЭХС). В ЛПНП количество ПНЖК, которые они переносят к клеткам, эквивалентно содержанию поли-ЭХС; сколько молекул поли-ЭХС содержат ЛПНП, столько же ПНЖК они переносят к клеткам. Для синтеза клеткой молекулы ХС необходимо более 10 молекул уксусной кислоты и 14 АТФ. Для образования АТФ в митохондриях необходимо окислять ЖК, которые ЛП переносят к клеткам. Поэтому прежде чем обсуждать перенос спирта ХС от клеток, надо разобраться, каким образом клетки получают все необходимое для синтеза ХС, оценить становление функции ЛПВП в филогенезе, в переносе и поглощении клетками ЖК. Желательно детально разобраться: а) в биологическом смысле термина «эфиры холестерина», понять биологическое различие моно-ЭХС и поли-ЭХС;

б) с какими целями белок, переносящий эфиры холестерина (БПЭХ), инициирует переход поли-ЭХС по пути ЛПВП → ЛПНП; это поли-ЭХС или моно-ХС; и в) является ли это: 1. переходом моно-ЭХ и этапом оттока от клеток спирта ХС, или 2. этот переход — этап переноса к клеткам ПНЖК в неполярной форме поли-ЭХС.

Эфиры холестерина — продукты этерификации спирта и кислоты в химии и биологии

В реакции между спиртом и кислотой образуется ковалентная эфирная связь ($-C-O-C-$) и происходит освобождение молекулы воды. В химии принято считать, что при взаимодействии спирт + кислота (реакция этерификации) спирт этерифицирует кислоту. Поэтому все продукты реакции этерификации называют эфирами по имени спирта: а) ТГ, ДГ и МГ — эфиры спирта ГЦ, ПНЖК же, этерифицированные со спиртом ХС, — эфиры спирта ХС, поли-ЭХС. Так принято в химии; в биологии же эфиры ХС различают на основании их функции в биологических реакциях и физиологических процессах. Липиды — это ЖК и все соединения, в состав которых входят ЖК. С позиций биологии, ХС — полярный спирт; олеат холестерина — это неполярная форма спирта ХС, моно-ЭХС; в то же время холестероларахидонат — это неполярная форма арахидоновой (Арахидонової) ПНЖК, поли-ЭХС. Если ХС — это спирт, то олеат холестерина и холестероларахидонат — это липиды; в составе их есть ЖК.

В филогенезе ЛПВП — самые ранние; они сотни миллионов лет реализуют *in vivo* одновременно два процесса: 1) перенос к клеткам ЖК (НЖК + МЖК + ННЖК + ПНЖК) в форме полярных ФЛ и ДГ и 2) отвоз от клеток синтезированного ими ХС. На ранних ступенях филогенеза происходит это в форме полярного ХС, а позже — в форме неполярного олеата ХС, моно-ЭХС. На более поздних ступенях филогенеза в структуре ЛПВП фермент лецитинхолестерин ацилтрансфераза (ЛХАТ) активизирует образование из полярного спирта ХС неполярной его формы — олеата ХС. В форме моно-ЭХС ХС более «удобно» упаковывать в ЛПВП и переносить к эритроцитам, а позже и к гепатоцитам. ХС функционирует в полярной форме неэтерифицированного стерола в монослое ФЛ в мембранах и в неполярной форме олеата ХС, моно-ЭХС, при переносе ХС к гепатоцитам. Синтезированный клетками ХС и образованный в ЛПВП олеат ХС апоА-I переносит к гепатоцитам. Клетки гидролизуют моно-ЭХС и используют стерол как субстрат для синтеза желчных кислот — активных эндогенных детергентов.

Становление в филогенезе переноса в липопротеинах и активного, рецепторного поглощения клетками ЖК

Через много лет после Р. Вирхова предложена филогенетическая теория общей патологии. Одним из трех основных положений ее является понимание последовательного, в течение сотен миллионов лет, становления на ступенях филогенеза каждой из биологических функций и биологических реакций. Согласно филогенетической теории общей патологии и нашим представлениям, система ЛП — перенос в гидрофильной, межклеточной среде гидрофобных ЖК и поглощение их клетками — прошла в филогенезе три функциональных последовательных этапа.

1. Синтез апоА-I, перенос всех ЖК в межклеточной среде в ЛПВП в форме полярных липидов (ФЛ и ДГ) и пассивное поглощение их клетками. Перенос от клеток к энтероцитам полярного спирта ХС и его экскреция.
2. Синтез изобелков апоВ-48 и апоВ-100, позже апоЕ, образование хиломикрон (ХМ), перенос ЖК в форме неполярных липидов (ТГ и ЭХС) и активное, рецепторное поглощение клетками ПНЖК вначале в ЛПНП, а позже и в составе ЛПВП. Отток от клеток спирта ХС в форме неполярных моно-ЭХС (олеата холестерина) и активированное поглощение их гепатоцитам в апоА-I+апоА-II ЛПВП при действии кассетных транспортеров.
3. Действие инсулина (ИНС), образование филогенетически поздних ЛПОНП и векторное, направленное, активное поглощение инсулинозависимыми клетками НЖК + МЖК в форме ТГ в ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза.

В филогенезе, у самых ранних одноклеточных *in vivo*, в паракринно регулируемых сообществах клеток, перенос субстратов для наработки энергии, для синтеза АТФ в митохондриях, проходил в форме гидрофильного ацетата (циклического диацетата) и, много позже, глюкозы. Для развития и совершенствования организмов в филогенезе пассивного поглощения клетками субстратов для наработки энергии (синтеза АТФ) становилось явно недостаточно. В филогенезе для окисления в митохондриях, синтеза АТФ и депонирования (запасания) субстратов наработки энергии, реализации биологической функции локомоции оптимальны НЖК + МЖК. 80% ЖК, которые ЛПОНП переносят к клеткам в форме ТГ, составляют пальмитиновая (Пальм) НЖК и олеиновая МЖК; переносят их пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП.

АпоА-I, формирование ЛПВП и пассивное поглощение клетками ЖК в форме полярных липидов

Формирование первого этапа становления в филогенезе функции ЛП началось с того, что первый стационарный апо — апоА-I стал связывать и переносить

к клеткам ЖК. Структуру и функцию сформированных ЛПВП можно оценить при рассмотрении их в плазме крови насекомых, в липофоринах — филогенетически ранних ЛПВП. На всех ступенях филогенеза, при выраженном различии физико-химических свойств НЖК + МЖК и ННЖК и ПНЖК, апо переносят их к клеткам, в конечном итоге, отдельно. АпоА-I формирует ЛПВП в цитозоле энтероцитов, связывая липидсвязывающими доменами преимущественно длинноцепочечных С16 и С18 ННЖК и более длинные ПНЖК в форме полярных липидов — ФЛ, эфиров со спиртом ГЦ.

Энтероциты формируют и секретируют в межклеточную среду ЛПВП; в силу низкой способности апоА-I связывать липиды в ЛПВП липидов (ФЛ и ДГ), по отношению к белку, всегда мало. В едином паракринном сообществе (энтероциты + жировые клетки рыхлой соединительной ткани, РСТ) происходит следующее: а) энтероциты этерифицируют НЖК + МЖК с ГЦ с образованием неполярных ТГ. В рамках единого паракринного сообщества синтезированные ТГ локально, по первичным лимфатическим протокам в одном сообществе клеток, достигают жировых клеток РСТ; они депонируют их в форме неполярных ТГ. В межклеточное же пространство жировые клетки РСТ секретируют НЖК + МЖК в форме полярных неэтерифицированных ЖК (НЭЖК); в межклеточной среде их связывает липидпереносящий белок альбумин.

Можно полагать, что на более поздних ступенях филогенеза: а) паракринное сообщество энтероциты + жировые клетки РСТ отдельно явились основой формирования *in vivo* тонкого кишечника и сальника; б) они, как и прежде, осуществляют поглощение и депонирование экзогенных НЖК + МЖК в форме неполярных ТГ. Вместе они поочередно в биологической функции трофологии реализуют биологическую реакцию экзотрофии после приема пищи и биологическую функцию эндотрофии в периоды ее отсутствия. И если депонирование НЖК, МЖК в жировых клетках происходит в форме неполярных ТГ, то в межклеточной среде перенос НЖК + МЖК происходит в полярных НЭЖК + альбумин. ЛПВП продолжают и в настоящее время переносить к клеткам ННЖК, как и ПНЖК, в полярных ФЛ и ДГ. Можно полагать, что уже на первом этапе переноса к клеткам в межклеточной среде ЖК в полярных липидах, при пассивном поглощении их в форме ассоциатов НЭЖК + альбумин, в сообществе энтероциты + сальник, по внутренним лимфатическим путям, перенос и депонирование НЖК + МЖК проходило в форме ТГ (рис. 1.1).

Можно полагать, что лимфатические сосуды, которые первоначально сформировались в паракринно регулируемых сообществах с целью единения функционально разных клеток, на более поздних ступенях филогенеза и при дальнейшем совершенствовании преобразовались в лимфатическую систему, которая задолго до системы кровообращения объединяла между собой

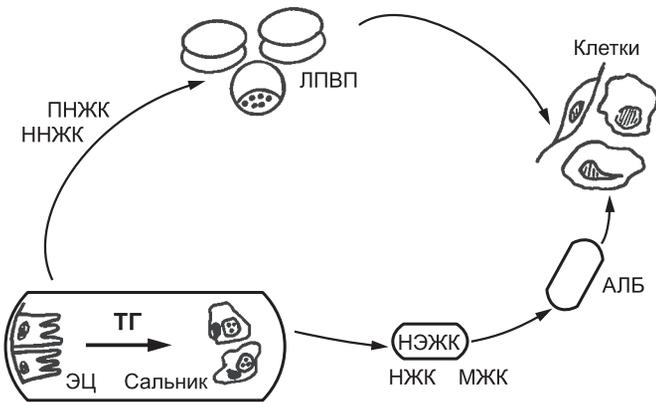


Рис. 1.1. Перенос НЖК+МЖК в неполярных ТГ в паракринном сообществе энтероциты + сальник; в межклеточной же среде в форме полярных НЭЖК + АЛБ. ННЖК + ПНЖК переносят к клеткам ЛПВП в полярных ФЛ

функционально ассоциированные паракринные сообщества. В филогенезе, можно полагать, формирование лимфатических путей и потока лимфы произошло: а) на ранних ступенях филогенеза в паракринных сообществах энтероциты + жировые клетки РСТ для переноса НЖК + МЖК в форме неполярных ТГ; б) на миллионы лет ранее и раздельно от в) незамкнутой и замкнутой системы кровообращения.

Формируя функцию в рамках паракринных сообществ, лимфатическая система позже функционально объединила паракринные сообщества клеток при образовании анатомически очерченных органов и систем органов, намного раньше системы кровообращения. Можно сказать, что прообразом лимфатической системы явились паракринное сообщество энтероциты + жировые клетки сальника и первый опыт физико-химически сложного, локального переноса НЖК + МЖК в неполярных ТГ. Вероятно, позже поток лимфы стал переносить гуморальные медиаторы и участвовать в паракринной регуляции вначале сообществ клеток, а далее органов и систем.

Если в рамках паракринного сообщества между энтероцитами (ЭЦ) и сальником лимфа переносит НЖК + МЖК в форме ТГ, жировые клетки сальника, НЖК + МЖК освобождают в кровотоке как полярные НЭЖК, которые связывает альбумин. Специфично молекула альбумина связывает две ЖК; существенно менее специфично — еще две НЖК или МЖК с длиной не более С18. С ранних ступеней филогенеза перенос и поглощение клетками НЖК+МЖК и ПНЖК проходят раздельно; на ранних ступенях филогенеза в крови циркулировали ННЖК + ПНЖК в полярных ФЛ в ЛПВП, а НЖК + МЖК — в форме полярных НЭЖК. Экзогенные НЖК + МЖК в ТГ, секретированных энтероцитами, запасают, в первую очередь, жировые клетки сальника. Когда же возможность депонировать экзогенные ЖК в РСТ заканчивается, ТГ из лимфатических путей изли-

ваются в кровотоке. Далее они оказываются в хиломикронах (ХМ), формирование которых происходит в крови; депонирование экзогенных НЖК + МЖК, в конце концов, происходит, главным образом, в адипоцитах — жировой подкожной клетчатке.

О функциональных особенностях ЛПВП можно сказать, что: а) при низком связывании апоА-I липидов ЛПВП переносят НЖК + МЖК — в полярных ДГ как эфирах спирта ГЦ; б) ЛПВП содержат лишь следовые количества неполярных ТГ; в) ЛПВП переносят ННЖК+ПНЖК в форме полярных ФЛ — фосфатидилхолина (ФХ) и аминофосфолипидов; г) все клетки поглощают их из ЛПВП только пассивно. Происходит это путем: а) переэтерификации ЖК с разным числом ДС между ФЛ в ЛПВП и наружным монослоем клеточной мембраны; б) встраивания полярных ДГ в наружный монослой ФЛ мембраны клеток во время в) соударения ЛПВП и клеток. На первом этапе функции ЛП, ЛПВП переносят к клеткам НЖК + МЖК + ННЖК в форме полярных ФЛ — эфиров с спиртом ГЦ. С ранних ступеней филогенеза ЛПВП исполняют и вторую функцию, обеспечивая отток от клеток полярного ХС.

Каждая из животных клеток, реализуя биологическую реакцию краткосрочной адаптации, синтезирует ХС *in situ de novo*; по окончании биологической реакции адаптации клетки выводят ХС в межклеточную среду. Растворимость полярного ХС в гидрофильной межклеточной среде не превышает 8 нмоль/л; однако полярный ХС может формировать гомо- и гетерогенные прямые липосомы. Из межклеточной среды апоА-I + ФЛ связывают и накапливают ХС в ЛПВП. Однако для структурирования большого количества полярного ХС между полярными ФЛ в ЛПВП места не столь много. На более поздних ступенях филогенеза в ЛПВП стала проходить этерификация ХС с образованием неполярной его формы — моно-ЭХС. Происходит это в реакции этерификации с эндогенной ω-9 С18:1 олеиновой МЖК. Активирует реакцию лецитинхолестерин ацилтрансфераза (ЛХАТ) и ее кофермент апоА-II; оба протеина — секреторные белки гепатоцитов (рис. 1.2). В форме олеата ХС накапливать моно-ЭХС в ЛПВП и переносить к гепатоцитам ХС стало «удобнее». Коферментом ЛХАТ является апоА-II; белок назван так потому, что выделили его из ЛПВП после апоА-I, т.е. вторым. В структуре же и функции они имеют мало общего; апоА-I — ранний в филогенезе стационарный апо, который формирует ЛПВП и их не покидает. Во вторичной структуре апоА-I формирует α-спиральные структуры, которые связывают полярные ФЛ и ДГ.

АпоА-II липиды не связывает, его структура и функция более схожа с апоС-II и апоС-III — кофакторами постгепариновой и печеночной ЛПЛ. Из ЛПВП клетки поглощают все ЖК (НЖК, МЖК, ННЖК и ПНЖК) пассивно. Столь же пассивно, путем эндоцитоза (пиноцитоза) вначале энтероциты, а позже в филогенезе гепатоциты поглощали из ЛПВП спирт ХС в форме моно-

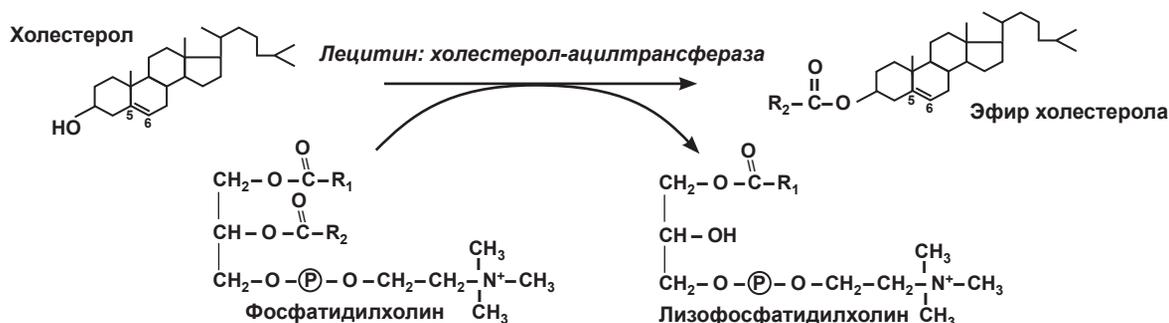


Рис. 1. 2. Превращение полярного спирта ХС в неполярную форму моно-ЭХС, олеата ХС в структуре ЛПВП

ЭХС, олеата ХС. Так в форме полярных липидов клетки миллионами лет поглощали все ЖК пассивно. Тем не менее, и пассивное поглощение клетками ЖК позволяло животным, к примеру, муравьям, реализовать физическую активность с высокой эффективностью. И все-таки на более поздних ступенях филогенеза переноса ЖК в межклеточной среде в форме полярных липидов и пассивного поглощения их клетками стало явно недостаточно. В течение следующих миллионов лет сформировалось активное, рецепторное поглощение клетками ЖК. Однако, как и при филогенетически ранних ЛПВП, новые ЛП разделяли переносили, а клетки по-прежнему разделяли поглощали НЖК + МЖК + ННЖК и ПНЖК; первые в эфирах со спиртом ГЦ, вторые — в поли-ЭХС со спиртом ХС.

Синтез апоВ-48, формирование в крови хиломикрон из структурированных в энтероцитах ТГ

Формирование второго этапа в переносе и поглощении клетками ЖК *in vivo* началось с синтеза нового апоВ, двух его изоформ апоВ-48 и апоВ-100. Мол. масса апоВ-48 — 48% от полипептида апоВ-100; молекула в 2 раза меньше; мол. масса самого же апоВ-100 — близка к 500 кДа. Если при жизни в водах мирового океана отношение в пище НЖК + МЖК и ННЖК + ПНЖК составляло $\approx 1:1$, то на более поздних ступенях филогенеза количество НЖК+МЖК становилось все большим. Как и на более ранних ступенях филогенеза, энтероциты этерифицируют существенно большее количество НЖК + МЖК + ННЖК со спиртом ГЦ — в ТГ. Неполярные ТГ поток лимфы переносит от энтероцитов к жировым клеткам РСТ в висцеральное жировое депо. Это определено тем, что энтероциты и жировые клетки РСТ сальника с ранних ступеней филогенеза — части единого паракринного сообщества клеток — энтероциты + сальник. Вместе энтероциты + жировые клетки сальника начали синтез неполярных липидов и запасание НЖК + МЖК в форме ТГ — эфиров спирта ГЦ.

Число жировых клеток сальника ограничено; в онтогенезе количество их не возрастает. Жировые клетки сальника и забрюшинной клетчатки не делятся, но могут подвергаться гипертрофии, увеличиваясь в несколько

раз; да и брюшная полость ограничена в объеме. Согласно принципу преемственности в биологии, единой технологии становления в филогенезе биологических реакций, все ТГ от энтероцитов оттекают с током лимфы к сальнику. Когда перегруженные жировые клетки висцеральной клетчатки уже не могут поглощать ТГ из лимфы, при избыточной секреции их энтероцитами, первичные структуры из ТГ фактически оказываются в крови. При этом лимфа переносит к клеткам первичные физико-химические комплексы из ТГ, которые сформировали энтероциты в канальцах эндоплазматической сети в форме структурированных «липидных капель» при действии микросомального белка, переносящего триглицериды (МБПТ).

На ранних ступенях филогенеза: а) этерификация энтероцитами ЖК в ТГ; б) перенос ТГ в потоке лимфы; в) поглощение ТГ жировыми клетками сальника; г) гидролиз ТГ и д) секреция в кровь НЖК + МЖК в полярных НЭЖК происходили на ранних ступенях филогенеза в рамках одного паракринного сообщества клеток. И только миллионами лет позже в филогенезе постепенно произошло разделение паракринно регулируемого сообщества энтероциты + жировые клетки РСТ на: а) тонкий кишечник и б) сальник, висцеральное, локальное депо жировых клеток РСТ; в) печень, которая является более поздним органом. На это указывает выраженное функциональное различие оседлых макрофагов Купфера и их филогенетических предшественников в иных органах. В отсутствии детергентов лимфа переносит не эмульсию ТГ, а физико-химически оформленные структуры из ТГ в том виде, в котором они сформировались в эндоплазматической сети. На основе филогенетической теории общей патологии и изложенного выше можно полагать, что: а) энтероциты не формируют и не секретируют ХМ; б) образование ХМ, более вероятно, происходит в крови в период постпрандиальной ГЛП. Апо, который формирует ХМ (суррогатные ЛП) из «липидных капель» ТГ в крови, является филогенетически новым апоВ-48.

АпоВ-48 — первый в филогенезе апо, который стал формировать в крови ЛП из секретированных энтероцитами «липидных капель», из ТГ. При электронной микроскопии ХМ напоминают тутовую ягоду (малину);

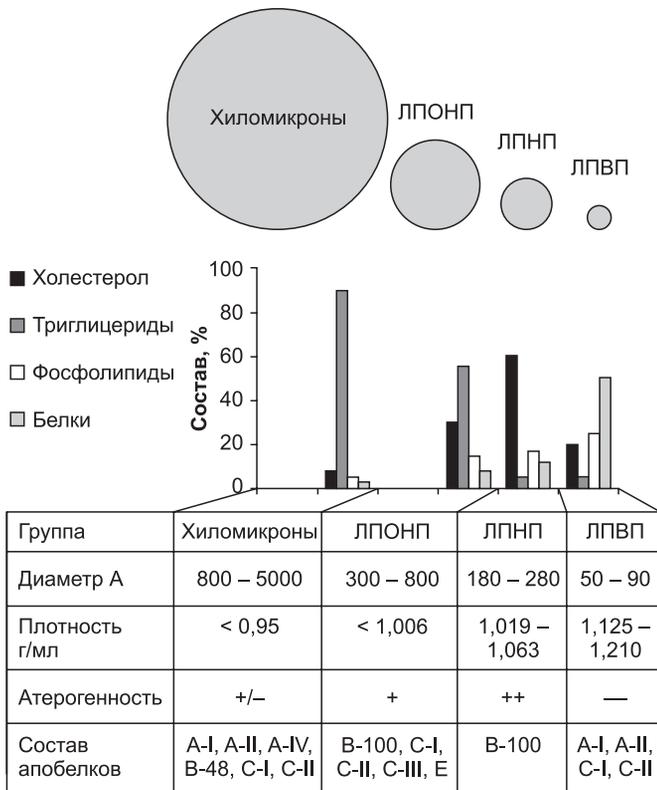


Рис. 1. 3. Большие ХМ в крови формирует апоВ-48 из комплексов ТГ, которые образует в энтероцитах МБПТ. Размеры ХМ и ЛП, которые формирует в цитозоле гепатоцитов апоВ-100 при связывании ТГ

ХМ очень большие при сравнении со всеми ЛП — липидпереносящими макромолекулами белка, которые клетки формируют в цитозоле физико-химически как бислой белок: липид. Столь большие размеры ХМ определены тем, что в местах связывания ТГ α -спиральными цепями апоВ-48 происходит ассоциация не молекул ТГ, а структур из ТГ, которые сформированы в эндоплазматической сети энтероцитов при действии МБПТ (рис. 1.3). Вначале, можно полагать, все клетки поглощали ХМ путем пассивного эндоцитоза с переносимыми НЖК + МЖК + ННЖК в форме неполярных ТГ, включая и явно афизиологические ЖК. Это не было желательным, поскольку энтероциты этерифицируют в ТГ и афизиологические ЖК пищи. Катаболизировать (метаболизировать) же афизиологические ЖК могут не все клетки.

Афизиологическими ЖК в пище приматов и человека являются: 1. ЖК с нечетным числом атомов углерода; 2. транс-формы МЖК; 3. конъюгированные ННЖК с необычным расположением ДС в цепи; 4. очень длинноцепочечные ЖК — С24 и более; 5. ЖК с более чем шестью ДС в цепи; 6. ЖК с разветвленной цепью атомов С; 7. ЖК с циклическими кольцами (пяти- и шестичленными) в цепи и 8. дикарбоновые ЖК. Не исключено, что в течение определенного времени поглощение клетками афизиологических ЖК, количество которых невелико, все-таки приводило к формированию афизиологического

липоидоза по типу аденолиподистрофии. Накопление в цитозоле ТГ, которые липазы цитозоля не могут гидролизовать, приводит к гибели клеток по типу апоптоза. На последующих ступенях филогенеза совершенствование системы ЛП произошло так, что ХМ стали поглощать только гепатоциты. При этом апоВ-48 стал тем апо, который сформировал ХМ из неполярных ТГ и стал участвовать в формировании кооперативного лиганда. В ХМ клетки (гепатоциты) впервые стали поглощать ЖК в неполярных эфирах НЖК, МЖК, ННЖК со спиртом ГЦ, в форме ТГ путем активного, рецепторного эндоцитоза.

АпоЕ, становление активного поглощения клетками ЖК в форме ТГ в хиломикронах

АпоВ-48 — половина молекулы апоВ-100; в первичной структуре ее нет домена, который может формировать лиганд. Поэтому на ступенях филогенеза в ЛП клетки впервые стали синтезировать новый апо, апоЕ. В отличие от более ранних апо, апоЕ в первичной структуре имеет специфичный домен, который предназначен, вероятно, для взаимодействия типа белок: белок, точнее апо: апо. Этим доменом апоЕ стал взаимодействовать с апоВ-48; вместе они сформировали кооперативный апоЕ/В-48 лиганд. Одновременно гепатоциты стали синтезировать и выставлять на плазматическую мембрану кооперативные апоЕ/В-48 рецепторы. Так, полагаем, произошло формирование в филогенезе активного, рецепторного поглощения гепатоцитами НЖК + МЖК + ННЖК в эфирах с ГЦ, в форме неполярных ТГ, в ХМ путем апоЕ/В-48 эндоцитоза.

Для того, чтобы апоВ-48 принял активную конформацию (пространственную, стерическую форму), сформировал и выставил на поверхность кооперативный апоЕ/В-48 лиганд, в ХМ из связи с апоВ-48 следует убрать избыточное количество ТГ; сделать это можно путем их гидролиза. Для этого клетки эндотелия синтезируют постгепариновую ЛПЛ, а гепатоциты — кофактор апоС-П. Гепарин участия в гидролизе ТГ не принимает; он только освобождает ЛПЛ в кровотоке; в отсутствие ХМ как субстрата липолиза фермент связывают цепи гликокаликса — гликозаминогликаны плазматической мембраны эндотелия. При гидролизе избытка ТГ и переходе полярных ДГ в ЛПВП апоВ-48 в ХМ принимает активную конформацию (пространственную, стерическую форму) и формирует кооперативный апоЕ/В-48 лиганд. Далее только гепатоциты поглощают лигандные ХМ путем апоЕ/В-48 эндоцитоза.

Нарушение гидролиза ТГ в ХМ происходит при: а) врожденном дефекте первичной структуры апоЕ (генотипы е 2/е 2, е 4/е 4 вместо физиологического е 3/е 3); б) нарушении первичной структуры постгепариновой ЛПЛ или в) мутации в апоС-П (рис. 1.4). При этом формируется первичная гиперхиломикронемия, ГЛП фенотипа I. При нарушении липолиза ТГ в крови накапливаются безлигандные (прелигандные) ХМ. При афи-

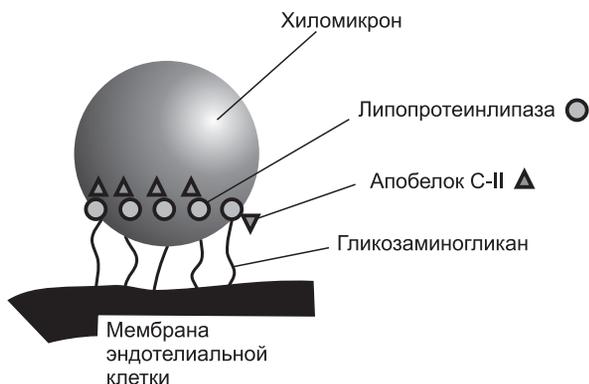


Рис. 1. 4. Фермент-субстратный комплекс, в котором постгепариновая ЛПЛ+ апоС-II гидролизуют ТГ, выставляя на поверхность ХМ апоЕ/В-48 лиганд. Полярные ДГ переходят в ЛПВП; НЭЖК – связывает АЛБ

зиологичных фенотипах апоЕ и низкой аффинности апоЕ/В-48 лиганд: рецептор в крови накапливаются пост-лигандные ХМ. И те и другие являются в крови «биологическим мусором», поглощают его оседлые макрофаги, в том числе и интимы артерий эластического и смешанного типов через сквенджер-рецепторы (рецепторы-мусорщики). Накопление ХМ и ЛПОНП макрофагами инициирует образование эруптивных ксантом на коже в разных частях тела. В филогенезе гепатоциты первыми стали активно, рецепторно поглощать ХМ, которые переносят НЖК, МЖК и ННЖК в ТГ.

После поглощения гепатоцитами ХМ липазы в цитозоле гидролизуют ТГ до НЭЖК и 2-моноацилглицерина; далее клетки оптимизируют экзогенные ЖК. Реализуют этот процесс органеллы цитозоля – пероксисомы. Используя реакции α -, β - и ω -окисления, органеллы утилизируют все афизиологичные ЖК пищи. Происходит это путем: а) укорочения цепей ЖК; б) насыщения ДС и в) превращения очень длинноцепочечных ЖК в более короткие, менее ненасыщенные ЖК. Если при оптимизации образуются ЖК, которые могут быть использованы как субстрат для окисления, белки, связывающие ЖК в цитозоле, переносят их в митохондрии и окисляют в цикле Кребса.

После оптимизации ЖК гепатоциты реэтерифицируют экзогенные и эндогенные ЖК со спиртом ГЦ и образуют пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ТГ. Связывая ТГ апоВ-100, вместе с МБПТ в гидрофильной межклеточной среде формирует новый класс ЛП – ЛПОНП. Предназначены они для переноса к клеткам в межклеточной среде больших количеств НЖК+МЖК+ННЖК в ТГ. Поскольку стерическая, пространственная форма ТГ выражено разная, апоВ-100 раздельно связывает пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ТГ, формируя четыре одноименных субкласса ЛПОНП. Все ЛПОНП сформированы апоВ-100 как бислоем белок: липид (рис. 1.5). Иных в биологии возможностей формировать ЛП – липидперено-

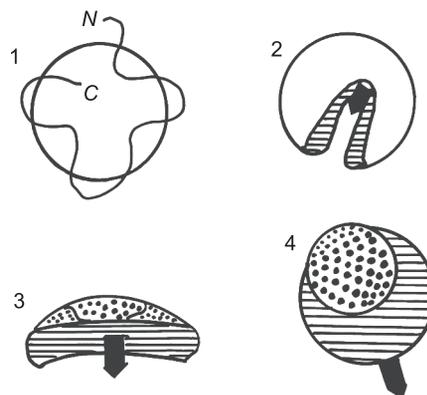


Рис. 1. 5. Абиологическая модель апоВ-100 ЛП в форме сферы из неполярных и полярных липидов – 1. Структура ЛПОНП с неактивным лигандом и большим количеством только ТГ – 2. ЛП промежуточной плотности – 3 и строение ЛПНП – 4. Штриховка – апоВ-100, мелкие точки – ТГ, крупные – поли-ЭХС. Черный – домен-лиганд

сящие макромолекулы белка нет. На ранних ступенях филогенеза, при жизни в водах третьего мирового океана при температуре +4 – +6 °С и невысоком уровне физической активности, отношение секретированных пальмитиновые + олеиновые ЛПОНП и линолевые + линоленовые ЛПОНП составляло $\approx 1 : 1$.

Все ЛПОНП, которые гепатоциты секретируют в кровотоки, не имеют на поверхности апоВ-100 домен-лиганда; перекрывает его физиологично избыточное количество ТГ. В крови при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II происходит гидролиз части ТГ. Когда количество ТГ в ассоциации с апоВ-100 становится оптимальным, апо принимает функциональную, активную конформацию и в ЛПОНП формируется апоВ-100 лиганд. Клетки, связывая его апоВ-100 рецепторами, активно поглощают ЛПОНП; поглотив ЛПОНП, клетка приобретает ≈ 3000 молекул ТГ или ≈ 9000 НЖК + МЖК. Это во много раз больше количества ЖК, которое на более ранних ступенях филогенеза клетки поглощали из ЛПВП путем пассивной диффузии в полярных формах ФЛ и ДГ. Так постепенно на ступенях филогенеза сформировалось активное, рецепторное поглощение клетками НЖК + МЖК как субстрата для: а) окисления в митохондриях (синтеза АТФ) и б) ННЖК для синтеза полярных ФЛ и построения клеточных мембран. Поглощение же клетками ПНЖК из ЛПВП длительное время оставалось пассивным.

Структура ЛПВП, синтез эфиров ХС, рецепторное поглощение клетками ПНЖК. Роль белка, переносящего эфиры холестерина

На последующих ступенях филогенеза, по мере развития организмов, пассивного поглощения клетками ПНЖК стало недостаточным. ПНЖК *in vivo* необходимы всем клеткам для: а) синтеза аминоФЛ и построения клеточных мембран, б) синтеза филогенетически ранних, биологически активных гуморальных медиаторов – эйкозаноидов. В sn-2 аминоФЛ с ГЦ этерифицированы

ω-6 C20:4 Арахиди, ω-3 C 20:5 эйкозапентаеновая (Эйкоза) или ω-3 C22:6 докозагексаеновая (Докоза). АминоФЛ (фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин) имеют заряд; в плазматической мембране они располагаются локально вокруг интегральных белков (рецептор, транспортер, ионный насос) и формируют менее гидрофобное микроокружение в выражено гидрофобном бислое мембраны из ФХ. В окружении аминоФЛ и большего количества воды интегральные белки имеют возможность свободно изменять функциональную, стерическую форму молекул. Оптимальное количество аминоФЛ вокруг интегрального белка повышает эффективность рецепторного взаимодействия, производительность (активность) интегральных белков мембраны, функцию транспортеров, а в сумме — функцию клеток.

При жизни в водах мировых океанов при низкой температуре окружающей среды биологически активные эйкозаноиды регулируют биологические функции адаптации, гомеостаза, трофологии и эндоэкологии на протяжении миллионов лет. Субстратом для синтеза является Эйкоза; Докоза — форма депонирования ПНЖК во внутриклеточных мембранах. При жизни в океане все животные и клетки используют Эйкоза для синтеза простагландинов, простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов, резольвинов и липоксинов. Многие биологические реакции в паракринных сообществах клеток регулируют наиболее активные эйкозаноиды группы 3. Синтезируют их клетки РСТ паракринных сообществ, используя в качестве субстратов ω-3 C20:5 Эйкоза; молекула эйкозаноидов третьей группы имеет три ДС.

Ни одна животная клетка не в силах синтезировать ПНЖК; все морские животные получают их с пищей, поедая красные, бурые водоросли или используя «пищевые цепи». После выхода на сушу, где растения не синтезируют ω-3 Эйкоза и Докоза, предшественником синтеза эйкозаноидов и аминоФЛ становится ω-6 C20:4 Арахиди; эйкозаноиды второй группы имеют в молекуле 2 ДС. По функциональной активности ω-6 эйкозаноиды группы 2 уступают ω-3 эйкозаноидам группы 3. При выходе на сушу животные стали синтезировать эйкозаноиды, количество ДС в которых стало меньше — две вместо трех. Это привело к снижению функциональной активности эйкозаноидов; такой ценой стала возможность акклиматизации (адаптации) морских животных к жизни на суше. Эйкозаноиды сохранили длину углеродной цепи, но стали менее насыщенными. Однако если клетка имеет возможность поглощать ω-3 Эйкоза, синтезировать эйкозаноиды группы 3, то, несмотря на наличие в цитозоле ω-6 Арахиди, происходит синтез эйкозаноидов только группы 3, но не группы 2. Со временем на ступенях филогенеза при становлении новых биологических функций, совершенствовании организмов пассивного поглощения ПНЖК из ЛПВП для клеток стало явно недостаточно.

Согласно методологическим подходам общей биологии, преемственности и единой технологии становле-

ния в филогенезе функциональных систем, активное поглощение клетками ПНЖК стало формироваться на основе того, что сделано ранее. Поскольку в филогенезе уже произошло формирование активного поглощения клетками НЖК + МЖК + ННЖК в ТГ в ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза, наиболее реальный путь — сделать то же и с ПНЖК. Однако для этого требуется перенести ПНЖК в форме поли-ЭХС из ЛПВП в ЛПНП. Такой переход физико-химически возможен, если в ЛПВП осуществить переэтерификацию ПНЖК из полярных ФЛ (эфиров со спиртом ГЦ) в неполярные поли-ЭХС. Это послужило началом формирования в филогенезе первого, активного поглощения клетками ПНЖК в ЛПНП, в эфирах со спиртом ХС (поли-ЭХС) путем апоВ-100 эндоцитоза.

Преставления о структуре ЛПВП мы сформировали не только на основе физико-химических параметров, но и с учетом функциональной роли. В первую очередь мы приняли во внимание биологический принцип единения структуры и функции, а также специфичную, многогранную роль ЛПВП в переносе и поглощении клетками ЖК. На ступенях филогенеза ЛПВП до начала переэтерификации в них ПНЖК реализовали две функции: а) перенос к клеткам на ранних ступенях филогенеза экзогенных ЖК (НЖК + МЖК + ННЖК + ПНЖК) в форме полярных липидов и б) отвоз от клеток ХС, вначале в форме полярного спирта, к энтероцитам для экскреции, а позже — в форме неполярного олеата ХС (моно-ЭХС) к гепатоцитам, используя спирт далее для синтеза желчных кислот.

Апо — белок со специфичной структурой; в гидрофильной среде, в контакте с гидрофобными липидами, принимает форму диска, одна сторона которого становится гидрофобной и связывает липиды; на гидрофильной стороне формируется домен-лиганд. Как и все ЛП, ЛПВП — это бислой белок: липид; в структуре апоА-I ЛПВП, полярные ФЛ располагаются, мы полагаем, на обеих сторонах диска. На гидрофобной стороне формируется монослой ФЛ, а на гидрофильной — бислой аминоФЛ. Сформированные и секретированные энтероцитами в кровь ЛПВП имеют форму диска. ЛПВП в форме полярного монослоя могут переносить только небольшое количество полярного ХС (конденсация ХС в монослой полярных ФЛ). В силу этого на гидрофобной стороне ЛПВП, при действии ЛХАТ, происходит этерификация ХС с эндогенной ω-9 C18:1 олеиновой МЖК с образованием неполярной формы моно-ХС, олеата ХС. Перенос от клеток ХС происходит в ЛПВП в неполярных моно-ЭХС; в ЛПВП они локализованы между гидрофобной стороной апоА-I и цепями ФХ (рис. 1.6).

Накопление неполярного ХС олеата изменяет форму ЛПВП; из дисковидных они становятся цилиндрическими. В гидрофильной среде, в стремлении иметь наименьшую площадь поверхности, цилиндрические ЛПВП приобретают форму псевдосфер. Если энтероциты включили в состав ЛПВП мало аминоФЛ и с обеих

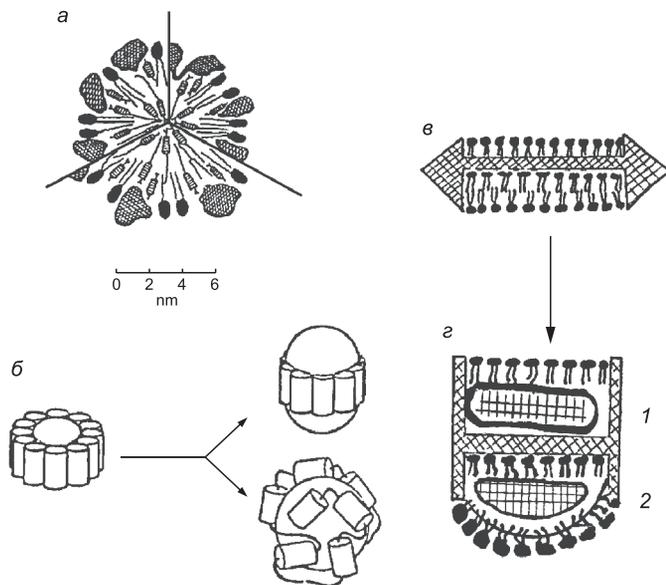


Рис. 1.6. Строение ЛПВП:

a — мицеллярная модель; *б* — бислоем ФЛ в окружении апоА-I и превращение диска в псевдосферу; *в* — бислоем, диск — белок: липид и иное превращение; *з* — дискообразного ЛПВП в гетерогенную псевдосферу 1 — локализация в ЛПВП отвозимого от клеток моно-ЭХС и 2 — расположение ПНЖК в форме поли-ЭХС

сторон апоА-I диска располагаются не имеющие заряда ФХ, ЛПВП в крови слипаются между собой, образуя «монетные столбики». Структуру ЛП (ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП) приходится познавать интеллектом; все физико-химические методы анализа позволяют получить ограниченную информацию. Поскольку плотность липидов для пучка электронов и γ -лучей равна плотности воды, изображение нативных ЛП при электронной микроскопии является сугубо ориентировочным; структуру ЛП приходится додумывать, и каждый автор делает это по-своему, субъективно. Трактровка же метода негативного контрастирования ЛП при электронной микроскопии приводит к ошибкам, от которых трудно избавиться десятилетиями.

Активное поглощения клетками ПНЖК начинается с переэтерификации их в ЛПВП из полярных эфиров с ГЦ (из аминокФЛ) в эфиры со спиртом ХС, в поли-ЭХС. Активирует реакцию, мы полагаем, аминокФЛ-холестерин ацилтрансфераза, возможно, это специфичная изоформа ЛХАТ. Проходит реакция переэтерификации на гидрофильной стороне аминокФЛ; при этом выражено гидрофобные эфиры ХС (поли-ЭХС) накапливаются между цепями ЖК двух слоев аминокФЛ. Следовательно, в ЛПВП при реализации двух биологических реакций происходит образование двух структурно и функционально разных ЭХС: а) олеат ХС, моно-ЭХС — неполярная форма ХС и поли-ЭХС — неполярная форма Арахидоноэпиксидов и Докоза ПНЖК. Поэтому выстраивать все физико-химически и функционально разные ЛПВП в одну последовательность превращения дисковидных форм

в цилиндрические (псевдосферические), как это делают авторы, оснований нет. Образование в ЛПНП моно- и поли-ЭХС — два функционально разных процесса; реально их следует рассматривать параллельно.

При рассмотрении ЛПВП, в которых происходит синтез и накопление моно-ЭХС (олеата ХС) и поли-ЭХС, структура и физико-химические свойства их разные. Образованные *in situ* моно-ЭХС локализованы между гидрофобной поверхностью апоА-I и цепями ЖК монослоя ФХ; они формируют гидрофобную, неполярную фазу в менее гидрофобном окружении из полярных ФХ. Поли-ЭХС (ПНЖК этерифицированные спиртом ХС) располагаются на противоположной стороне апоА-I диска в окружении цепей ЖК бислоя аминокФЛ. Безусловно, количество отвозимого от клеток ХС и стерола как «упаковочного материала» для ЖК в ЛПНП и ЛПОНП существенно больше, чем количество переносимых из ЛПВП в ЛПНП ПНЖК в форме поли-ЭХС. Более того, ЛПВП, которые гепатоциты поглощают путем «кассетных транспортеров», синтезированы гепатоцитами и филогенетически являются более поздними.

Можно полагать, что на ступенях филогенеза секреция и функция ЛПВП сформировались в два этапа. На первом — энтероциты формировали дисковидные апоА-I ЛПВП; они последовательно исполняли две функции: а) первая (прямая) — перенос к клеткам всех экзогенных ЖК в форме полярных липидов (ФЛ и ДГ) и б) обратная — перенос от клеток синтезированного ХС в форме полярного ХС к энтероцитам. Этот ранний этап оттока (реверсивного переноса) спирта ХС оставил после себя физиологичную экскрецию с калом полярного, неэтерифицированного стерола. ЛПВП почти без ПНЖК, но нагруженные полярным ХС, поглощали ранее не энтероциты, а клетки РСТ паракринного сообщества энтероциты + сальник. Используя сквенджер-рецепторы (рецепторы-«мусорщики»), макрофаги извлекают из апоА-I ЛПВП полярный спирт ХС и удаляют (экскретируют) его с калом. Так, более вероятно, функционирует ранняя популяция апоА-I ЛПВП, сформированная энтероцитами; происходило это на ранних ступенях филогенеза, когда печени как органа еще не было. На определенных ступенях филогенеза такого варианта отвоза от клеток синтезированного ими ХС становится явно недостаточно.

По завершении специализации клеток в паракринном сообществе гепатоцитов, при образовании печени как органа, функционально измененные ЛПВП стали отвозить от клеток ХС к печени. Согласно единой технологии становления в филогенезе функциональных систем, преемственности биологических функций и биологических реакций, гепатоциты при формировании специализированного, высокопроизводительного переноса от клеток ХС начали синтез функционально более совершенных ЛПВП. Гепатоциты усложнили функциональные свойства апоА-I+апоА-II ЛПВП в переносе ХС

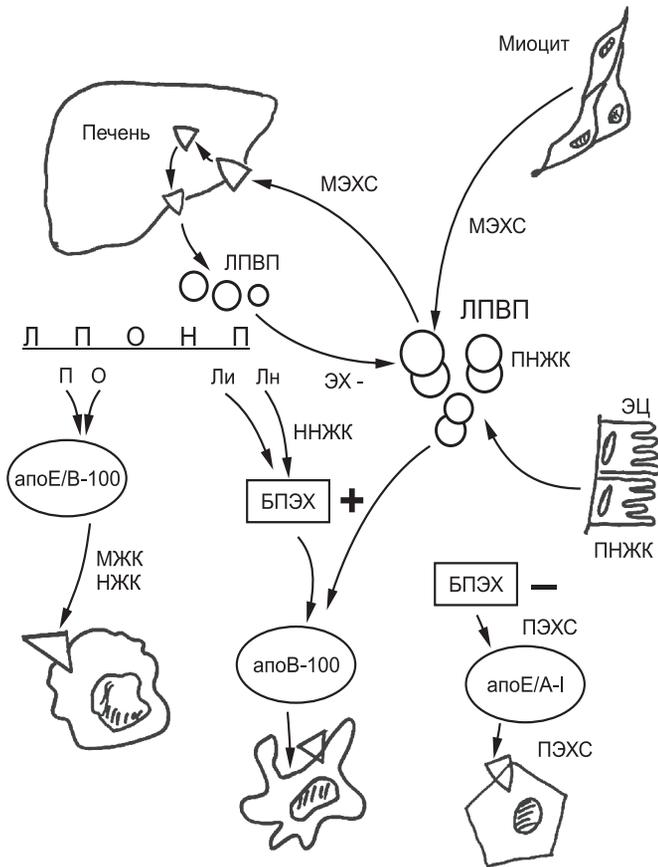


Рис. 1.7. Перенос ЛПВП к клеткам эссенциальных ПНЖК в поли-ЭХС; реверсивный перенос ХС в моно-ЭХС и функция «кассетных» транспортеров. Поглощение клетками НЖК + МЖК через apoE/A-I рецепторы в поли-ЭХС, ННЖК+ПНЖК через apoB-100 и ПНЖК чрез apoE/A-I рецепторы при низкой активности БПЭХ. ЭЦ — энтероциты

от клеток. После этого ЛПВП реализуют следующее: а) более эффективный перенос ХС от клеток в форме неполярных моно-ЭХС; б) реакция этерификации спирта ХС с ω-9 С18: 1 олеиновой МЖК проходит в ЛПВП при действии лецитинхолестерин ацилтрансферазы + apoA-II как ее кофактора (оба — секретируемые белки гепатоцитов); в) олеиновая МЖК для этерификации освобождается из sn-2 фосфатидилхолинов; г) образованный гидрофобный олеат ХС располагается на гидрофобной стороне apoA-I диска и окружен цепями жирных кислот ФХ; д) менее гидрофобный лизофосфатидилхолин остается в apoA-I+apoA-II ЛПВП; связывать и отвозить его может и альбумин.

И если энтероциты формируют apoA-I ЛПВП, то гепатоциты секретируют apoA-I+apoA-II. В ранних энтероцитах полярный ХС из ЛПВП удаляли клетки РСТ путем экскреции с калом. Гепатоциты же поглощают apoA-I+apoA-II ЛПВП с моно-ЭХС через сквенджер-рецепторы, через АТФ-зависимые «кассетные транспортеры» (рис. 1.7). Гепатоциты поглощают ЛПВП, освобождают их от олеата-ХС, от моно-ЭХС, возвращая

в межклеточную среду «пустые» apoA-I+apoA-II ЛПВП. Принесенные же моно-ЭХС гепатоциты подвергают гидролизу и используют для синтеза желчных кислот — активных эндогенных детергентов.

Как же непосредственно проходит отток ХС от клеток? Известно, по крайней мере, несколько вариантов. Первый — филогенетически ранний: ЛПВП связывают из межклеточной среды ХС, который выходит из мембран в межклеточную среду путем диффузии или становится компонентом гомогенных, смешанных прямых мицелл. ХС, будучи полярным, хотя и минимальной концентрации (8 нмоль/л), но растворим в гидрофильной среде; становится он и компонентом смешанных, прямых мицелл. Намного позже в филогенезе гепатоциты стали поглощать ЛПВП через «АТФ зависимые кассетные транспортеры». Они обеспечивают поглощение гепатоцитами ЛПВП с переносимым ими моно-ЭХС в реверсивном (обратном) отвозе ХС от клеток. Функционально это рецепторы-«мусорщики», но не на мембране макрофагов, а на плазматической мембране гепатоцитов. Рецептор-мусорщик в гепатоцитах: а) захватывает и поглощает ЛПВП; б) «отбирает» из apoA-I+apoA-II ЛПВП все моно-ЭХС, гидролизует их в лизосомах и в) возвращает пустой ЛПВП (apoA-I + ФХ) в межклеточную среду.

ApoA-I ЛПВП секретируют энтероциты, а apoA-I+apoA-II ЛПВП формируют и секретируют гепатоциты. На ступенях филогенеза — это два варианта (более ранний и более поздний) переноса ХС от клеток с целью оптимального использования ХС in vivo. Пул спирта, который ЛПВП отвозят от клеток, складывается из ХС, который: а) синтезируют клетки de novo; б) этерифицирует ПНЖК в поли-ЭХС; в) поглощают клетки в форме поли-ЭХС в ЛПВП; г) поглощают инсулинозависимые клетки с ЛПОНП в монослое ФХ + полярный ХС. У приматов и человека функционируют как: а) филогенетически ранние ЛПВП энтероцитов, которые, в первую очередь, переносят к клеткам экзогенные ЖК — apoA-I ЛПВП и реализуют обратный перенос спирта ХС, так и б) филогенетически поздние, синтезированные гепатоцитами apoA-I+apoA-II, в которых и происходит анатомически и функционально (раздельно) синтез моно- и поли-ЭХС. Они задействованы в активном поглощении клетками ПНЖК, участвуя одновременно в активном поглощении клетками ПНЖК и реверсивном переносе ХС от клеток. Филогенетически ранние ЛПВП последовательно формируют несколько биологических функций. Это и определяет функциональную гетерогенность филогенетически ранних ЛПВП.

После поглощения и гидролиза поли-ЭХС из ЛПВП клетки депонируют ПНЖК, а ХС выводят в межклеточную среду. И хотя растворимость ХС в гидрофильной среде (≈ 8 нмоль/л) низка, при большом числе клеткодоноров и apoA-I+apoA-II ЛПВП акцепторов ее достаточно для оттока стерола из клеток. ХС-ЛПВП, ХС-ЛПОНП и ХС ЛПВП — это один и тот же ХС, только

первый — до поглощения ЛП клетками, а второй после. Следовательно, ХС-ЛПВП становится тем выше, чем больше клетки поглощают ЛПНП и ЛПОНП и освобождают ХС в межклеточную среду. Отношение ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП+ХС-ЛПОНП определяет активность рецепторного поглощения апоВ-100 ЛП всеми клетками.

Поглощение клетками ПНЖК в форме ЭХС в ЛПНП. Белок, переносящий эфиры холестерина; виды животных и экзогенная гиперхолестеринемия

Первым этапом активного поглощения клетками ПНЖК является переэтерификация из полярных эфиров со спиртом ГЛ (из ФЛ) в неполярные поли-ЭХС. Происходит это в ЛПВП; в результате образуются сферические ЛПВП, которые содержат ПНЖК в поли-ЭХС. Они из ЛПВП переходят в апоВ-100 линолевые и линоленовые ЛПОНП. Переход поли-ЭХС, в принципе, происходит спонтанно при столкновении ЛПВП и ЛПНП в кровотоке; инициирует его градиент гидрофобности между полярными липидами ЛПВП и неполярными ТГ в ЛПОНП; активирует переход белок, переносящий эфиры холестерина. Первичная структура БПЭХ такова, что, несмотря на наличие в первичной структуре гидрофобного домена, связывать и переносить поли-ЭХС он не может. В крови белок формирует тройственный ассоциат ЛПВП+БПЭХ+ЛПОНП. В рамках его поли-ЭХС спонтанно (по градиенту гидрофобности) переходят из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП. Каталитические параметры перехода поли-ЭХС из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП, в ассоциате ЛПВП+ БПЭХ+ ЛПОНП во много раз выше, чем перехода моно-ЭХС. Моно-ЭХС из ЛПВП в состав ЛПОНП практически не переходят.

В обратном направлении, из ЛПНП в ЛПВП, так же спонтанно и с высокой активностью переходят полярные ДГ, образованные при липолизе в апоВ-100 ЛП. В филогенезе перенос полярных ДГ в ЛПВП есть более ранняя функция БПЭХ; белок может реально связать и переносить полярные ДГ и не может переносить поли-ЭХС. При обмене ДГ ↔ поли-ЭХС гидратированная плотность линолевых и линоленовых ЛПОНП становится выше, а размеры меньше. Более гидрофобные поли-ЭХС в линолевых и линоленовых ЛПОНП вытесняют ТГ из связи с доменами апоВ-100, ускоряя их гидролиз. При действии БПЭХ линолевые и линоленовые ЛПОНП превращаются в одноименные ЛПНП. Переход ТГ из ЛПОНП в ЛПВП маловероятен, хотя об этом можно прочитать.

Полярные по структуре ЛПВП не могут поглощать ни ТГ, ни моно-, ни поли-ЭХС. ЛПВП содержат только диглицериды, а моно-ЭХС и поли-ЭХС синтезированы в ЛПВП *in situ de novo* из полярных ФЛ. При этом моно-ЭХС и поли-ЭХС располагаются на разных сторонах апоА-I диска в окружении полярных ФЛ. Напомним, что современные лаборатории клинической биохимии

ТГ не определяют. Внося в бланки результаты определения ТГ, мы на самом деле измеряем в плазме крови содержание спирта ГЦ. Основную массу ГЦ действительно содержат ТГ; однако это в равной мере могут быть ДГ, МГ и даже свободный ГЦ; концентрация его в плазме крови, правда, низкая. Когда пишут о ТГ в ЛПВП, это не критичное использование информации лаборатории.

АпоВ-100 в линолевых и линоленовых ЛПОНП, когда количество связанных ими ТГ становится оптимальным, принимает активную конформацию и выставляет на поверхность одноименных ЛПНП апоВ-100 лиганд. Далее клетки активно поглощают ПНЖК в поли-ЭХС путем апоВ-100 эндоцитоза. Активное поглощение клетками ПНЖК происходит по пути: энтероциты → аминокФЛ в ЛПВП → поли-ЭХС в ЛПВП → переход поли-ЭХС в ЛПОНП при действии БПЭХ → превращение линолевых и линоленовых ЛПОНП в ЛПНП → формирование лиганда и → поглощение ПНЖК в форме поли-ЭХС путем апоВ-100 эндоцитоза. Таким образом, БПЭХ — это облигатный (обязательный) участник активного, физиологического поглощения клетками ПНЖК. БПЭХ присутствует в крови всех видов животных, однако далеко не в равной концентрации и с неодинаковой функцией. В плазме крови крыс БПЭХ тройственные ассоциаты не формирует и не активирует переход поли-ЭХС из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП. По этой причине клетки крыс, в отличие от кроликов, не поглощают ПНЖК в поли-ЭХС путем апоВ-100 эндоцитоза.

Многоэтапный путь активного поглощения клетками ПНЖК путем апоВ-100 эндоцитоза мы назвали последовательным; вначале ПНЖК как в форме поли-ЭХС переносят апоА-I ЛПВП, а далее, после действия БПЭХ, все ПНЖК переходят в апоВ-100 линолевые и линоленовые ЛПОНП → ЛПНП. Если в пище и в гепатоцитах повышено содержание Пальм НЖК и гепатоциты секретируют в кровь много пальмитиновых ЛПОНП, это нарушает формирование апоВ-100 лигандов в линолевых, линоленовых ЛПОНП → ЛПНП и блокирует поглощение их клетками при апоВ-100 эндоцитозе. Эти негативные стороны в филогенезе сформировались после третьего этапа становления ЛП при нарушении биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии.

Так, мы полагаем, проходило активное поглощение клетками ПНЖК в течение миллионов лет, пока на одной из ступеней филогенеза не произошла мутация БПЭХ-нуль или эпигенетически обусловленное снижение экспрессии БПЭХ. Мутации БПЭХ затронули многие виды животных, включая собак, мышей, крыс. Это привело к нарушению биодоступности ЖК для клеток, блокаде поглощения ими *in vivo* ПНЖК и гибели части популяции. Однако «стараниями» биологической функции адаптации и единой технологии становления в филогенезе функциональных систем на более поздних ступенях филогенеза сформировался короткий, фило-

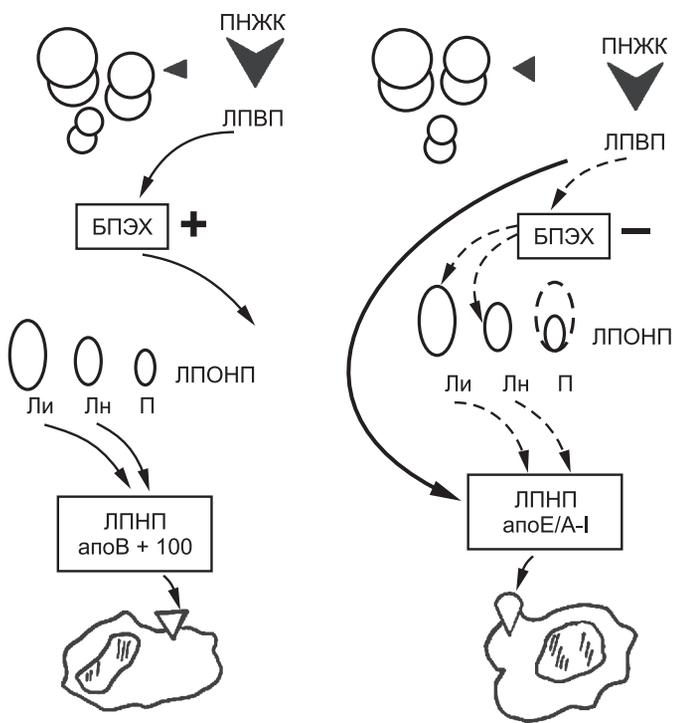


Рис. 1.8. При активной функции БПЭХ + (слева) клетки поглощают ПНЖК в ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза. При отсутствии активного БПЭХ- (справа), повышении содержания его в плазме крови, клетки поглощают ПНЖК в ЛПВП путем апоЕ/А-I эндоцитоза.

генетически поздний, не последовательный, а прямой вариант активного поглощения клетками ПНЖК. При этом клетки, как и прежде, поглощали ПНЖК в форме поли-ЭХС, но уже не в ЛПНП, а в ЛПВП.

В ЛПВП происходит синтез двух ЭХС: а) ω-9 олеат ЭХС — моно-ЭХС и б) поли-ЭХС — ПНЖК этерифицированные ЭХС. При реализации разных биологических функций, мы полагаем, накопление моно-ЭХС и поли-ЭХС происходит в разных ЛПВП. Сформировались они на разных ступенях филогенеза; синтез в ЛПВП моно-ЭХС филогенетически является более ранним. ЛПВП «наполненные» моно-ЭХС поглощают гепатоциты, используя функцию «кассетных транспортеров». Из ЛПВП все поли-ЭХС, при действии БПЭХ, переходят в линолевые и линоленовые ЛПОНП, превращая их в одноименные ЛПНП. Далее клетки поглощают ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза с ННЖК в форме ТГ и ПНЖК в поли-ЭХС (рис. 1.8).

В условиях, полагаем, спонтанной мутации БПЭХ-нуль, синтеза биологически неактивного БПЭХ, когда поглощение клетками ПНЖК оказалось практически заблокировано, биологическая функция адаптации во второй раз в филогенезе использовала апоЕ и его способность инициировать взаимодействие апо: апо. Первый раз апоЕ использован на ранних ступенях фи-

генеза при формировании в ХМ специфичного апоЕ/В-48 лиганда, связывая который одноименными рецепторами, гепатоциты стали поглощать ХМ путем эндоцитоза. Во второй раз в филогенезе апоА-I и апоЕ, мы полагаем, сформировали кооперативный апоЕ/А-I лиганд. Связывая его рецепторами, клетки стали активно поглощать ПНЖК в поли-ЭХС, но путем апоЕ/А-I эндоцитоза. Это привело к тому, что у разных видов животных клетки активно поглощают ПНЖК двумя разными путями: а) путем филогенетически раннего апоВ-100 эндоцитоза в ЛПНП и б) путем более позднего активного апоЕ/А-I эндоцитоза в ЛПВП. Схематично филогенетически раннее последовательное (ЛПВП → ЛПНП → клетка) поглощение ПНЖК и более позднее в филогенезе, прямое поглощение ПНЖК (ЛПВП → клетка) (рис. 1.8). Какие эпигенетические факторы стали причиной, какие медиаторы активируют синтез БПЭХ, пока остается неясным.

Различие между последовательным и прямым поглощением клетками ПНЖК выявили эксперименты с экзогенной гиперхолестеринемией; их провели в начале прошлого века. Добавление в пищу животным ХС в течение 4 недель приводило к формированию атеросклероза и атероматоза интимы артерий эластического типа у животных с высоким уровнем БПЭХ. Животные же иных видов, с низким содержанием БПЭХ, оставались резистентными к повышению в пище ХС. Атероматоз аорты не столь сложно воспроизвести у кроликов, морских свинок при высоком содержании в плазме крови БПЭХ. Выраженное ингибирование БПЭХ наглядно показано у крыс, мышей и собак. Если для второй группы животных ХС является обычным компонентом пищи, то травоядные кролики, морские свинки с содержанием ХС в пище не сталкивались. В чем же причина столь наглядного различия атероматоза интимы артерий эластического типа? Мы не сможем разобраться в различии атероматоза в зависимости от содержания в крови БПЭХ, пока не рассмотрим третий в филогенезе этап переноса ЖК в ЛП и поглощения их клетками.

Третий этап переноса в неполярных ТГ и рецепторное поглощение клетками НЖК+МЖК

На филогенетически раннем первом этапе становления ЛП сформирован перенос всех ЖК в ЛПВП в форме полярных липидов (ФЛ, ДГ и НЭЖК); клетки поглощали ЖК пассивно. На втором этапе осуществлен перенос всех ЖК в апоВ-100 в форме неполярных липидов (ТГ и ЭХС) и активное, рецепторное поглощение клетками только ПНЖК и ННЖК в линолевых и линоленовых ЛПОНП → ЛПНП путем апоВ-100 эндоцитоза. На третьем этапе в филогенезе сформировался перенос и поглощение клетками ЖК, в рамках становления биологической функции локомоции (движение за счет сокращения поперечнополосатых, электровозбудимых миоцитов) и гуморальной системы инсулина. Сформи-

ровался: а) перенос НЖК + МЖК в ТГ в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП и б) активное поглощение их клетками путем нового, апоЕ/В-100 эндоцитоза. Следовательно, на ранних ступенях филогенеза клетки поглощали ЖК только пассивно. Позже сформировалось активное поглощение клетками ПНЖК+ННЖК, и в последнюю очередь клетки поглощают НЖК+МЖК.

При жизни в водах третьего мирового океана, низкой температуре (+4 – +6 °С), при умеренной физической активности, отношение в крови НЖК+МЖК и ННЖК+ПНЖК составляло $\approx 1 : 1$. В иных условиях: а) при выходе на сушу; б) при необходимости постоянно поддерживать температуру тела, добывать пищу и в) обеспечивать субстратами для наработки энергии все поперечнополосатые, скелетные миоциты; г) при реализации новой биологической функции локомоции (передель и миграции), отношение НЖК+МЖК: ННЖК+ПНЖК существенно изменилось. После завершения оптимизации экзогенных ЖК, утилизации афизиологичных ЖК, в гепатоцитах апоВ-100 и микросомальный белок, переносящий триглицериды, синтезируют пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ТГ, которые клетки структурируют в одноименные четыре ЛПОНП.

При постпрандиальной ГЛП (после еды) гепатоциты формируют ЛПОНП, которые в ТГ содержат ЖК в отношении:

пальмитиновая НЖК + олеиновая МЖК – 100;
линолевая + линоленовая ННЖК – 10;
 ω -6 и ω -3 эссенциальные ПНЖК – 1.

Физиологично отношение ω -6/ ω -3 $\leq 3 : 1$, 5 : 1. Для переноса к клеткам столь большого количества НЖК + МЖК понадобились высокопроизводительные ЛП. Все клетки, которые реализуют биологическую функцию локомоции, являются инсулинозависимыми. На третьем этапе становления в филогенезе функции ЛП произошло формирование ЛПОНП; они предназначены для векторного переноса и активного поглощения только инсулинозависимыми клетками НЖК + МЖК – субстратов для наработки энергии, синтеза митохондриями АТФ.

К началу активного поглощения клетками НЖК+МЖК миллионы лет проходило: а) активное поглощение гепатоцитами НЖК + МЖК в ХМ в составе ТГ путем апоЕ/В-48 эндоцитоза ХМ; б) активное поглощение клетками ПНЖК в ЛПВП путем апоВ-100 эндоцитоза и в) компенсаторное, активное поглощение ПНЖК в ЛПВП путем апоЕ/А-I рецепторного эндоцитоза. Согласно единой технологии становления в филогенезе функциональных систем (биологических функций и биологических реакций), обеспечение функции локомоции субстратами наработки энергии реализовано путем образования: а) нового класса ЛП – ЛПОНП и б) нового варианта поглощения ЛПОНП только инсулинозависимыми клетками путем апоЕ/В-100 эндоцитоза. На ступенях филогенеза в третий раз использована способность апоЕ формировать кооперативные ассоциаты

из разных апо; произошло формирование нового, кооперативного апоЕ/В-100 лиганда и синтез одноименных рецепторов только инсулинозависимыми клетками.

После оптимизации экзогенных ЖК в гепатоцитах, апоВ-100 и белок, переносящий триглицериды: а) синтезируют пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ТГ; б) структурируют их в одноименные ЛПОНП и в) секретируют пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ЛПОНП в кровь. При физиологичном содержании и соотношении ЖК в пище количественно ЛПОНП соотносятся как:

пальмитиновые ЛПОНП + олеиновые ЛПОНП – 90
линолевые ЛПОНП + линоленовые ЛПОНП – > 10.

В крови все ЛПОНП физиологично перегружены ТГ и являются безлигандными (прелигандными); лиганд закрыт избытком ТГ. В крови при действии постепариновой ЛПЛ + апоС-II, в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП проходит гидролиз ТГ. При оптимальном количестве связанных ТГ апоВ-100 принимает активную конформацию (стерическую форму) и в ассоциации с апоЕ формирует кооперативный апоЕ/В-100 лиганд и выставляет его на поверхность. В кровотоке происходит формирование лигандных пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП. Инсулинозависимые клетки физиологично поглощают все пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза; ни первые, ни вторые физиологично в ЛПВП не превращаются.

При физиологичном содержании в пище и гепатоцитах Пальм НЖК (не более 15% количества ЖК), через 4–5 часов после еды в плазме крови уже нет пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП; все их поглотили инсулинозависимые клетки путем апоЕ/В-100 эндоцитоза. Количество ТГ (спирта ГЛ) в плазме крови уменьшается \approx на порядок; в крови физиологично остаются только линолевые и линоленовые ЛПОНП. В это же сроки после еды энтероциты структурируют ПНЖК в аминоФЛ, которые апоА-I включает в ЛПВП, секретируя их в кровь. В ЛПВП проходит реакция переэтерификации ПНЖК из полярных аминоФЛ в неполярные поли-ЭХС. Происходит это не быстро и, вероятно, накопление в ЛПВП поли-ЭХС совпадает с окончанием поглощения инсулинозависимыми клетками пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП. В крови физиологично остаются линолевые и линоленовые ЛПОНП.

Линолевые и линоленовые ЛПОНП при секреции их в кровь тоже физиологично перегружены ТГ; это прелигандные ЛПОНП. При действии печеночной ЛПЛ (глицеролгидролазы) + апоС-III происходит гидролиз части ТГ. Из связи с апоВ-100 менее гидрофобные ТГ вытесняют более гидрофобные поли-ЭХС; поли-ЭХС переходят в линолевые и линоленовые ЛПОНП при действии БПЭХ. Образующиеся при гидролизе полярные ДГ при действии БПЭХ переходят в ЛПВП. По сравнению с ТГ, молекулы поли-ЭХС меньше и плотность их выше. В ходе физико-химических и биохимических реакций ЛПОНП превращаются в линолевые и линоле-

новые ЛПНП. По завершении столь специфичного гидролиза ТГ в линолевых и линоленовых ЛПОНП апоВ-100 принимает активную конформацию и образует лигандные одноименные ЛПНП; клетки поглощают их путем апоВ-100 эндоцитоза со всеми ПНЖК в форме поли-ЭХС. Содержание в пище линолевых и линоленовых ЛПОНП не бывает высоким, и поли-ЭХС, которые переходят из ЛПВП, достаточно для образования лигандных ЛПНП и поглощения их клетками. Однако в течение нескольких часов после еды, пока инсулинозависимые клетки не поглотили пальмитиновые и олеиновые, пальмитиновых ЛПОНП в крови много больше, чем линолевых и линоленовых.

Эволюционные сложности поглощения клетками ПНЖК путем апоВ-100 эндоцитоза, биодоступность и БПЭХ

Отработанное на более ранних ступенях филогенеза последовательное (ЛПВП → ЛПНП → клетка) рецепторное поглощение ПНЖК в ЛПНП функционирует сотни миллионов лет. Так было в третьем мировом океане и при выходе животных на сушу, когда содержание в пище НЖК, главным образом, С16:0 Пальм НЖК, не превышало 15% всех ЖК. Линолевые и линоленовые ЛПНП физиологично доносят до клеток ω-3 Эйкоза и Докоза при жизни в мировом океане и ω-6 Арахидиновой кислоты на суше. Если же содержание в пище Пальм НЖК превышает 15%, количество пальмитиновых ЛПОНП, которые секретируют в кровь гепатоциты, становится больше. Напомним, что кинетические параметры гидролиза пальмитиновых ТГ в ЛПОНП при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II являются самыми низкими; пальмитиновые ЛПОНП могут длительно не формировать апоЕ/В-100 лиганд и циркулировать в крови, обретая гидратированную плотность пальмитиновых ЛПНП.

Если переход поли-ЭХС из ЛПВП при действии БПЭХ происходит в крови одновременно в линолевые, линоленовые и пальмитиновые ЛПОНП (количество которых в крови может доминировать), только малая часть ПНЖК оказывается в физиологичных линолевых и линоленовых ЛПНП. Гидролиз ТГ в них оказывается не оптимальным; при этом не происходит формирование апоВ-100 лиганда ни в линолевых, ни линоленовых, ни в пальмитиновых ЛПОНП. Однако гидратированная плотность их увеличивается, размеры уменьшаются, и все они, соответственно физико-химическим параметрам, становятся ЛПНП. Так образуется в крови масса пальмитиновых + линолевых + линоленовых ЛПНП, которые не сформировали апоВ-100 лиганд. Не имея лиганда, все ЛПНП, с переносимыми ими ПНЖК, становятся в крови «биологическим мусором».

Физиологично поглотить их могут только функциональные фагоциты, оседлые макрофаги путем сквенджер-эндоцитоза через рецепторы-мусорщики. Локализованы они в пуле сбора и утилизации биологического

«мусора» из локального, внутрисосудистого пула межклеточной среды. Макрофаги поглотят их как афизиологичные, денатурированные макромолекулы белка. Пул сбора и утилизации большого (более 70 кДа) биологического «мусора» локализован в интима артерий эластического и смешанного типа. Вот туда-то при последовательном действии нейтрофилов, системы комплемента и биологической реакции трансцитоза монослоем эндотелия и будут перенесены все безлигандные ЛПНП. Далее оседлые макрофаги превратят все ЛПНП в атероматозную массу.

Во время, когда безлигандные ЛПНП длительно циркулируют в крови, они подвержены разного рода модификациям (гликирование, сиамирование, нитрозилирование, окисление активными формами O_2). Принципиального значения в удалении ЛПНП как биологического «мусора» эти реакции не имеют; диагностического значения тоже. Модификация ЛПНП — это реакция далеко не первая: а) вначале происходит нарушение физиологичного отношения ЖК в пище; б) изменяется состав ЖК в пальмитиновых и олеиновых ТГ и отношение ЛПОНП в крови; в) при афизиологичном гидролизе апоВ-100 в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП не принимает активной конформации и в ЛПОНП не формирует лиганд; г) то же происходит и в ЛПНП, которые тоже не поглощают клетки; г) при длительном пребывании в крови ЛПОНП, главным образом, ЛПНП подвергаются модификации.

Оседлые макрофаги, которые локализованы в интима артерий эластического типа, сформировались на ранних ступенях филогенеза; ПНЖК они поглощают только пассивно из ЛПВП в форме ФЛ; апоВ-100 рецепторов на плазматической мембране макрофагов нет. Не имея рецепторов, макрофаги не имеют в лизосомах и кислых гидролаз для поли-ЭХС. Макрофаги накапливают ПНЖК, этерифицированные спиртом ХС, в цитозоле, превращаются в «пенистые» клетки; далее следует их гибель по типу некроза с формированием атероматоза. Атероматозная масса липидов в интима артерий состоит из поли-ЭХС с ω-6 линолевой и линоленовой ННЖК и укороченных метаболитов поли-ЭХС с ω-3 Эйкоза, Докоза и ω-6 Арахидиновой кислоты. Реально в клетках с недостатком ПНЖК развивается атеросклероз; в макрофагах, которые накапливают избыток ПНЖК в форме поли-ЭХС («пенистые» макрофаги), формируется атероматоз.

Атеросклероз и атероматоз — понятия разные, однако мы часто их не различаем. Атеросклероз — это патология организма, при которой все клетки испытывают дефицит ПНЖК при низкой биодоступности их для поглощения клетками. Атероматоз — наиболее клинически значимое проявление атеросклероза, накопление безлигандных ЛПНП со всеми переносимыми ими ПНЖК, ННЖК в интима артерий. Афизиологично наиболее долго циркулируют в крови пальмитиновые ЛПОНП, медленно превращаясь в безлигандные паль-

митиновые ЛПНП. Пальмитиновые ЛПОНП исходно самые меньшие; они-то и формируют малые, плотные, наиболее атерогенные ЛПНП, накопление которых в плазме крови характерно для пациентов с синдромом резистентности к ИНС.

Много безлигандных, физиологично денатурированных, модифицированных ЛПНП поглощают и функциональные фагоциты печени, макрофаги Купфера. Однако они не формируют пенистые клетки, не накапливают атероматозные массы липидов. Это определено тем, что макрофаги Купфера, мы полагаем, сформировались на более поздних ступенях филогенеза, по сравнению с макрофагами в интима артерий. Макрофаги Купфера на мембране имеют апоВ-100 рецепторы, а в лизосомах — кислые гидролазы для ПНЖК в поли-ЭХС. Кроме того, располагаются макрофаги Купфера в синусоидальных капиллярах, которые имеют специфичную, фенестрированную базальную мембрану и такой же монослой эндотелия. Только синусоидальные капилляры имеют субэндотелиальные пространства Диссе. Это позволяет макрофагам Купфера непосредственно контактировать с плазмой крови: нет необходимости в реализации биологической реакции транцитоза и нет места для формирования атероматоза. Макрофаги Купфера гидролизуют поли-ЭХС до ХС и ПНЖК в форме НЭЖК, которые встраиваются далее в состав аминоФЛ.

Трудно сказать: а) «осознание» ли функциональной нестабильности переноса ПНЖК в поли-ЭХС по пути ЛПВП → ЛПНП → клетка; б) мутация ли БПЭХ-нуль, или что-то иное инициировало в филогенезе в) самый поздний вариант прямого поглощения клетками ПНЖК в форме поли-ЭХС по прямому пути ЛПВП → клетка. Это привело к тому, что у отдельных видов животных содержание БПЭХ в плазме крови осталось высоким, в то время как у иных экспрессия синтеза БПЭХ стала низкой. У человека содержание БПЭХ в плазме крови высоко, как у приматов, кроликов и морских свинок. У этих видов животных клетки активно поглощают ПНЖК в форме поли-ЭХС по филогенетически раннему варианту ЛПВП → ЛПНП → клетка. У крыс, мышей и собак содержание БПЭХ в крови низкое, и филогенетически позднее поглощение ПНЖК в форме поли-ЭХС происходит по пути ЛПВП → клетка. В силу этого у животных с последовательным вариантом поглощения клетками ПНЖК легко смоделировать атеросклероз и атероматоз на модели экзогенной гиперхолестеринемии. И эту модель трудно воспроизвести у животных, клетки которых поглощают ПНЖК по пути ЛПВП → клетка. Это еще раз подтверждает наше мнение, что атеросклероз — это синдром внутриклеточного дефицита ПНЖК.

Остается решить: являются ли два варианта активного поглощения клетками ПНЖК (последовательный и прямой) взаимоисключающими или они функционируют одновременно? Если они реально функционируют

параллельно, прямой или последовательный варианты поглощения клетками ПНЖК определяет только экспрессия БПЭХ и функция этого белка в плазме крови. При активном БПЭХ клетки *in vivo* поглощают ПНЖК путем апоВ-100 эндоцитоза; при низкой активности — путем апоЕ/А-I эндоцитоза. Первый вариант блокирует избыточное содержание в пище Пальм НЖК и ХС; второй нет. При избытке в пище Пальм НЖК гиперТГ сформируется всегда. Следовательно, чем больше Пальм НЖК в пище, выше активность и концентрация БПЭХ, тем содержание ХС-ЛПВП ниже, ХС-ЛПНП выше и развитие синдрома атеросклероза и его симптома — атероматоза прогрессирует.

Складывается впечатление, что экспрессия синтеза БПЭХ в филогенезе явилась предпоследним аккордом формирования *in vivo* активного, рецепторного поглощения клетками ПНЖК путем апоВ-100 рецепторного эндоцитоза по пути ЛПВП → ЛПНП → клетка. Вероятно, понимание *in vivo* того, что этот вариант не является оптимальным, пришло в филогенезе много позже; возможны и иные биологические ситуации. Возможна и мутация БПЭХ-нуль; она вынудила биологическую функцию адаптации длительно формировать иной путь активного поглощения клетками ПНЖК. Так произошло образование прямого поглощения клетками ПНЖК путем апоЕ/А-I эндоцитоза. Можно полагать, что прямой путь поглощения ПНЖК (ЛПВП → клетка) сформировался у всех видов животных; экспрессия же синтеза БПЭХ осталась высокой только у части видов. В этих условиях сосуществования двух (последовательного и прямого) вариантов рецепторного поглощения клетками ПНЖК через апоВ-100 или апоЕ/А-I рецепторы соотношение их стала определять экспрессия синтеза БПЭХ и его содержание в плазме крови.

Можно полагать, что количество получаемых с пищей ω-3 и ω-6 ЭС ПНЖК также оказывает влияние на становление активного поглощения их клетками. Возможно, поэтому эпигенетическое снижение экспрессии БПЭХ возникло и распространено в популяции Японии; ≈ 10% японцев имеют низкое содержание БПЭХ, сниженный ХС-ЛПНП и физиологичную гиперальфа-липопротеинемию за счет поли-ЭХС. А физиологичная же гиперальфа-липопротеинемия развивается при интоксикации алкоголем; ХС-ЛПВП при этом повышается при накоплении в ЛПВП, главным образом, полярного неэтерифицированного ХС, а не моно-ЭХС — олеата ХС. Вероятно, поэтому клиницисты стали использовать ингибиторы БПЭХ для лечения атеросклероза и атероматоза.

Для того чтобы патогенез атеросклероза — дефицита в клетках ПНЖК — стал более ясным в форме нарушения *in vivo* биодоступности их для клеток, желательное принять во внимание наши представления, которые обоснованы положениями филогенетической теории общей патологии и отображены на рисунке 1.9. Кроме того, важно понять, что структура ЛП не сформирована

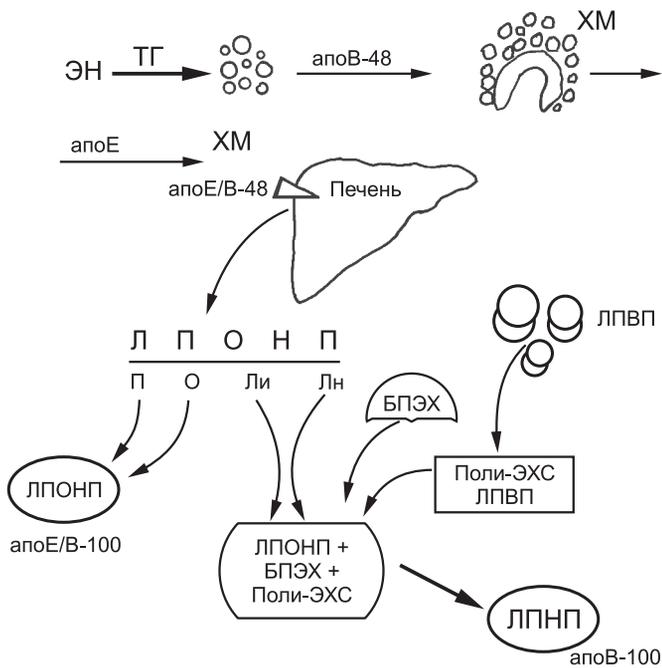


Рис. 1.9. Иные представления: а) о формировании ХМ в плазме крови из секретированных энтероцитами комплексов ТГ; б) физиологичное деление ЛПОНП на четыре функциональных subclasses и в) БПЭХ в переносе и активном поглощении клетками ПНЖК

in vivo при действии ультразвука, как это сделали in vitro биофизики в отношении apoA-I и apoB-100 ЛП, а является обычными для биологии вариантами структуры

белок: липид, которые, будучи гидрофобными, деформированы в гидрофильной, водной межклеточной среде и плазме крови.

В соответствии с филогенетической теорией общей патологии, все ЛП по структуре — это бислои белок: липид. Основная функция ЛПВП, как и всех ЛП, — перенос к клеткам ЖК и только позже отвоз спирта ХС от клеток. На ступенях филогенеза последовательно стали функционировать ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП. ЛПВП переносили ЖК в полярных липидах при пассивном поглощении клетками. Позже ЛП переносят ЖК в неполярных эфирах со спиртами ГЦ и ХС, а клетки поглощают их рецепторным эндоцитозом. Гепатоциты секретируют в кровь пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ЛПОНП; первые и вторые ЛПОНП физиологично поглощают инсулинозависимые клетки apoE/B-100 эндоцитоза, линолевые и линоленовые ЛПОНП, после перехода поли-ЭХС из ЛПВП, превращаются в ЛПНП; клетки поглощают их apoB-100 эндоцитозом. Формирование ХМ происходит в крови, и гепатоциты поглощают их путем apoE/B-48 эндоцитоза. Поглощение клетками ПНЖК apoB-100 эндоцитозом формирует чувствительность животных к экзогенной гиперХС, поглощение ПНЖК через apoE/A-I рецепторы — резистентность. ApoE в ЛП формирует кооперативные лиганды — apoE/B-48 для ХМ, apoE/B-100 для ЛПОНП и apoE/A-I для ЛПВП. ХМ в крови формирует apoB-48 из комплексов ТГ, секретированных энтероцитами.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПАЛЬМИТИНОВОЙ И ОЛЕИНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. ПАТОГЕНЕЗ АТЕРОСКЛЕРОЗА, ИНСУЛИН И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОФИЛАКТИКИ

В соответствии с филогенетической теорией общей патологии, в патогенезе «метаболических пандемий» общим является нарушение параметров биологической функции трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии (внешнего питания), афизиологичная индукция количеством субстрата и высокое содержание в пище НЖК. Избыток в пище С16:0 Пальм НЖК формирует in vivo состояние низкой «биодоступности» эссенциальных ПНЖК; клетки перестают (не могут) их активно поглощать. Это характерно для атеросклероза, ожирения и синдрома резистентности к инсулину (ИР). В противоположность этому, высокое содержание в пище С18:1 олеиновой МЖК с одной двойной связью — основа антиатерогенного действия средиземноморской диеты.

Каковы же физико-химические, биохимические и функциональные свойства Пальм НЖК, которая in vivo инициирует атеросклероз, атероматоз и синдром ИР, и чем она отличается от олеиновой МЖК, ко-

торая проявляет противоположное, антиатерогенное, выраженное протективное действие? По какой причине все клетки in vivo синтезируют из ацетата только Пальм НЖК, для которой столь характерно такое физико-химические свойство как «липотоксичность»? Эндогенно же синтезировать из НЖК олеиновую МЖК могут только инсулинозависимые клетки. В чем же состоит роль инсулина, биологическую функцию которого филогенетическая теория общей патологии характеризует как обеспечение энергией биологической функции локомоции? Что же связывает действие инсулин и синтез in vivo олеиновой МЖК?

Физико-химические различия Пальм НЖК, олеиновой МЖК и одноименных триглицеридов

Пальм — длинноцепочечная, распространенная в природе С16:0 НЖК. Среди ЖК клеток и тканей Пальм ЖК имеет наиболее высокую температуру плав-

ления + 62,9 °С; приматы и человек переносят ее в межклеточной среде в форме липидов в ЛП, а клетки подвергают метаболизму при температуре всего-то 36,6 °С. Это сказывается на кинетике биохимических реакций: этерификации НЖК со спиртом ГЦ и гидролизе ТГ с освобождением Пальм и олеиновой ЖК в форме НЭЖК. В крови и межклеточной среде их связывает липидпереносящий белок альбумин. Низкие параметры кинетики характеризуют гидролиз пальмитиновых ТГ. Пальм НЖК — кристаллы с мол. массой 256,43 г/моль.

Олеиновая длинноцепочечная МЖК содержится в оливковом и иных растительных маслах; ее относят к семейству ω -6 С18 : 1. В оливковом масле содержание ее достигает 85%; она имеет одну ДС в Δ 6-положении. Эндогенно же синтезированная ЖК у приматов и человека *in situ de novo* является ω -9 цис-С18 : 1 с несколькими каталитическими параметрами. Олеиновая МЖК — бесцветная вязкая жидкость с температурой плавления + 13,4 °С. Мол. масса — 282,46 г/моль. Транс-формой ω -6 С18 : 1 является элаидиновая МЖК; при той же структуре, но иной конформации молекулы температура плавления ее существенно выше, чем у олеиновой, — +44 °С. Все транс-формы МЖК, несмотря на наличие в цепи ДС, по физико-химическим параметрам более схожи с НЖК.

Эфир Пальм НЖК с трехатомным спиртом ГЦ — глицеролтрипальмитат (пальмитоил-пальмитоил-пальмитат глицерол) имеет 51 атом углерода, температуру плавления + 46 °С и мол. массу 807 кДа. Эфир олеиновой МЖК с трехатомным спиртом ГЦ — триолеат глицерина (олеил-олеил-олеат) содержит 57 атомов углерода; температура плавления его минус 5,5 °С и мол. масса 815 кДа. Температура плавления глицеролтрипальмитата более чем на 50 °С выше, чем у глицеролтриолеата. Это является причиной того, что *in vivo* скорость (константа) гидролиза такого ТГ при действии панкреатической и постгепариновой ЛПЛ меньше, чем освобождение одной ЖК из позиции sn-1 sn-3 в форме НЭЖК при гидролизе глицеролтриолеата.

Если в афизиологичных условиях в гепатоцитах происходит накопление пальмитиновых ТГ, в которых со вторичной спиртовой группой (позиция sn-2) спирта ГЦ этерифицирована пальмитиновая НЖК (олеил-пальмитоил-олеат, ОПО, олеил-пальмитоил-пальмитат (ОПП) и пальмитоил-пальмитоил-пальмитат, ППП), накопление в клетках трудно гидролизуемых ТГ, особенно последнего, становится причиной гибели гепатоцитов по типу апоптоза. Печень «избавляется» от столь нежелательных ТГ только вместе с гепатоцитами; репарация же происходит по типу замещения фиброзной тканью. Константа гидролиза олеиновых триглицеридов (олеил-олеил-олеат, ООО, олеил-олеил-пальмитат (ОПП) и пальмитоил-олеил-пальмитат (ПОП)) является существенно более высокой. С наиболее высокой скоростью реакции постгепариновая ЛПЛ и ее кофактор апоС-II гидролизуют в кровотоке, в ЛПОНП именно ООО.

Секреция гепатоцитами пальмитиновых, олеиновых, линолевых и линоленовых ЛПОНП

Физиологично в пище человека доминируют Пальм НЖК, олеиновая МЖК, ω -6 С18:2 эссенциальная линолевая ННЖК с двумя ДС (ННЖК) и ω -6 С18:3 линоленовая ННЖК с тремя ДС, эссенциальные ω -6 С20:4 арахидоновая ПНЖК с четырьмя ДС и ω -3 С22:5 эйкозапентаеновая ПНЖК с пятью ДС. Содержание их в пище ЖК (усредненно) соотносится как

**пальмитиновая НЖК + олеиновая МЖК — 100
линолевая + линоленовая ННЖК — 10
арахидоновая + эйкозапентаеновая ПНЖК — 1.**

В силу выраженного различия пространственной, стерической формы молекул ТГ, апоВ-100 в гепатоцитах, вместе с микросомальным белком, переносящим триглицериды, в канальцах эндоплазматической цепи, разделяют и формируют пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ЛПОНП. Усредненное содержание в плазме крови ЛПОНП соотносится как

**пальмитиновые + олеиновые ЛПОНП — 100
линолевые + линоленовые ЛПОНП — 10.**

Согласно филогенетической теории общей патологии, линолевые и линоленовые ЛПОНП сформировались на более ранних ступенях филогенеза, чем пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП. При отсутствии биологической функции локомоции (движение за счет сокращения скелетных, поперечнополосатых, электровозбудимых миоцитов) поглощали ЖК с пищей в отношении

НЖК + МЖК и ННЖК + ПНЖК \approx как 1 : 1.

Линолевые и линоленовые ЛПОНП → ЛПНП стали переносить к клеткам все ЖК (НЖК + МЖК + ННЖК) в форме неполярных триглицеридов. Клетки активно поглощают их путем апоВ-100 рецепторного эндоцитоза.

Инсулин и поглощение клетками НЖК + МЖК в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП; апоЕ/В-100 эндоцитоз

На более поздних ступенях филогенеза при становлении биологической функции локомоции, формировании системы инсулина и инсулинозависимых клеток (скелетные миоциты, кардиомиоциты, адипоциты подкожной жировой ткани, перипортальные гепатоциты и макрофаги Купфера) содержание в пище Пальм НЖК + олеиновой МЖК увеличилось на порядок. В это время инсулин, исполняя делегированную ему биологической функцией функцию — обеспечение энергией биологической функции локомоции, экспрессировал синтез апоЕ и сформировал новый класс ЛП — ЛПОНП; функция ЛПОНП полностью зависима от инсулина. Только инсулинзависимые клетки поглощают филогенетически поздние ЛПОНП путем нового, апоЕ/В-100 эндоцитоза. Клетки стали поглощать ЛПОНП путем филогенетически позднего апоЕ/В-100 эндоцитоза. В рассуждения

мы не включили С18:0 стеариновую НЖК, стеариновые ТГ и одноименные ЛПОИП; содержание их мало, и функционально они — промежуточные между пальмитиновыми и олеиновыми. Кроме того, многие клетки быстро превращают поглощенную стеариновую НЖК в олеиновую МЖК.

В физиологических условиях ни пальмитиновые, ни олеиновые ЛПОИП не обретают плотность ЛПНП; в крови не бывает физиологично олеиновых и пальмитиновых ЛПНП. НЖК + МЖК инсулинзависимые клетки поглощают в форме пальмитиновых и олеиновых, лигандных ЛПОИП. Физиологично плотность ЛПНП приобретают только линолевые и линоленовые ЛПОИП. С поздних ступеней филогенеза, при действии инсулина, клетки разделяют: а) НЖК + МЖК в ТГ в составе ЛПОИП путем апоЕ/В-100 эндоцитоза; б) ННЖК + ПНЖК тоже в форме ТГ, но в ЛПНП и путем апоВ-100 эндоцитоза. Это происходит так, если содержание в пище Пальм НЖК не превышает физиологичных 15% количества ЖК. Чем больше в пище олеиновой МЖК и меньше Пальм, тем более низок уровень ТГ и короче время гиперлипидемии после приема пищи. Физиологично через 4–5 час. после еды клетки поглощают из плазмы крови все олеиновые и пальмитиновые лигандные ЛПОИП; концентрация ТГ снижается на порядок; в крови остаются только линолевые и линоленовые ЛПОИП. Как это происходит?

Формирование в крови пальмитиновых и олеиновых ЛПОИП; лиганд апоЕ/В-100

Соответственно филогенетической теории общей патологии, единой технологии становления в филогенезе функциональных систем, все ЛП (ЛПВП, ЛПНП и ЛПОИП) построены по единому принципу; ЛП — это бислой белок: липид. Такое построение ЛП является облигатным; только структура бислоя дает возможность понять функциональное значение конформационных изменений, которые при переносе к клеткам ЖК претерпевает апоВ-100, связывая разные количества разных по гидрофобности и размерам полярных и неполярных эфиров со спиртами ГЦ и только неполярных эфиров со спиртом ХС -ЭХС. Физиологичным отличием апопопротеинов (апо) от всех иных белков является способность исходно глобулярного апо в ассоциации с гидрофобными липидами формировать форму «диска», одна сторона которого становится гидрофобной, вторая — гидрофильной. Толщину диска образуют многочисленные β-складчатые повторы из 11 остатков аминокислот. На гидрофобной стороне диска α-спиральные структуры связывают ТГ, объем которых во много раз превышает объем самого апоВ-100. На гидрофильной стороне — формируется домен-лиганд.

Гепатоциты одновременно секретируют в кровь пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые

ЛПОИП; все они физиологично перегружены ТГ. Избыток ТГ не позволяет апоВ-100 сформировать апоВ-100 домен-лиганд. Все ЛПОИП при секреции гепатоцитами являются безлигандными — прелигандными. В крови с пальмитиновыми и олеиновыми ЛПОИП связываются постгепариновая ЛПЛ и кофактор апоС-II; они гидролизуют часть ТГ. Освобожденные Пальм и олеиновую ЖК в форме НЭЖК связывает альбумин; полярные же ДГ при действии БПЭХ переходят в полярные по структуре ЛПВП. Когда в ассоциации с апоВ-100 остается оптимальное количество ТГ, апоВ-100 быстро принимает активную конформацию и в ассоциации с инсулинзависимым апоЕ, в пальмитиновых и олеиновых ЛПОИП формируется кооперативный апоЕ/В-100 лиганд. ЛПОИП поглощают инсулинзависимые клетки, выставляя на плазматическую мембрану кооперативные апоЕ/В-100 рецепторы. Так произошло формирование последнего в филогенезе, векторного переноса и поглощение клетками субстратов для наработки энергии — НЖК + МЖК. Поглощая один ЛПОИП, инсулинзависимый, скелетный, поперечно-полосатый миоцит (кардиомиоцит) получает ≈ 3000 молекул ТГ, т.е. ≈ 9000 ЖК. В физиологичных условиях ни пальмитиновые, ни олеиновые ЛПОИП в ЛПНП не превращаются.

Формирование в крови линолевых и линоленовых ЛПНП; домен-лиганд апоВ-100 и активное поглощение клетками ННЖК + ПНЖК

Линолевые и линоленовые ЛПОИП, как и пальмитиновые, олеиновые ЛПОИП, при секреции в кровь физиологично перегружены ТГ; все они являются безлигандными — прелигандными. Гидролиз избытка ТГ в линолевых и линоленовых ЛПОИП активируют печеночная ЛПЛ и ее кофактор апоС-III. Липолиз происходит более медленно, чем в олеиновых и пальмитиновых ТГ. Гидролиз линолевых и линоленовых триглицеридов в большей мере активирует переход из ЛПВП в ЛПОИП всех ПНЖК в неполярной форме ЭХС (поли-ЭХС); инициирует его БПЭХ. Переход происходит в составе тройственного ассоциата ЛПВП+ БПЭХ+ ЛПОИП. Более гидрофобные, меньше по размерам поли-ЭХС: а) «вытесняют» ТГ из связи с апоВ-100 и активируют их липолиз; б) инициируют превращение линолевых и линоленовых ЛПОИП в одноименные ЛПНП; в) формирование активной конформации апоВ-100 и г) выставление на поверхность апоВ-100 лиганда. Связывая лигандные линолевые и линоленовые ЛПНП одноименными рецепторами, клетки активно их поглощают со всеми ННЖК и ПНЖК. У приматов и человека это основной путь активного поглощения клетками ПНЖК. Избыточное количество в пище Пальм НЖК способно блокировать апоВ-100 рецепторный эндоцитоз ПНЖК. Как же это происходит?

Блокада избытком пальмитиновой НЖК пищи рецепторного поглощения клетками ПНЖК; синдром атеросклероза

В пище, как изложено выше, физиологичное содержание экзогенной Пальм НЖК, пальмитиновых ТГ и одноименных ЛПОНП во много раз больше суммы линолевых + линоленовых ЛПОНП. В физиологичных условиях через 4–5 часов после еды в крови уже нет ни олеиновых, ни пальмитиновых ЛПОНП. При этом ПНЖК в форме поли-ЭХС переходят из ЛПВП только в линолевые и линоленовые ЛПОНП; в крови их не столь много. Поли-ЭХС иницируют: а) превращение линолевых и линоленовых ЛПОНП в одноименные ЛПНП; б) активную конформацию апоВ-100; в) формирование и выставление на поверхность ЛП апоВ-100 лиганда. Связывая его одноименными рецепторами, клетки активно поглощают ЛПНП со всеми переносимыми ими ННЖК + ПНЖК.

При избыточном содержании пальмитиновой НЖК в пище, пальмитиновых ТГ в гепатоцитах и одноименных ЛПОНП с высоким содержанием ППО и ППП гидролиз происходит медленно; в крови постоянно присутствуют пальмитиновые ЛПОНП. Являясь неоптимальным субстратом для постепариновой ЛПЛ+апоС-II, медленный гидролиз пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП не иницирует активную конформацию апоВ-100 и не формирует апоЕ/В-100 лиганд. Образующиеся в крови пальмитиновые ЛПНП остаются прелигандными (безлигандными); клетки поглотить их не могут. Наличие афизиологичных пальмитиновых ЛПНП — основная причина повышения в плазме крови ХС-ЛПНП; повышается при этом и концентрация в плазме крови ТГ. Физиологично содержание в крови линолевых + линоленовых ЛПОНП, как правило, всегда стабильно и не является высоким. Избыток в пище Пальм НЖК — наиболее частая причина повышения в плазме крови ХС-ЛПНП, исключая, конечно, врожденные нарушения метаболизма.

Когда в крови после еды длительно (постоянно) остаются пальмитиновые ЛПНП, ПНЖК в форме поли-ЭХС из ЛПВП переходят не только в физиологичные линолевые и линоленовые, но и в пальмитиновые ЛПНП. Содержание последних в крови может быть выше, чем линолевых + линоленовых ЛПНП. В этих условиях всех переходящих из ЛПВП поли-ЭХС оказывается недостаточно для формирования лигандных ЛПНП и поглощения клетками ПНЖК. В кровотоке формируется масса безлигандных (прелигандных) пальмитиновых + линолевых + линоленовых ЛПНП, которые не могут поглотить клетки. Не формируя лиганд, все ЛПНП становятся в крови «биологическим мусором». Так, мы полагаем, избыток в пище Пальм НЖК физико-химически, конкурентно понижает биодоступность для клеток ПНЖК. Избыточное количество в пище Пальм НЖК является основной причиной де-

фицита в клетках ПНЖК, формирования синдрома атеросклероза и его клинического симптома — атероматоза интимы артерий эластического типа.

Атероматоз интимы артерий эластического и смешанного типов, ЖК в липидах; атеросклероз и атероматоз

Формирование атероматоза интимы артерий является результатом реализации биологической функции эндоэкологии — поддержания «чистоты» межклеточной среды. Если массу прелигандных (безлигандных) пальмитиновых + линолевых + линоленовых ЛПНП не могут поглотить клетки рецепторным путем, монослой эндотелия выводит их из крови, реализуя биологическую реакцию транцитоза. Интима артерий эластического типа функционально является пулом сбора, утилизации всего биологического «мусора» из внутрисосудистого, локального пула межклеточной среды. Прежде чем безлигандные ЛПНП будут удалены из кровотока, Толл-подобные рецепторы на мембране иммунокомпетентных клеток, которые дифференцируют белки по принципу «свой — не свой», определяют ЛПНП как «не свои». Далее циркулирующие в крови нейтрофилы реализуют биологическую реакцию «респираторного взрыва»; они нарабатывают активные формы O_2 и физиологично денатурируют безлигандные ЛПНП путем окисления апоВ-100, образуя в каждом из ЛП афизиологичный эпитоп, иммунную метку. Одновременно же происходит перекисное окисление в ЛПНП двойных связей в ННЖК и ПНЖК — процесс физиологичной денатурации ЛПНП как макромолекул белка. Далее компоненты системы комплемента опсонизируют физиологично денатурированные ЛПНП, а эндотелий путем транцитоза выводит их в интиму артерий. Для того чтобы ЛПНП не возвратились в кровотоки, их необратимо связывают протеогликаны интимы артерий.

Оседлые макрофаги интимы, секретировав в матрикс металлопротеиназы, реализуют филогенетически раннюю биологическую реакцию «внеклеточного пищеварения». Ферменты гидролизуют протеогликаны матрикса интимы вместе с сорбированным биологическим «мусором» (иммунные комплексы, тельца апоптоза, молекулы АСТ, АЛТ ЩФ и КК, гаптоглобин + гемоглобин, бактериальные липополисахариды + связующий белок). Образующий гидролизат путем эндоцитоза поглощают и утилизируют оседлые макрофаги. Далее гладкомышечные клетки меди мигрируют в интиму артерий, изменяют свой фенотип и из сократительных становятся секреторными. Синтезируя комплекс протеогликанов, они восстанавливают целостность матрикса интимы артерий.

В интиму артерий локализованы филогенетически ранние макрофаги; физиологично они поглощают ЖК из ЛПВП в форме только полярных липидов. Макрофаги не имеют на мембране апоВ-100 рецепторов; не имеют они в лизосомах и кислых гидролаз для поли-ЭХС. На-

копление негидролизуемых макрофагами ПНЖК в форме поли-ЭХС в цитозоле формирует «пенистые» клетки; гибель их по типу некроза приводит к деструктивно-воспалительному поражению интимы — атероматозу. При высоком остаточном содержании в ЛПНП триглицеридов в интими формируется поражение по типу атеротромбоза и образуются бляшки, которые склонны к разрыву с формированием тромбоза артерий. В интими, в атероматозной массе липидов преобладают ЖК с длиной не более С18. Однако расположение в них ДС показывает, что это бывшие арахидоновая, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая ПНЖК. Это те ПНЖК, которые физиологично переносят линолевые и линоленовые ЛПНП и которые в лигандных ЛПНП физиологично поглощают клетки путем апоВ-100 эндоцитоза. Атеросклероз развивается в клетках *in vivo*, которые лишены возможности специфично поглощать ЛПНП. Атероматоз же формируется в тех клетках, которые неспецифично в форме биологического «мусора» поглощают ПНЖК в форме поли-ЭХС; использовать по назначению их они, однако, не могут. Атеросклероз и атероматоз — это разные понятия; однако пока мы их должным образом не различаем.

Пальмитиновые безлигандные (прелигандные) ЛПОНП → ЛПНП с нарушенным составом ЖК (преобладание пальмитиновых ТГ как ПОП и ППП), с неактивной конформацией апоВ-100 афизиологично долго циркулируют в крови. За это время апоВ-100 в ЛПНП подвергается химической модификации при действии повышенной концентрации в крови глюкозы, гликотоксина (глиоксаль и метилглиоксаль), сиаловых кислот, малонового диальдегида и Пальм НЖК в форме НЭЖК в мицеллах свободных ЖК. Это приводит к формированию в апоВ-100 дополнительных антигенных детерминант и, вероятно, ускоряет удаление безлигандных ЛПНП из кровотока. При длительной циркуляции в крови модифицированных ЛПНП показана и выработка иммунокомпетентными клетками антител. Однако существенного значения в патогенезе атеросклероза и атероматоза модификация ЛПНП не имеет; оседлые макрофаги интимы поглощают все опсонизированные в крови ЛПНП как макромолекулы белка, используя для этого сквенджер-рецепторы — рецепторы-«мусорщики».

Различие метаболизма экзогенной пальмитиновой НЖК пищи и эндогенно синтезированной из углеводов, из глюкозы

В течение сотен миллионов лет в филогенезе, при жизни в холодных водах мировых океанов, содержание Пальм НЖК в растительной и животной пище не превышало 15% всего количества ЖК. Больше поступление с пищей Пальм НЖК, как, впрочем, и хлорида натрия, было нереально; поэтому на ступенях филогенеза *in vivo* организмы не сформировали «антипальмитиновую защиту». Когда же в условиях современного пита-

ния, технологии приготовления пищи «fast food», количество Пальм НЖК стало превышать 50% всех ЖК, оказалось, что механизмов противостояния этому *Homo sapiens* не имеет. Гепатоциты имеют органеллы, которые оптимизируют поступающие с пищей ЖК; это касается только афизиологичных ЖК. Последние связываются на мембране ядра гепатоцитов с рецепторами активации пролиферации пероксисом (РАПП) и экспрессируют синтез в микросомах комплекса α -, β - и ω -оксидазы; в пероксисомах оксидазы окисляют все афизиологичные ЖК пищи. Специфичными, природными экзогенными агонистами РАПП, которые повышают окисление в пероксисомах Пальм НЖК, являются эссенциальные ПНЖК, флавоны, флаваноиды, кверцетины, α -липовая (тиоктовая) ЖК; в пище их, однако, мало.

Физиологично Пальм НЖК с рецепторами на мембране ядра гепатоцитов не связывается. При действии пальмитоил-КоА-дегидрогеназы *in vivo* Пальм НЖК превращается в С16:1 ω -7 пальмитолеиновую, явно афизиологичную МЖК. Особенно нежелательны для взрослого человека жиры коровьего молока; это специфичная еда только для раннего постпубертатного периода онтогенеза. Они содержат много ТГ, в которых Пальм НЖК этерифицирована в sn-2 позиции спирта ГЦ. Однако биология не предполагала, что *Homo sapiens* из млекопитающего станет превращаться в млекопитающегося. Не дело в течение всего онтогенеза метаболически оставаться ребенком; такой возможности у организма нет. Богатое Пальм НЖК и пальмитиновыми ТГ материнское молоко для всех млекопитающих — оптимальная, физиологичная пища только для детей, для раннего постнатального периода, для возраста ребенка до года. Ферменты метаболизма пальмитиновых триглицеридов *in vivo* экспрессированы у ребенка в возрасте до года; экспрессия их происходит и позже в онтогенезе, но только при высокой физической активности.

Все описанное выше происходило в филогенезе до инсулина; ранее синтеза гормона и инсулинозависимых клеток. Биологическое предназначение инсулина — обеспечение энергией биологической функции локомоции. Когда на поздних ступенях филогенеза синтезирован инсулин, регуляция метаболизма глюкозы *in vivo* была завершена; места для инсулина не осталось. Поэтому инсулин стал, в первую очередь, регулировать метаболизм ЖК, совершенствовать депонирование и улучшать параметры субстратов — ЖК, а во вторую, опосредованно через ЖК регулировать и метаболизм глюкозы. *In vivo* имеется только два субстрата для образования ацетил-КоА, окисления в митохондриях и синтеза АТФ: это ЖК (НЖК + МЖК) и глюкоза. Инсулин регулирует метаболические превращения обоих субстратов, но в первую очередь НЖК+МЖК. С позиций биологической функции локомоции, важным в действии инсулина является превращение всей синтезированной *in vivo* из глюкозы Пальм НЖК в олеиновую МЖК.

Все клетки *in vivo* из глюкозы, из ацетил-КоА могут синтезировать *in situ de novo* только Пальм НЖК и не более. Далее инсулин экспрессирует синтез пальмитоил-элонгазы, которая превращает С16:0 Пальм НЖК в С18:0 стеариновую НЖК. Далее инсулин экспрессирует синтез стеарил-КоА-десатуразы и превращает стеариновую НЖК в С18:1 олеиновую МНЖК. И если до инсулина основным субстратом для окисления в митохондриях являлась Пальм НЖК, то при действии инсулина ею стала олеиновая МЖК. Какие же преимущества имеет окисление в митохондриях олеиновой МЖК, по сравнению с Пальм НЖК?

Различие кинетических параметров окисления *in vitro* Пальм НЖК и олеиновой МЖК

Много лет ранее создание и использование автоматического титратора двойных связей озонном позволило нам установить константы скорости окисления индивидуальных ЖК; они оказались существенно разными:

С16:0 пальмитиновая ЖК — $6,0 \times 10^2$ л/моль. сек.;

С18:1 олеиновая ЖК — $1,0 \times 10^6$ л/моль. сек.;

С18:2 линолевая ЖК — $6,1 \times 10^4$ л/моль. сек.;

ω 6 С20:4 арахидоновая ЖК — $2,4 \times 10^5$ л/моль. сек.

И хотя это модельные эксперименты *in vitro*, однако различие константы скорости окисления олеиновой кислоты, по сравнению с Пальм, на много порядков дает возможность обоснованно говорить, что и в биологических системах это различие остается существенным. Реально полагать, что и β-окисление олеиновой МЖК в матриксе митохондрий происходит с намного более высокой константой скорости реакции, чем пальмитиновой НЖК. Одновременно скорость окисления С18:2 линолевой ННЖК оказывается достоверно ниже, чем олеиновой; в силу, отчасти, различий в структуре, числе ДС и их расположении, скорость окисления С20:4 Арахидоновая ЖК не столь высока, как для С18:1 олеиновой ЖК. Можно заключить, что ни линолевая ННЖК, ни арахидоновая ПНЖК не являются субстратами для окисления в митохондриях; органеллы с наиболее высокой скоростью и потенциальными возможностями окисляют олеиновую МЖК. Автоматическое титрование O_3 , примененное нами первыми, позволило установить константы скорости окисления индивидуальных ЖК.

Пальмитиновый и олеиновых варианты метаболизма *in vivo* ЖК и снабжения клеток АТФ

Если мы расставим все пальмитиновые и олеиновые ТГ в порядке возрастания константы скорости гидролиза их при действии постгепариновой ЛПЛ + апоС-II, получится последовательность:

ППП — ППО — ПОП — ОПП — ООП — ООО

(пальмитоил-пальмитоил-пальмитат глицерол, пальмитоил-пальмитоил-олеат, пальмитоил-олеил-пальмитат, олеил-пальмитоил-пальмитат, олеил-олеил-пальмитат, олеил-олеил-олеат глицерол). Этот спектр

включает количественно самые большие формы ТГ, к которым надо добавить меньшее количество стеариновых, линолевые и линоленовые ТГ. Однако ЛПОНП не содержат линолевые и линоленовые ТГ, а стеариновые — переходные формы между пальмитиновыми и олеиновыми. На основании наших исследований и данных литературы, мы предлагаем, в первом приближении, рассматривать изменения в спектре ТГ с позиции сдвига вправо и сдвига влево. При нежелательном сдвиге влево в ЛПОНП возрастает количество пальмитиновых ТГ, вплоть до афизиологичного ППП. При желательном сдвиге влево в ЛПОНП возрастает содержание олеиновых ТГ, вплоть до наиболее желательного ООО.

Давая физико-химическую характеристику ППП, укажем на температуру плавления, равную +48 °С; можно понять, сколь трудно *in vivo* осуществить гидролиз этого ТГ. В противоположность этому, температура плавления ООО составляет минус 15 °С; скорость гидролиза его в ЛПОНП при действии постгепариновой ЛПЛ наиболее высока. Заметим, что разница между температурой плавления ППП и ООО составляет более 60 °С; это и определяет различия в кинетике гидролиза индивидуальных ТГ. В приведенной последовательности температура плавления триглицеридов изменяется ≈ 10 °С; в такой же мере, можно полагать, понижается и константа скорости гидролиза ТГ в крови, в апоВ-100 ЛП при действии постгепариновой ЛПЛ + кофактора апоС-II. Данных о константе скорости гидролиза индивидуальных ТГ в литературе нет.

Чем выше отношение: а) олеиновая МЖК/Пальм НЖК, б) олеиновые/пальмитиновые ТГ и в) олеиновые/пальмитиновые ЛПОНП в плазме крови, тем ниже ХС-ЛПНП, а гипертриглицеридемия менее выражена и более короткая. Из последовательности индивидуальных пальмитиновых и олеиновых ТГ, которая приведена выше, можно понять, что чем более выражен «сдвиг влево», в сторону более насыщенных ТГ, вплоть до ППП, тем выше ХС-ЛПНП. И наоборот, чем более выражен сдвиг вправо, с преобладанием олеиновых ТГ, вплоть до ООО, тем менее значителен и длителен будет ХС-ЛПНП и высокий уровень ТГ. Короче говоря, чем выше содержание Пальм НЖК в пище, тем более высоким будет ХС-ЛПНП. Механизмы этого изложены выше. Когда лаборатория определяет ХС-ЛПНП при повышенном ТГ в крови, это не высокий ХС линолевых + линоленовых ЛПНП; это ХС афизиологичных пальмитиновых ЛПНП.

Сотни граммов пальмитиновых и олеиновых ТГ, которые необходимы как субстраты для наработки клетками энергии, имеют двоякое происхождение: а) экзогенные ТГ поступают с животной пищей и б) эндогенные ТГ клетки синтезируют *in situ de novo* из углеводов пищи, из глюкозы. Однако по составу индивидуальных ТГ «мясо мясу — рознь»; спектр их ТГ существенно разный. На рисунке 2.1 в форме хроматограмм приведено

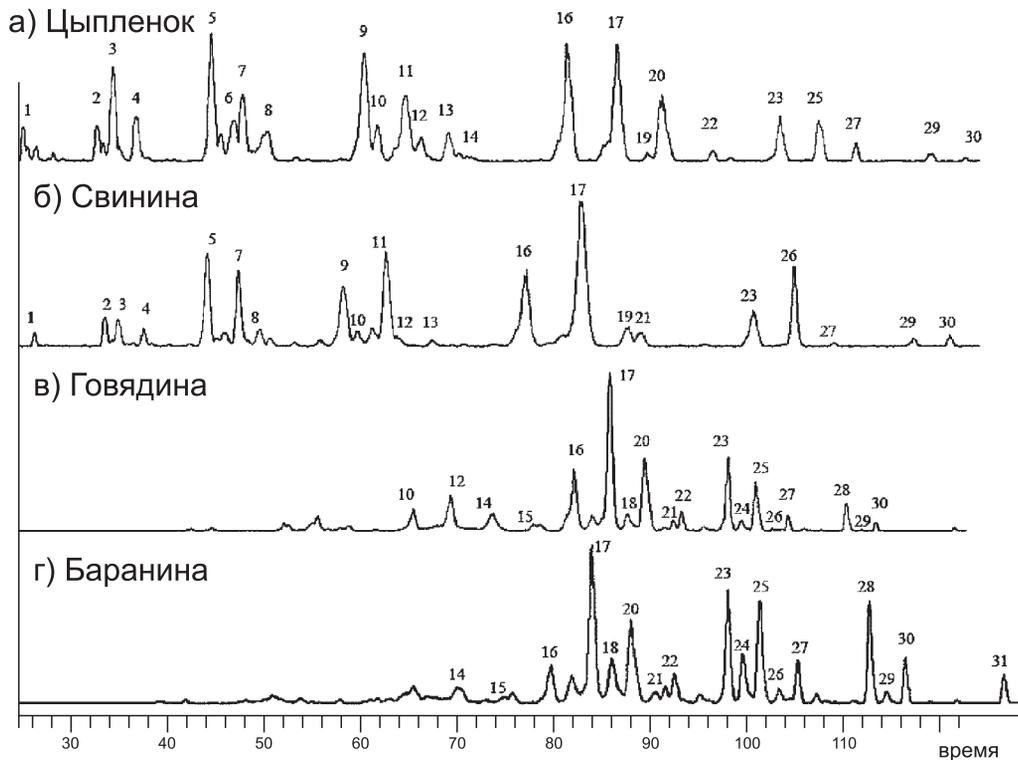


Рис. 2.1. Хроматограммы индивидуальных триглицеридов ТГ в мясе цыпленка, в свинине, говядине и баранине. Ось ординат — время (Rf) в мин

содержание ТГ в мясе (скелетных миоцитах) цыпленка, поросенка, в говядине и баранине. В мясе цыпленка и свинине существенно выше содержание линолевых и линоленовых ТГ и меньше пальмитиновых. В говядине отсутствуют линолевые и линоленовые ТГ и велико содержание пальмитиновых ТГ. Казалось бы, ТГ в говядине схожи с бараниной; однако это не так. В говядине высоко содержание Пальм НЖК и пальмитиновых ТГ, а в баранине — С 18:0 стеариновой НЖК и стеариновых ТГ. Функционально это различие является существенным.

Пальмитиновые, прелигандные ЛПНП и атеротромбоз интимы артерий; пальмитиновые, постлигандные ЛПНП и атероматоз интимы

При афизиологично высоком содержании в пище пальмитиновых ТГ в одноименных ЛПОНП, при медленном липолизе они длительно циркулируют в крови. АпоВ-100 вне гидролиза ТГ не может принять активную конформацию и сформировать апоЕ/В-100 лиганд; пальмитиновые ЛПОНП постепенно приобретают гидратированную плотность ЛПНП и при снижении содержания ТГ формируются постлигандные пальмитиновые ЛПНП. В результате, пальмитиновые ЛПОНП превращаются в малые, атерогенные ЛПНП. Определить их в плазме крови можно методом ядерной магнитной резонансной спектроскопии; ЛПНП содержат 4 субкласса

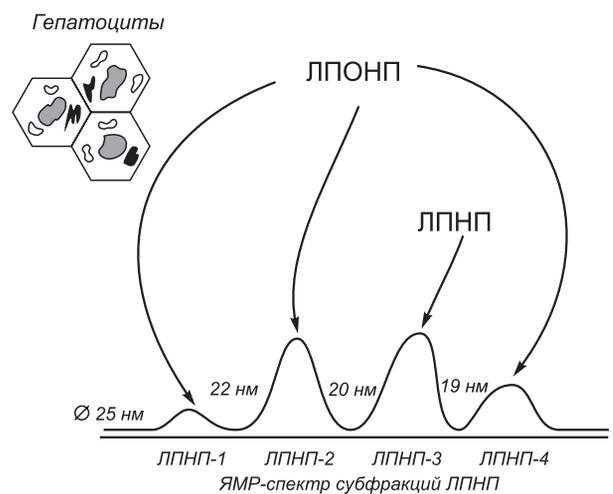


Рис. 2.2. Разделение ЛПНП методом ядерной магнитной резонансной спектроскопии.

Предшественники субклассов:

- ЛПНП-1 — олеиновые ЛПОНП при фенотипе апоЕ 2/Е 2;
- ЛПНП-2 — прелигандные пальмитиновые ЛПНП при высоком содержании триглицеридов как ПОП и ПОО;
- ЛПНП-3 — физиологичные линолевые и линоленовые ЛПНП;
- ЛПНП-4 — постлигандные малые, плотные, пальмитиновые ЛПНП.

разной величины и гидратированной плотности (рис. 2.2), которые в разной мере задействованы в формировании атероматоза и атеротромбоза.

Инсулин;

замена пальмитинового варианта метаболизма ЖК на высокоэффективный олеиновый вариант

При пальмитиновом варианте метаболизма ЖК, в биологической реакции экзотрофии, в период реализации биологических функций адаптации, биологических реакций компенсации и стресса, нарушение биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии может приводить к тому, что: а) медленный перенос в ЛП, б) неоптимальный гидролиз пальмитиновых триглицеридов; в) нарушение рецепторного поглощения клетками ЛПНП; г) сложности переноса Пальм НЖК через внутреннюю мембрану митохондрий и д) низкие параметры окисления ЖК в матриксе митохондрий могут стать причиной потенциального дефицита *in vivo* ацетил-КоА как субстрата для синтеза АТФ в цикле Кребса. При пальмитиновом варианте метаболизма ЖК, при состоянии стресса митохондрии, при дефиците субстрата — ацетил-КоА, могут не обеспечить синтез *in vivo* потенциально необходимого количества АТФ. При олеиновом варианте метаболизма ЖК кинетические параметры всех реакций метаболизма ЖК, включая образование ацетил-КоА из олеиновой МЖК в матриксе митохондрий, протекают со столь высокой константой скорости реакции, что синтез *in vivo* АТФ ограничен только филогенетически ранними параметрами цикла Кребса, параметрами дыхательной цепи митохондрий.

В условиях пальмитинового варианта метаболизма ЖК, по сравнению с олеиновым, в биологических реакциях задействованы те же ферменты с теми же функциональными параметрами. Не оптимальными являются только свойства субстрата (Пальм НЖК); это и есть причина того, что все биохимические и физико-химические реакции протекают настолько медленно, что в цитозоле клеток формируется дефицит НЭЖК, дефицит ацетил-КоА и снижен синтез АТФ. И пока *in vivo*, при нарушении функции питания (трофологии) доминирует пальмитиновый вариант метаболизма ЖК, филогенетически ранние жировые клетки паракринных сообществ, даже в биологической реакции экзотрофии, при гиперлипидемии после еды вынуждены активировать липолиз в жировых клетках сальника, компенсаторно увеличивая в крови содержание ЖК в форме НЭЖК.

Несоответствие: а) высоких потребностей в АТФ в паракринных сообществах клеток и б) функциональных возможностей системы ЛП (переноса ЖК и поглощения клетками), на уровне организма является основой того, что при пальмитиновом варианте метаболизма ЖК (субстратов для наработки клетками энергии) биоло-

гическая реакция эндотрофии вынуждена постоянно компенсировать недостаток субстратов для клеток (МЖК и НЖК) и в биологической реакции экзотрофии. Напомним, что филогенетически ранние жировые клетки висцерального депо не имеют рецепторов к инсулину; гормон не может блокировать липолиз в жировых клетках сальника. Инсулин ингибирует липолиз только в инсулинозависимых адипоцитах подкожного депо жировой ткани. Поэтому инсулин, реализуя обеспечение энергией биологической функции локомоции, осуществил замену филогенетически раннего, потенциально малоэффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК на потенциально высокоэффективный олеиновый вариант.

Почему же клетки *in vivo* из глюкозы синтезируют только Пальм НЖК?

Согласно филогенетической теории общей патологии, один из первых океанов на земле, в котором стали развиваться архибактерии и произошло формирование митохондрий с функцией дыхательной цепи, был теплым; температура его составляла 36–42 °С, и этот океан был магниевым. Эта температура соответствует изоволюметрическому интервалу для воды; при повышении температуры объем воды увеличивается минимально. Для функции в этих условиях мембрана архибактерий должна быть тугоплавкой; это возможно при высоком содержании пальмитиновой НЖК в фосфолипидах. При жизни в этом океане клетки и отработали сложный многоэтапный синтез из глюкозы Пальм НЖК. Согласно биологическому принципу преемственности, синтез стал универсальным. Поскольку Пальм НЖК трудно переносить через внутреннюю мембрану митохондрий, для нее клетки сформировали специфичную систему переноса — карнининпальмитоил-ацилтрансферазу. Температура последующих калиевого и натриевого мировых океанов стала много ниже; в натриевом океане она составляла всего 4–6 °С. Однако изменить синтез Пальм НЖК в филогенезе возможности нет; поэтому животные клетки отработали синтез из Пальм НЖК более длинных (С20 и С22) и более ненасыщенных ННЖК и ω-3 ПНЖК с пятью, шестью ДС, температура плавления которых ниже нуля. Их клетки и использовали для построения мембран. При выходе на сушу, где растения не синтезировали ω-3 ПНЖК и температура воздушного океана было более теплой, клетки «отыграли назад» и сформировали синтез более короткой и с меньшим числом ДС — ω-6 С20:4 арахидоновой ПНЖК. Ее и использовали для построения плазматической мембраны клеток на суше.

Список литературы

1. Амелюшкина В.А., Рожкова Т.А., Титов В.Н. Пальмитиновый и олеиновый варианты метаболизма жирных кислот. Экзогенный синдром резистентности к инсулину при нарушении биологической функции питания (трофологии) // Клинико-лаб. диагностика. 2013; 7: 3.
2. Ариповский А.В., Титов В.Н. Физиология среднепечочных жирных кислот, особенности метаболизма и применение в клинике // Клинико-лаб. диагностика. 2013; 6: 3.
3. Добрецов Г.Е., Дергунов А.Д. Пространственная структура дискоидальных липопротеинов высокой плотности // Биол. мембраны. 2001; 18 (5): 339.
4. Колчанов Н.А., Воевода М.И., Кузнецова Т.Н., Мордвинов В.А., Игнатъева Е.В. Генные сети липидного метаболизма // Бюлл. СО РАМН. 2006; 2: 29.
5. Кухарчук В.В., Малышев П.П., Мешков А.Н. Семейная гиперхолестеринемия: современные аспекты диагностики, профилактики и лечения // Кардиология. 2009; 49: 76.
6. Поляков Л.М., Панин Л.Е. Аполипопротеин Е: структура и функции // Успехи совр. биологии. 1998; 118 (6): 743.
7. Творогова М.Г., Васин П.В., Рожкова Т.А., Кухарчук В.В., Титов В.Н. Липидный состав липопротеинов высокой плотности при наследственных гиперлипопротеинемиях // Вопросы мед. химии. 1998; 44 (5): 452–458.
8. Титов В.Н. Атеросклероз — проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и эндозеологии // Успехи совр. биологии. 2009; 129 (2): 124.
9. Титов В.Н. Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище — основная причина повышения холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий // Атеросклероз и дислипидемии. 2012; 3: 48.
10. Титов В.Н. Атеросклероз и артериолосклероз – патология проксимального и дистального отделов артериального русла / Изданная рукопись. М., 2010: 424 с.
11. Титов В.Н. Единение физико-химического и биологического действия спиртов глицерина и холестерина в поглощении клетками жирных кислот. Особенности патогенеза «метаболических пандемий» // Клинико-лаб. диагностика. 2013; 1: 3.
12. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз // М.: ИНФРА-М, 2014: 236 с.
13. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий. Сахарный диабет // М.: ИНФРА-М, 2014: 222 с.
14. Титов В.Н., Востров И.А., Ширяева Ю.К., Каба С.И. Становление в филогенезе липопротеинов низкой, очень низкой плотности и инсулина. Липотоксичность жирных кислот и липидов. Позиционные изомеры триглицеридов // Успехи совр. биологии. 2012; 132 (5): 516.
15. Annema W., Dijkers A., Freark de Boer J., Gautier T., Gautier T., Rensen P.C., Rader D.J., Tietge U.J. ApoE promotes hepatic selective uptake but not RCT due to increased ABCA1-mediated cholesterol efflux to plasma // J. Lipid. Res. 2012; 53 (5): 929.
16. Bestel C., Heinrich K., Rohrer L., Doerries C., Riwanto M., Shih D.M., Chroni A., Yonekawa K., Stein S. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease // J. Clin. Invest., 2011; 121 (7): 2693.
17. Bestel C., Luscher T.F., Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of high-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease // EMBO Mol. Med. 2012; 4: 251.
18. Crook M.A. A place for assaying serum apolipoprotein AI and B? // Ann. Clin. Biochem. 2011; 48 (5): 485.
19. Demignot S., Beilstein F., Morel R. Triglyceride-rich lipoproteins and cytosolic lipid droplets in enterocytes: Key players in intestinal physiology and metabolic disorders // Biochimie. 2013; 96: 48.
20. Dmitriev L.F., Titov V.N. Lipid peroxidation in relation to ageing and the role of endogenous aldehydes in diabetes and other age-related diseases // Ag. Res. Rev. 2010; 9 (2): 200.
21. Fujiwara S., Amisaki T. Fatty acid binding to serum albumin: molecular simulation approaches // Biochim. Biophys. Acta. 2013; 1830 (12): 5427.
22. Goldberg I.J., Bornfeldt K.E. Lipids and the endothelium: bi-directional interactions // Curr. Atheroscler. Rep. 2013; 15 (11): 365.
23. Hoofnagle A.N., Heinedie J.W. Lipoproteomics: using mass spectrometry-based proteomics to explore the assembly, structure, and function of lipoproteins // J. Lipid. Res. 2009; 50 (10): 1967.
24. Hopkins P.N. Molecular biology of atherosclerosis // Physiol. Rev. 2013; 93 (3): 1317.
25. Hussain M.M., Rava P., Walsh M., Rana M., Iqbal J. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein // Nutr. Metab. 2012; 9: 14.
26. Jensen M.K., Rimm E.B., Furtado J.D., Sacks F.M. Apolipoprotein C-III as a Potential Modulator of the Association Between HDL-Cholesterol and Incident Coronary Heart Disease // J. Am. Heart. Assoc. 2012; 1 (2): 232.
27. Karupaiah T., Sundram K. Modulation of human postprandial lipemia by changing ratios of polyunsaturated to saturated (P/S) fatty acid content of blended dietary fats: a cross-over design with repeated measures // Nutr. J. 2013; 12 (1): 122.
28. Koivuniemi A., Sysi-Aho M., Oresic M., Ollila S. Interfacial properties of high-density lipoprotein-like lipid droplets with different lipid and apolipoprotein A-I compositions // Biophys. J. 2013; 104 (10): 2193.
29. Kontush A., Lhomme M., Chapman M.J. Unraveling the complexities of the HDL lipidome // J. Lipid. Res. 2013; 54 (11): 2950.
30. Maiga S.F., Kalopissis A., Chabert M. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animals and clinical outcomes // Biochimie. 2014; 96: 56.
31. Martinez L.R., Santos R.D., Miname M.H., Deus D.F., Lima E.S., Maranhão R.C. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia // Metabolism. 2013; 62 (8): 1061.
32. Nakajima K., Nakano T., Tokita Y., Nagamine T., Inazu A., Kobayashi J., Mabuchi H., Stanhope K.L., Havel P.J., Okazaki M., Ai M., Tanaka A. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons // Clin. Chim. Acta. 2011; 412 (15–16): 1306.
33. Namayandeh S.M., Kaseb F., Lesan S. Olive and sesame oil effect on lipid profile in hypercholesterolemic patients, which better? // Int. J. Prev. Med. 2013; 4 (9): 1059.
34. Ng T.W., Ooi E.M., Watts G.F., Chan D.C., Barrett P.N. Effect of fenofibrate and atorvastatin on VLDL apoE metabolism in men with the metabolic syndrome // Curr. Opin. Lipidol. 2010; 21 (2): 141.
35. Niesor F.J., Magg C., Ogawa N., Okamoto H., von der Mark E., Matile H., Schmid G. Modulating cholesteryl ester transfer protein activity maintains efficient pre-beta-HDL formation and increases reverse cholesterol transport // J. Lipid. Res. 2010; 51 (12): 3443.
36. Palm W., Sampaio J.L., Brankatschik W., Carvalho M., Mahmoud A.J., Eaton S. Lipoproteins in Drosophila melanogaster – assembly, function, and influence on tissue lipid composition // PLoS Genet. 2012; 8 (7): 100.

37. *Rajagopal G., Suresh V., Sachan A.* High-density lipoprotein cholesterol: How High // *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2012; 16, Suppl. 1: 236.
38. *Ramasamy I.* Recent advances in physiological lipoprotein metabolism // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 12: 1.
39. *Redondo S., Martinez-Gonzalez J., Urraca C., Tejerina T.* Emerging therapeutic strategies to enhance HDL function // *Lipids. Health Dis.* 2011; 10 (10): 175.
40. *Saito H., Dhanasekaran P., Nguyen D., Holvoet P., Lund-Katz S., Phillips M.C.* Domain structure and lipid interaction in human apolipoproteins A-I and E, a general model // *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 23227.
41. *Siebel A.L., Natoli A.K., Yap F.Y., Carey A.L., Reddy-Luthmoodoo M., Sviridov D., Weber C.I.* Effects of high-density lipoprotein elevation with cholesteryl ester transfer protein inhibition on insulin secretion // *Circ. Res.* 2013; 1113 (2): 167.
42. *Sugiuchi H., Matsushima K., Akiyoshi Y., Maeds K., Ando Y.* Development of the HDL-C and LDL-C direct methods and the subsequent evolution // *Rinsho. Byori.* 2012; 60 (7): 632.
43. *Titov V.N.* Conformation of apolipoprotein B-100, structure of low density lipoproteins (LDL), and LDL functional classification: a review // *Biochemistry.* 1996; 61 (1): 1.
44. *Titov V.N.* Formation of biological function of locomotion and insulin system in phylogenesis: biological basis of hormone action // *Biol. Bull. Rev.* 2012; 2 (4): 318.
45. *Titov V.N.* Role of cholesterol esters in triglyceride transport // *Biochemistry.* 1995; 60 (9): 1045.
46. *Tomkin G.H., Owens D.* The chylomicron: relationship to atherosclerosis // *Int. J. Vasc. Med.* 2012; 2012: 78.
47. *Usa S., Spolitu S., Angius F., Collu M., Accossu S., Banni S., Murru E., Sanna F., Batetta B.* Role of HDL in cholesteryl ester metabolism of lipopolysaccharide-activated P388D1 macrophages // *J. Lipid. Res.* 2013; 54 (11): 3158.
48. *Wang H., Eckel R.H.* Lipoprotein lipase: from gene to obesity // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 297 (2): E271.
49. *Watanabe S., Tsuneyama K.* Eicosapentaenoic acid attenuates hepatic accumulation of cholesterol esters but aggravates liver injury and inflammation in mice fed a cholate-supplemented high-fat diet // *J. Toxicol. Sci.* 2013; 38 (3): 379.
50. *Welty F.K.* How do elevated triglycerides and low HDL-cholesterol affect inflammation and atherothrombosis? // *Curr. Cardiol. Rep.* 2013; 15 (9): 400.
51. *Ye D., Lammers B., Zhao Y., Meurs I., van Berkel T.J., van Eck M.* ATP-binding cassette transporters A1 and G1, HDL metabolism, cholesterol efflux, and inflammation: important targets for the treatment of atherosclerosis // *Curr. Drug. Targets.* 2011; 12 (5): 647.
52. *Zhao C., Dahlman-Wright K.* Liver X receptor in cholesterol metabolism. *J. Endocrinol.* 2010; 204: 233.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
КОНСИЛИУМ

ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА ПРОСИМ ОБРАЩАТЬСЯ:

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

Эмануэль Владимир Леонидович

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

- РЕКЛАМНЫЙ ОТДЕЛ:

Венскович Татьяна Анатольевна

Морозова Ирина Александровна

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

ПЕРИОПЕРАЦИОННЫЕ ИНФАРКТЫ МИОКАРДА ПРИ НЕКАРДИАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ: ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ТРОПОНИНОВ И НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

В.В. ВЕЛЬКОВ

ЗАО «ДИАКОН», Московская обл., г. Пушкино

Резюме. Краткий обзор опубликованных данных о кардиомаркерах, применяемых при некардиальной хирургии для: 1) предоперационной оценки риска развития периоперационных инфарктов миокарда (ПОИМ) и 2) их послеоперационной диагностики. Отмечается, что частота развития ПОИМ при некардиальной хирургии может составлять 5-10% и более. При этом только одна треть пациентов, перенесших ПОИМ, действительно имеют манифестируемые ишемические симптомы ИМ. Подчеркивается, что вероятность того, что у пациентов, назначаемых на некардиальную хирургию, будут неишемически (хронически) повышенные предоперационные уровни высокочувствительных тропонинов, может быть весьма значительной, особенно у пожилых индивидов и у пациентов с высокой коморбидностью. Особое значение имеет то, что неишемически повышенные предоперационные уровни hscTn сильно связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов.

Включение регулярного применения стандартных тропониновых тестов в протокол некардиальных операций повышает вероятность обнаружения послеоперационных миокардиальных повреждений в три раза. Однако периоперационное повышение уровней высокочувствительных тропонинов выявляет в пять раз большее количество пациентов с послеоперационным мионекрозом, чем повышение стандартных тропонинов.

В то же время, повышенные предоперационные уровни натрийуретических пептидов связаны с повышением риска неблагоприятных исходов в 20–40 раз.

В целом, рутинное пред- и послеоперационное измерение высокочувствительных тропонинов и натрийуретических пептидов у пациентов, назначаемых на некардиохирургическое вмешательство, весьма целесообразно для оценки риска развития периоперационных инфарктов миокарда и мониторинга их тяжести.

Ключевые слова: некардиальная хирургия, периоперационные инфаркты миокарда, оценка риска, диагностика, тропонин, натрийуретический пептид.

PERIOPERATIVE MYOCARDIAL INFARCTIONS IN NON-CARDIAC SURGERY: THE DIAGNOSTICS VALUES OF HIGH SENSITIVE TROPONINS AND NATRIUM URETIC PEPTIDES

V.V. VELKOV

DIAKON Ltd., Pushchino, Moscow region, Russia

Summary. Brief review concerns the use of cardiomarkers in non-cardiac surgery with following purposes: 1) preoperational evaluation of perioperational myocardial infarctions risk and 2) postoperational diagnostics of these infarctions. The rate of perioperational myocardial infarctions in non-cardiac surgery may reach up to 5-10% and more cases. However, only one third of these patients have manifested ischemic symptoms of MI. Probability of chronic (non-ischemic) elevation of high sensitive troponin levels in pre-operation patients can be significant, especially in aged individuals and ones with comorbidities. Especially important is the fact that non-ischemic elevation of preoperation hscTn levels is strongly related with the risk of the unfavorable outcomes of the operations. Regular use of standard troponin tests in protocol of non-cardiac surgeries leads to 3 times higher rate diagnostics of the postoperational myocardial damages.

However, peroperational elevation of highly sensitive troponins gives possibility to diagnose postoperational myonecrosis in 5 times more patients than standard troponins elevation.

Also pre-operational increase of natriuretic peptides is related with 20-40 times increase of the risk of unfavorable outcomes of the non-cardiac operations.

In general, the routine pre- and postoperational measurement of highly sensitive troponins and natriuretic peptides in patients with planned noncardiac surgery is important for evaluation of the risk of perioperational myocardial infarctions and monitoring of their sensitivity.

Key words: non-cardiac surgery, perioperative myocardial infarctions, risk assessment, diagnostics, troponin, natrium uretic peptide

Данные для корреспонденции

Вельков Василий Васильевич, к.б.н., директор по науке ЗАО «ДИАКОН»,

142290, Московская обл., г. Пушкино, пр. Науки, 5, тел.: (905) 501-82-05, e-mail: vvv@diakonlab.ru

Инфаркты миокарда при некардиальной хирургии: как часто и как опасно

Согласно многочисленным исследованиям, именно периоперационные неблагоприятные коронарные события являются главной причиной morbидности и смертности после некардиальной хирургии [1, 2]. Ранние исследования, проведенные в относительно небольших когортах пациентов, перенесших плановую некардиальную хирургию, показали, что частота послеоперационных коронарных повреждений, связанных с повышением уровней кардиомаркеров, находится в диапазоне от 8% до 52% [3–16]. Летальность при таких неблагоприятных событиях составляла 4% в течение 60 послеоперационных дней [17], а вероятность ИМ в течение 7 послеоперационных дней была в 30 раз выше, чем у лиц, не перенесших хирургических операций [18]. Более того, у пациентов, имевших до оперативного вмешательства факторы сердечно-сосудистого риска и/или ишемическую болезнь сердца (ИБС), частота неблагоприятных исходов составляла от 4% до 16% [19, 20]. Проблема усугубляется еще и тем, что лица старше 60–70 лет составляют более 60% пациентов, которым назначают некардиальную хирургию. Как показано, от 10 до 20% таких пациентов обычно имеют послеоперационные кардиальные нарушения, которые выявляются с повышением тропонинов [21].

Полагается, что при условии раннего обнаружения послеоперационных повреждений миокарда значительное количество таких пациентов смогут получить необходимую превентивную терапию. А так как фатальные и нефатальные коронарные события чаще всего происходят в течение первого года после операции, определение послеоперационных уровней тропонинов открывает терапевтическое окно для превентивной терапии [22]. Однако, несмотря на значительные усилия по разработке подходов для снижения неблагоприятных исходов после некардиальной хирургии [23, 24], количество послеоперационных инфарктов миокарда (ПОИМ) все еще остается высоким и их выявляемое количество зависит от используемых диагностических критериев ИМ [6]. Именно ПОИМ — наиболее часто осложнение после некардиальной хирургии, связанное с неблагоприятным прогнозом [25].

Диагностические критерии ПОИМ при некардиальной хирургии

Согласованных международных критериев ПОИМ при некардиальной хирургии пока нет. Тем не менее, полагается, что ПОИМ при некардиальной хирургии может определяться как: 1) ИМ, происходящий в течение трех дней после хирургии и 2) имеющий признаки повреждения миокарда, полученные с помощью аутопсии, или 3) имеющий повышенные уровни кардиомаркеров при 4) дополнительном наличии, по крайней мере, одного из следующих признаков, включающих: а) ишемические симптомы, б) характерные изменения на ЭКГ,

в) проведение интервенционистского коронарного вмешательства и г) характерные признаки ИМ, полученные с помощью имаджинга [25].

Надежность выявления ПОИМ связана с большими проблемами, так как пациенты могут находиться: на терапии анальгетиками, опиоидными и седативными препаратами или на искусственной вентиляции легких, что может затруднять выявление характерных симптомов. В целом, только 35% пациентов, перенесших ПОИМ, действительно имеют манифестируемые ишемические симптомы [25].

Согласно критериями первого и второго всеобщего (универсального) определения ИМ в большой когорте пациентов, перенесших некардиальную хирургию, частота ПОИМ достигает 5% [6, 25, 26]. В целом «молчащая» миокардиальная ишемия, выявляемая согласно повышению кардиомаркеров, имеет место у 10–20% пациентов, подвергаемых некардиальной хирургии [22, 27].

При этом ПОИМ часто происходит без классических ишемических симптомов и без характерных изменений на ЭКГ [28]. Несмотря на такое отсутствие клинических симптомов, наличие ПОИМ является прогностически значимым [25]. ПОИМ, выявленный поздно или не выявленный вообще, в сильной степени связан со смертностью [2, 25].

Опубликованные в 2009 г. правила предоперационной оценки кардиального риска и периоперационной терапии при некардиальной хирургии предусматривают использование в качестве кардиомаркеров стандартные, не высокочувствительные тесты на кардиальные тропонины [29], которые не выявляют значительное количество ИМ. Это приводит к тому, что большое количество пациентов, в действительности имеющих диагноз ИМ без элевации ST сегмента, неправомерно диагностируются как имеющие нестабильную стенокардию и поэтому не получают адекватной помощи [30, 31].

Действующее с 2012 г. новое, уже третье всеобщее определение ИМ устанавливает, что в качестве кардиомаркера для выявления ИМ должно применяться высокочувствительное измерение циркулирующих уровней тропонинов, позволяющее с большой точностью определять их концентрацию даже у здоровых лиц [32, 33].

Третье всеобщее определение ИМ устанавливает диагностические критерии ИМ 1 типа и ИМ 2 типа, а также критерии ИМ, связанных с кардиохирургией (с чрезкожным коронарным вмешательством и аортокоронарным шунтированием), предусматривающие высокочувствительное измерение тропонинов и наличие симптомов ишемии, или изменений на ЭКГ, или повреждений миокарда, выявляемых с помощью имаджинга [32]. Однако что касается диагностики ПОИМ, связанных с некардиальной хирургией, то, подчеркивая большую важность и актуальность данной проблемы, третье всеобщее определение ИМ дает только общую рекомендацию: *при некардиальной хирургии «у пациентов, имеющих высокий риск, рекомендуется рутинный монито-*

ринг кардиомаккеров перед обширным оперативным вмешательством и через 48–72 ч после него» [32].

Высокочувствительные тропонины — новый этап в кардиологии

Высокочувствительные методы измерения кардиальных тропонинов с высокой точностью определяют их наноконцентрации, находящиеся в диапазоне ниже 0,5 нг/л.

В целом, чувствительность любых диагностических тестов предусматривает, что верхний референтный предел нормального уровня аналита (URL — upper reference limit) должен соответствовать уровню для 99-й перцентили. 99-я перцентиль — это уровень аналита, при котором 99 из 100 лиц здоровой популяции будут иметь результат тестирования, равный или ниже указанного уровня, и только 1 из 100 может иметь результат выше этого уровня.

Все предшествовавшие тропониновые тесты из-за низкой чувствительности уровни тропонинов у здоровых лиц не определяли, что привело к ошибочному выводу, что «в норме тропонинов нет». После разработки высокочувствительных hscTn (hs — high sensitive, высокочувствительный, англ.) «тропонин-отрицательных» пациентов больше нет. Оказалось, что в среднем нормальные уровни hs-cTn составляют 2–5 нг/л, а уровни 99-й перцентили — 14–20 нг/л (в зависимости от конкретного hs-теста), см. обзоры [30, 31, 33–35].

Полагается [36, 37], что в норме причины выхода тропонинов в кровоток могут быть следующими:

- 1) *нормальный метаболизм миоцитов.* На протяжении жизни обновлению подвергаются около 50% кардиомиоцитов;
- 2) *высвобождение продуктов протеолитической деградации тропонинов из миоцитов.* Предполагается, что такой процесс может происходить без гибели миоцитов и без нарушения целостности клеточных мембран. В результате протеолиза образуются мелкие фрагменты тропонинов, которые проходят через неповрежденные клеточные мембраны;
- 3) *повышенная проницаемость клеточных стенок.* Обратимое повреждение мембран кардиомиоцитов при напряжении миокарда или при ишемии позволяет тропонинам цитозоля выходить в кровоток;
- 4) *образование и высвобождение из миоцитов мембранных везикул, содержащих тропонины;*
- 5) *маломасштабный некроз миоцитов.* Это наиболее распространенный процесс, который может усиливаться ишемическим или воспалительным состоянием, прямой травмой и токсическими причинами, включая сепсис;
- 6) *апоптоз, или запрограммированная смерть клеток* [36, 37].

Количественное определение тропонинов базируется на моноклональных антителах, узнающих различные эпитопы (участки молекул) cTn. Таких эпитопов может

быть много. Более того, у разных пациентов они могут быть разными, а у одного и того же пациента соотношение этих эпитопов может меняться в течение развития ОКС, и не исключено, что оно может быть различным при повторных ОКС. Такая эпитопная вариабельность и динамичность гетерогенной популяции циркулирующих тропонинов приводит к тому, что различные производители тропониновых тестов включают в диагностический набор все большее количество различных антител для того, чтобы повысить их чувствительность. В итоге, тесты различных производителей имеют: а) разные показатели чувствительности; б) разные значения 99-й перцентили; в) разные значения диагностических уровней [38].

В целом, «все эти данные показывают, что сравнение абсолютных концентраций тропонинов, полученных с помощью тестов различных производителей, невозможно» [39].

Поэтому значения уровней, соответствующих 99-й перцентили, являются специфическими и индивидуальными для различных диагностических тестов различных производителей. Так, значение 99-й перцентили теста hscTnI Singulex Erenna — 8,0 нг/л; теста hscTnI Abbott ARCHITECT — 12 нг/л; теста hscTnT Roche — 14 нг/л; теста hscTnI PATHFAST Mitsubichi — 20 нг/л; теста hsTnI ADVIA Centaur Siemens — 40 нг/л [30, 31, 33–35].

Сравнивать между собой абсолютные значения hs-cTn измерений можно лишь тогда, когда они получены с помощью тест-системы одного и того же производителя. Однако сравнение относительных значений динамики повышения или снижения уровней hs-cTn (дельты в%) возможно и в том случае, когда результаты получены с помощью тест-систем различных производителей.

Клиническая ценность hs-cTn

Многочисленные исследования [30, 31, 33–35] показали, что:

- 1) *нормальные уровни кардиальных тропонинов составляют 2–5 нг/л (0,002–0,005 нг/мл);*
- 2) *уровень, соответствующий 99-й перцентили (верхний референтный предел), является специфическим для конкретного диагностического набора и его платформы;*
- 3) *уровни hs-cTn должны интерпретироваться как количественные переменные, «качественных» терминов «тропонин-отрицательный» и «тропонин-положительный» следует избегать;*
- 4) *динамика уровней hs-cTn (повышение, снижение, постоянная концентрация) дифференцирует острый некроз кардиомиоцитов от их хронического повреждения;*
- 5) *с помощью серийного измерения hs-cTn диагноз ИМ можно исключить в первые часы после поступления;*
- 6) *в общей популяции хронически (неишемически) повышенные уровни hs-cTn выявляют лиц с повы-*

- шенным риском *структурных* заболеваний миокарда и риском смертности от всех причин;
- 7) короткий период ишемии, не связанный с явным ИМ, вызывает высвобождение в кровоток небольшого количества hs-cTn;
 - 8) при стабильных заболеваниях коронарных артерий неишемически повышенные уровни hs-cTn связаны с риском кардиоваскулярной смерти и сердечной недостаточности, но не с риском ИМ;
 - 9) у пациентов с симптомами острого коронарного синдрома (ОКС) hs-cTn — это ранний маркер ИМ, который, по сравнению с «обычными» cTn тестами, выявляет большее (примерно в 1,5–2 раза) количество пациентов с диагнозом ИМ Б ST (ИМ без элевации ST сегмента) и является независимым предиктором неблагоприятных исходов;
 - 10) значительное количество пациентов, у которых на основании «обычных» cTn тестов диагностировалась нестабильная стенокардия, с помощью высокочувствительных были отнесены к группе с ИМ Б ST. При этом диагностика была более ранней, уже в течение первых 3–6 ч, что при применении адекватных

- 11) вне зависимости от того, вызвано ли повышение hs-cTn ишемическими или неишемическими причинами, во всех случаях повышенный hs-cTn — предиктор неблагоприятных исходов, включающих: повторные ОКС, фатальные и нефатальные ИМ и смертность от всех причин [30, 31, 33–35].

Ишемическое и неишемическое повышение тропонинов: серийные измерения

Принято считать, что ишемическое повышение тропонинов связано с острым коронарным событием, при котором в течение нескольких часов возрастает тяжесть ишемии, вызываемой или образованием тромба (ИМ типа 1) или резким нарушением баланса поступления/потребления кислорода (ИМ типа 2) из-за вазоспазма или по другим причинам. Неишемическое (хроническое) повышение тропонинов может быть вызвано различными патологиями и полагается не связанным с ИМ [40] (рис. 1).

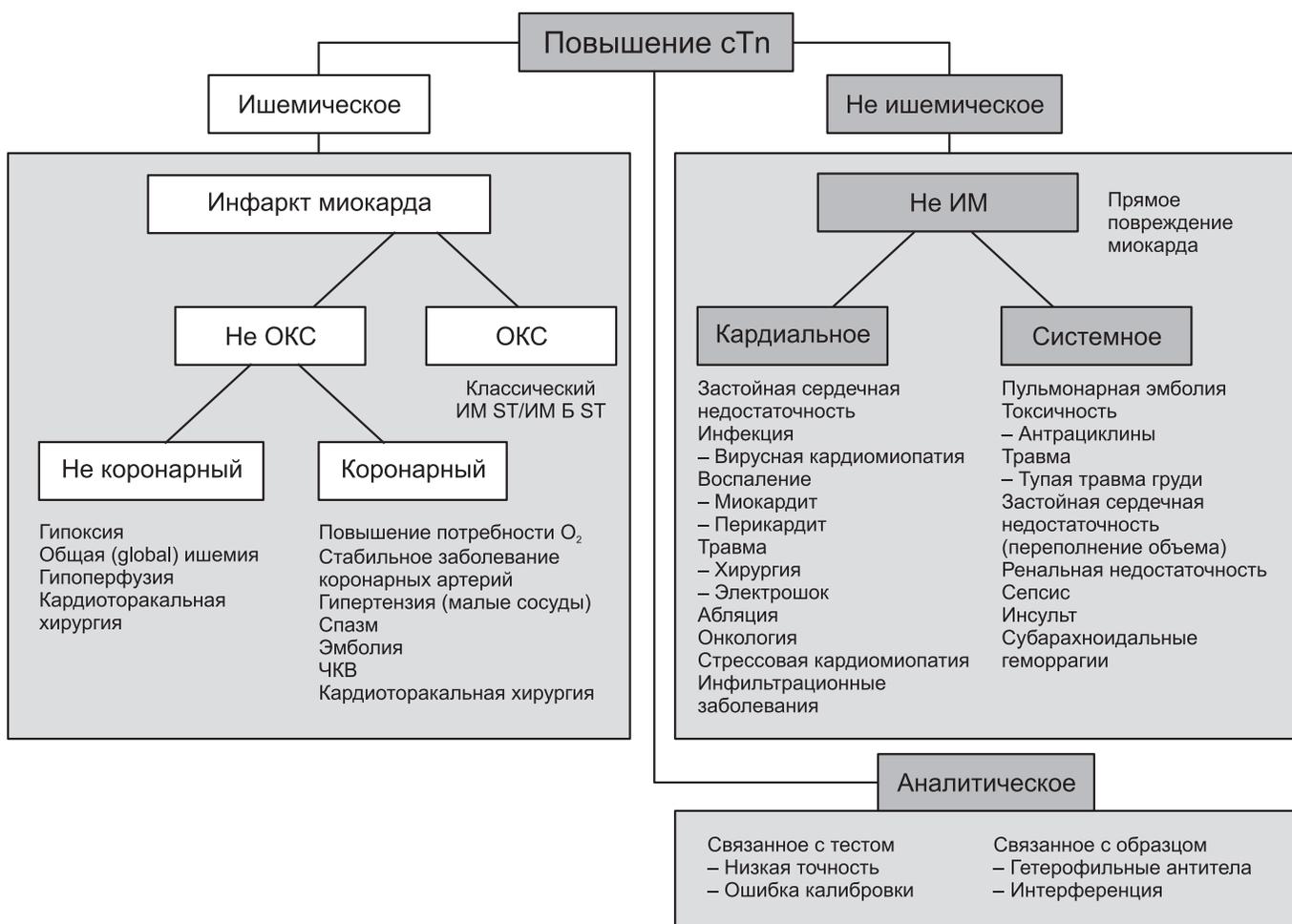


Рис. 1. Патофизиологические механизмы, связанные с ишемическими и неишемическими повышениями тропонинов [40]



Рис. 2. Алгоритм серийных измерений hs-cTn при поступлении, через 3 ч и, в случае неоднозначной картины, по решению врача через следующие 3 ч (через 6 ч после поступления) [41]

Согласно международной согласованной рекомендации [41], подход, обеспечивающий дискриминацию между ишемическим и неишемическим повышением hscTn, – серийные измерения.

Если повышенный при первом измерении уровень hs-cTn вызван стабильными заболеваниями коронарных артерий; хронической сердечной недостаточностью; нестабильной стенокардией и др. неишемическими причинами, то при серийных измерениях уровни hs-cTn повышаться не должны [40].

При серийных измерениях повышение уровня hs-cTn > 99-й процентиля указывает на ИМ Б ST (рис. 2) [41].

Еще раз подчеркнем, что для диагностики ИМ с помощью hs-cTn тестов следует принимать во внимание не только повышенные «одноразовые» абсолютные значения их концентрации, но **динамику** их изменения (дельту) [41, 42].

Каковы возможные механизмы развития периперационных инфарктов миокарда?

Механизмы выхода тропонинов при ишемии

Транзиторная ишемия. Транзиторный выход тропонинов в циркуляцию наблюдается у здоровых лиц при интенсивных физических нагрузках, например, после марафонских забегов [43]. После финиша уровни hs-cTn возвращаются к норме через 72 ч [44]. Транзиторно по-

вышаются тропонины и при стресс-тестах, проводимых пациентам со стабильными заболеваниями коронарных артерий. При этом такое повышение прямым образом связано с тяжестью исходной ишемии, присутствующей у данного пациента [45].

Ишемическое повреждение миокарда. Считается, что повышенные уровни hs-cTnT у пациентов, поступающих с признаками ИМ, связаны с нарушением перфузии, выявляемой с помощью имаджинга, в частности, с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ) и с помощью компьютерной томографической ангиографии (КТА) [46]. Недавно обнаружено, что «у пациентов с острой сердечной болью уровень hs-cTnT, измеренный в состоянии покоя, является предиктором нарушения миокардиальной перфузии и тяжести заболеваний коронарных артерий» [47].

О чем могут свидетельствовать предоперационные неишемически повышенные тропонины?

В целом неишемическое повышение тропонинов встречается гораздо чаще, чем ишемическое. В относительно раннем исследовании было обнаружено, что среди 2944 пациентов, поступивших с признаками ИМ, только 23,8% лиц имели повышенный «стандартный сTnI». Из них только 20,4% пациентов имели ишемическое повышение тропонинов и были диагностированы

как имеющие ИМ 1-го типа и 9,1% пациентов — как имеющие ИМ 2-го типа, а 65,8% пациентов с неишемически повышенными тропонинами не имели диагноза ИМ [48]. Затем было обнаружено, что среди пациентов, поступивших с загрудинной болью, только 15% имели hs-cTnT выше диагностического уровня для ИМ и только 2% из них действительно имели ишемически повышенный тропонин и диагноз ИМ [49].

Недавно было обнаружено, что среди 1181 пациента, поступившего с острой сердечной болью, 48,4% имели некардиальные причины болевого синдрома. При этом всего 15% пациентов имели повышенные уровни hs-cTnT (> 14 нг/л, 99-я перцентиль) и менее 50% всех случаев их повышения можно было объяснить известными кардиальными или некардиальными заболеваниями. С неишемически повышенным hs-cTnT оказались связанными (по мере убывания показателя корреляции): возраст, скорость клубочковой фильтрации, гипертензия, предшествовавший ИМ, ХБП [50].

Повышенный hs-cTn и субклиническое «молчащее» повреждение миокарда. В специальном исследовании наблюдали 300 индивидов, не имевших симптомов ССЗ. Цель — выявление «молчащих повреждений миокарда (silent cardiac target organ damage) с помощью hs-cTnT, BNP и имаджинга. У 34% индивидов были выявлены миокардиальная ишемия, гипертрофия левого желудочка (ЛЖ), систолическая дисфункция, диастолическая дисфункция, увеличение левого предсердия. Маркерами, которые выявляли эти патологии, являлись hs-cTnT и BNP. Наиболее часто выявляемыми были: 1) гипертрофия ЛЖ (29,7%); 2) диастолическая дисфункция (21,3%); 3) увеличение левого предсердия (15,3%); 4) систолическая дисфункция (6,3%) и 5) ишемия (6,3%) [51].

В другом исследовании у 98 пациентов со стабильными заболеваниями коронарных артерий измеряли ультрачувствительный us-cTnI (Singulex Erenna System, нижний предел определения — 0,4 нг/л, 99-я перцентиль — 10,1 нг/л). Средние уровни us-cTnI составляли 6,1 нг/л. У 15% пациентов уровни us-cTnI были повышены. Наиболее повышенными уровни us-cTnI были у 17,5% пациентов с молчащей ишемией, которые составляли $16,1 \pm 23,0$ против $5,1 \pm 7,9$ нг/л у лиц без ишемии. В целом, повышенные уровни us-cTnI были связаны с максимальной депрессией ST-сегмента и с общей тяжестью ишемии в течение 24 ч. Авторы заключили, что «концентрации тропонина выше пограничного уровня, рекомендованного для диагностики ИМ, обнаруживаются у 1 из 6 пациентов со стабильными заболеваниями коронарных артерий и частично отражают обратимую молчащую ишемию» [52].

При неишемически повышенных тропонинах неблагоприятных исходов в два раза выше, чем при ишемически повышенных. Мета-анализ показал, что среди 21 668 пациентов, при выписке имевших хронически повышенные уровни cTn, 12 400 лиц (57,2%) имели патологии, не связанные с ОКС, среди которых наиболее распространен-

ными были застойная сердечная недостаточность (1661 пациент) и хронические заболевания коронарных артерий (1648 пациентов). Через год после выписки смертность у пациентов с «не-ОКС повышенными» тропонинами составляла 22,8% и была *выше*, чем у пациентов с «ОКС повышенными тропонинами», отношение рисков — 1,39 [53]. В специальном исследовании 615 пациентов, в течение 1 года поступивших с сердечными приступами и имевших повышенный hs-cTnT, были разделены на две группы: группа «ОКС» («тромботическое повышение тропонина») и «не-ОКС» (не тромботическое повышение cTnT). В группе «ОКС» было 53% пациентов, в группе «не-ОКС» 41%, у 6% пациентов диагноз был неопределенный. При этом у «не-ОКС» пациентов смертность, как внутрибольничная, так и в течение двух лет, была более чем в два раза *выше*, чем у пациентов с ОКС. Авторы сделали вывод, что среди госпитализированных пациентов «неспецифическое повышение тропонина является распространенным и связанным с неблагоприятным прогнозом» [54].

В другом исследовании, при наблюдении 3327 пациентов, поступивших в отделение неотложной кардиальной помощи госпиталя Гейдельбергского университета, выяснилось, что только 20% пациентов при поступлении имели уровни hs-cTnT > 99-й перцентили, среди них у 69% — повышенные hs-cTnT были неишемическими и не были связаны с ОКС. На рисунке 3 — смертность от всех причин у пациентов с ОКС Б ST (А) и у пациентов, не имевших ОКС (Б) в зависимости от уровней hs-cTnT при поступлении. Таким образом, при одинаково повышенных уровнях hs-cTnT смертность у пациентов без ОКС была в два раза выше, чем у пациентов с ОКС Б ST [55].

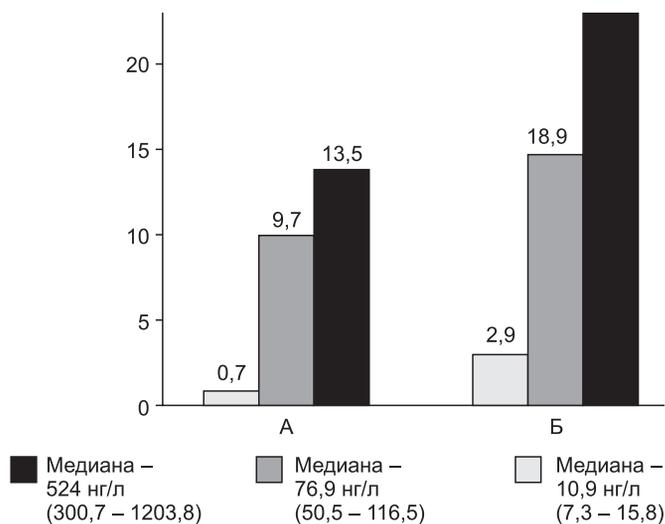


Рис. 3. Общая смертность 1530 пациентов, поступивших с подозрением на ИМ и имевших: А — ишемически повышенные тропонины (ОКС Б ST) и Б — неишемически повышенные тропонины (без ОКС). Указаны медианные уровни hs-cTnT при поступлении. Наблюдение — 6 мес. [55]

Таким образом, неишемически повышенные предоперационные уровни hs-cTn прямым образом могут быть связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов.

Следующий вопрос: с какими патологиями могут быть связаны предоперационные неишемически повышенные уровни тропонина?

Высококчувствительные тропонины и предоперационная сердечная недостаточность. Повышение hs-cTn, характерное для миокардиального некроза, наблюдается почти у всех пациентов с сердечной недостаточностью (СН), особенно у лиц с острой декомпенсированной СН [56]. Мета-анализ 16 исследований показал, что у пациентов с хронической СН повышенные тропонины связаны с повышенным риском смертности, составлявшим 2,85, и с повышенным риском главных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, составлявшим 2,38 [57].

В целом, предоперационное измерение hs-cTn и натрийуретических пептидов (см. ниже) может быть полезным для оценки послеоперационных кардиальных рисков (см. ниже).

ТЭЛА. При проспективном наблюдении 156 нормотензивных пациентов с подтвержденной тромбоэмболией легочной артерии было обнаружено, что уровни hs-cTnT у них были повышены, медианное значение 27,2 пг/мл. 100 пациентов (64%) имели hs-cTnT \geq 14 пг/мл. Неблагоприятные исходы в течение 30 дней более частыми были при повышенных значениях hs-cTnT [58]. Аналогичные результаты были получены и при наблюдении 55 гипертензивных пациентов с установленной ТЭЛА. В течение наблюдения (12 мес.) уровни hs-cTnT $>$ 30 пг/мл были обнаружены у 27,3% [59].

hs-cTn: повышение при ренальной патологии. Полагается, что у пациентов со сниженными ренальными функциями (от умеренного снижения до диализа и терминальных стадий) повышение тропонина не связано со снижением ренального клиренса [60, 61], однако связано с риском неблагоприятных исходов [62]. Точный механизм повышения тропонина при ХБП пока не ясен. Полагается, что повышенные при ХБП уровни тропонина в большей степени вызваны сердечной недостаточностью (повышением массы ЛЖ, дисфункцией ЛЖ, повышенными уровнями NT-proBNP), нежели атеросклерозом, ишемией (или сниженным клиренсом) и связаны с высоким риском неблагоприятных исходов [63]. В целом, вероятность того, что у пациентов, назначаемых на некардиальную хирургию, будет иметь место неишемическое повышение hs-cTn, может быть весьма значительной, особенно у пожилых индивидов и у пациентов с высокой коморбидностью.

Какова вероятность того, что неишемически повышенные предоперационные уровни тропонина приведут к периоперационному инфаркту миокарда?

Патофизиология ПОИМ

Полагается, что к развитию ПОИМ могут приводить два различных механизма: 1) нестабильность атеросклеротических бляшек, ведущая к их разрыву и тромбозу (по аналогии с ИМ 1 типа) и 2) нарушение баланса снабжения/потребления кислорода у пациентов с хроническими заболеваниями коронарных артерий и со значительной тяжестью стеноза (по аналогии с ИМ типа 2) [2, 64–66].

ПОИМ, связанный с тромбозом. Факторы, которые в периоперационный период повышают риск развития ПОИМ, таковы [29, 66]:

- повышенные периоперационные уровни катехоламинов и кортизола, связанные с болевым синдромом, анемией и гипотермией, остаются высокими в течение нескольких дней после хирургии, что может приводить к коронарной вазоконстрикции и дестабилизации бляшки;
- тахикардия и гипертензия, часто имеющие место в периоперационный период, могут приводить к напряжению сосудистой стенки (increase vascular shear stress), что, в свою очередь, может приводить к разрыву уязвимой бляшки.
- в течение хирургии и после нее в циркуляцию выходят различные провоспалительные белки и факторы, способствующие дестабилизации бляшек; полагается, что эти периоперационные процессы могут приводить к разрыву уязвимых бляшек.

В дополнение к этому могут иметь место:

- повышение уровней прокоагулянтов (фибриногена и фактора фон Виллебранда);
- снижение уровней антикоагулянтов (протеин С, антитромбин III и альфа-2-микроглобулин);
- повышение агрегации тромбоцитов.

Более того, у пациентов с предшествовавшими заболеваниями коронарных артерий периоперационное повышение прокоагуляционной и антифибринолитической активностей может инициировать коронарный тромбоз и снижать скорость кровотока, даже при отсутствии разрыва бляшек [29, 66].

Весьма показательны результаты недавнего наблюдения 120 пациентов, перенесших ОКС с ишемией и повышением тропонина после некардиальной хирургии. Обнаружено, что согласно ангиографии у пациентов с послеоперационными ОКС: 1) доля коронарных повреждений, указывающих на разрывы бляшек, составляла 50%, 2) была сходной с таковой у пациентов с спонтанными ОКС, 3) но отличалась от коронарных повреждений при стабильных заболеваниях коронарных артерий. Авторы полагают, что «около 50% пациентов с ПОИМ имеют разрывы бляшек, характерные для ИМ типа 1» [67].

ПОИМ из-за нарушения баланса снабжения/потребности в кислороде. С другой стороны, у пациентов с обструктивными, но стабильными повреждениями ко-

ронарных артерий из-за нарушения баланса в снабжении/потреблении кислорода к ПОИМ могут приводить: 1) тахикардия, 2) артериальная гипертензия, 3) гипотензия (из-за кровотечений, гиповолемии или вазодилатации), а также 4) анемия и 5) гипоксемия [2]. Также могут повышать послеоперационный выход тропонинов: 1) ТЭЛА, 2) недостаточность правого желудочка, 3) синдром системного воспалительного ответа и 4) сепсис [32].

Следует ли измерять пред- и послеоперационные уровни кардиомаркеров при некардиальной хирургии? Опыт применения не высокочувствительных тропонинов

Мета-анализ относительно ранних исследований, в которых наблюдались пациенты, подвергшиеся некардиальной хирургии, показал, что повышенные послеоперационные уровни КК-МБ и тропонинов связаны с повышением риска летальности в 6 раз в течение 1 года после операции. При этом только 14% пациентов с диагностированным ПОИМ имели загрудинную боль и только 53% пациентов имели клинические признаки ИМ [68]. Весьма существенно, что при этом большинство пациентов с повышенными послеоперационными уровнями кардиомаркеров имели неблагоприятные прогнозы безотносительно к тому, были ли у них: 1) характерная симптоматика ИМ, 2) типичные изменения на ЭКГ, 3) остаточное действие анестезии, анальгетиков, 4) интубация с седативными препаратами [27]. Другое исследование, в котором в течение 1 года наблюдались пациенты, перенесшие как плановую, так и неотложную ортопедическую хирургию, выявило от 33% до 53% пациентов, имевших повышенные тропонины, при этом послеоперационные миокардиальные повреждения и риск летальности у таких лиц в указанный период был повышен от 4 до 12 раз [69, 70].

В недавнем мета-анализе 14 исследований, в которых наблюдались 3318 пациентов, перенесших обширные хирургические вмешательства, зафиксировано 459 летальных случаев. Стандартные тропониновые тесты показали, что повышенные послеоперационные уровни тропонинов являются сильным и независимым от других факторов риска предиктором смертности в первый год после операции. При этом в 10 исследованиях было показано, что послеоперационное повышение тропонинов, связанное с повышением риска смертности в течение 1 года, составило 6,7 раз, в 4 исследованиях было показано, что послеоперационное повышение тропонинов повышало риск смертности в 1,8 раза в период более 12 месяцев [22].

В другом мета-анализе были проанализированы результаты 9 исследований, выполненных до декабря 2010 г. Повышенные послеоперационные уровни тропонинов были связаны с 30-дневной смертностью от всех причин, с отношением рисков 5,03. Смертность среди пациентов, не имевших повышенных тропонинов, со-

ставляла 2,3%, среди пациентов с повышенным сТп — 11,5%, а среди пациентов с ПОИМ — 21,6% [71].

Недавно были опубликованы результаты весьма масштабного мета-анализа. Наблюдался 51 701 пациент, перенесший некардиальную хирургию в период с 2003 по 2009 г., включая пациентов, перенесших некардиальную трансплантацию. Показано, что послеоперационное повышение тропонинов имеет сильную связь с повышением риска смертности от всех причин, прямым образом зависящую от их концентрации. При этом *включение регулярного измерения тропонинов в протокол операций повышало вероятность обнаружения послеоперационных миокардиальных повреждений в три раза*. Однако у 18 935 пациентов, имевших низкий предоперационный риск, послеоперационные уровни тропонина предиктивных характеристик не имели. Авторы полагают, что *«оптимальный протокол наблюдения пациентов, перенесших некардиальную хирургию, должен включать послеоперационные измерения тропонинов только у пациентов, имеющих умеренный и высокий предоперационный риск»* [72].

Отметим, что традиционно предоперационная стратификация кардиального риска у некардиохирургических пациентов базируется на так называемом пересмотренном индексе кардиального риска (Revised Cardiac Risk Index — RCRI). В нем учитываются и суммируются шесть равнозначных по своему клиническому значению показателей: 1) хирургическое вмешательство, связанное с высоким риском, 2) наличие и история ИБС, 3) застойная сердечная недостаточность, 4) цереброваскулярные заболевания, 5) наличие диабета, нуждающегося в терапии инсулином, 6) ренальная дисфункция [73]. Однако, как показано на практике, оценка послеоперационных рисков с помощью шкалы RCRI недооценивает риск сосудистых повреждений и смертности после некардиальной хирургии [74, 75].

Особого внимания заслуживает международное исследование Vascular Events In Noncardiac Surgery Patients Cohort Evaluation — VISION, которое проводилось с августа 2007 г. по январь 2011 г. в 190 центрах 29 стран [76]. Наблюдался 8531 пациент в возрасте свыше 45 лет. Определяли риск 30-дневной смертности на основе значений 24 переменных клинических факторов, к которым добавляли значения измерений уровней сТпТ (тест четвертого поколения, нижний предел определения — 30 нг/л). Измерения проводили сразу после некардиальной хирургии, через 6 и 12 ч и в течение первых 3 дней.

В течение 30 послеоперационных дней у 5,0% пациентов был диагностирован ПОИМ. Большинство случаев ПОИМ (74,1%) происходили в течение 48 ч после хирургии, при этом 65,3% пациентов не имели ишемических симптомов. Среди пациентов, перенесших ПОИМ, 30-дневная смертность составляла 11,6%, у пациентов без ПОИМ — 2,2%. *Весьма существенно, что у пациентов с ПОИМ и с ишемическими симптомами 30-дневная смертность составляла 9,7%, а у пациентов с ПОИМ и без ишемии — 12,5%*. В целом пациенты

с ОИМ, как симптоматические, так и асимптоматические, имели самый высокий риск 30-дневной смертности. Среди пациентов с ПОИМ 11,6% умерли в течение 30 дней, большинство из них (53%) — в течение 48 ч. При этом значительная часть пациентов с ПОИМ не получила сердечно-сосудистой терапии, которая могла бы быть эффективной для пациентов со спонтанными ИМ, не связанными с хирургией. В общем, 30-дневная смертность после некардиальной хирургии составила 1,9%. При этом 41,8% смертей были связаны исключительно с повышенным сТнТ [76].

Полагается, что именно пиковые послеоперационные значения сТнТ — сильный предиктор 30-дневной смертности. Абсолютная 30-дневная смертность при $\text{сТнТ} < 0,01 \text{ нг/мл}$ составляла 1%, при 0,02 — 4%, при 0,03–0,29 нг/мл — 9,3%; при $> 0,30 \text{ нг/мл}$ — 16,9%. Медианное время от пика сТнТ до смерти (при сТнТ 0,02 нг/мл) составляло 13,5 дней, при 0,03 нг/мл — 9 дней. Существенно, что у пациентов после некардиальной хирургии, не имевших ни симптомов ишемии, ни признаков ИМ, даже слегка повышенные уровни тропонинов были связаны с серьезным риском развития сердечно-сосудистых осложнений и летальности [76]. Из 24 клинических переменных 11 были независимыми предикторами 30-дневной смертности, из них самым сильным предоперационным предиктором ПОИМ было неотложное хирургическое вмешательство, отношение рисков 4,62. Однако повышенные уровни сТнТ имели более высокое предиктивное значение по сравнению со всеми другими клиническими переменными [76].

Статистический анализ показал, что пиковые значения сТнТ, составлявшие по крайней мере 0,02 нг/мл, имели место у 11,6% пациентов и по сравнению с референтной группой (пик сТнТ $\leq 0,01 \text{ нг/мл}$) такие пациенты имели риск 30-дневной летальности, составлявший 2,41; пациенты с пиковыми значениями от 0,03 до 0,29 нг/мл имели риск ПОИМ — 5,00; от 0,30 нг/мл и выше — 10,48. Среднее время от пикового повышения тропонинов до летального исхода находилось в диапазоне от 1 до 2 недель, что потенциально позволяло проводить мероприятия, направленные на снижение риска неблагоприятного исхода. Авторы полагают, что *«рутинный мониторинг уровней тропонина после хирургии необходим для выявления большинства ПОИМ, которые свидетельствуют о плохом прогнозе, вне зависимости от того, являются ли они симптоматическими или асимптоматическими»* [76].

Весьма показательное наблюдение 141 пациента, перенесшего неотложную хирургию после разрыва аневризм брюшной аорты. 55% пациентов имели повышенный сТнТ, из них только 12% имели элевацию ST-сегмента на ЭКГ, 23% имели депрессию ST-сегмента и 61% не имели никаких изменений на ЭКГ. Среди пациентов с повышенным сТнТ 45,5% пациентов имели: 1) заболевания коронарных артерий и более высокие показатели по шкале АРАСНЕ II — 24,9 против 21,4 у па-

циентов с нормальными сТнТ, 2) более длительное пребывание в ОИТ — 8 [3–11] дней против 4 [2–9] дней и 3) более высокую внутрибольничную смертность — 40,3% против 14,1% [77].

В недавней редакционной статье, опубликованной в журнале *Anesthesiology* [78], отмечается, что «отсутствие симптомов ИМ у послеоперационных пациентов является главной проблемой и поднимает следующие важные вопросы:

- Должны ли уровни циркулирующих кардиальных маркеров определяться у асимптоматических послеоперационных пациентов?
- Если ответ «нет», существует ли тогда какой-либо показатель риска пациента, определение которого должно назначаться?
- Какой уровень биомаркера является основанием для назначения лечебных мероприятий?
- Какие обследования или какая терапия должны назначаться, если уровни маркеров не нормальны?
- И, что еще более проблематично, что мы должны сказать пациенту и его семье о нормальном и не нормальном результате определения биомаркера?» [78].

Предоперационные неишемически повышенные высокочувствительные тропонины — предиктор неблагоприятных исходов

Весьма показательны результаты проспективного исследования, в котором у 608 пациентов определение hs-сТнТ проводили до хирургии, сразу после нее и на 1, 2 и 3 день [79]. Показано, что 98,5% пациентов имели измеряемые предоперационные уровни hs-сТнТ, а 41% пациентов имели предоперационные уровни hs-сТнТ $> 14 \text{ нг/мл}$ (99-я перцентиль). Повышенные по сравнению с предоперационными послеоперационные уровни hs-сТнТ имели 82% лиц (медианное повышение hs-сТнТ составляло $+ 2,7 \text{ нг/л}$; межквартильный диапазон — 0,7–6,8 нг/л). В течение первых трех операционных дней было выявлено 2,5% пациентов с предоперационным hs-сТнТ $< 14 \text{ нг/л}$ и имевших ОИМ и 8,6% с ОИМ, имевших предоперационный hs-сТнТ $> 14 \text{ нг/л}$ (отношение рисков — 3,67). В течение трех лет произошло 80 летальных случаев. При этом смертность при предоперационном уровне hs-сТнТ $< 14 \text{ нг/л}$ составляла 11%, а при предоперационном $> 14 \text{ нг/л}$ — 25%, отношение рисков — 2,17. В целом, результаты данного исследования показали, что при некардиальной хирургии повышенный предоперационный уровень hs-сТнТ связан со значительным риском послеоперационных ИМ с повышенным риском смертности в долгосрочном масштабе (рис. 4) [79].

Аналогичные результаты дало проспективное наблюдение 352 пациентов, имевших высокий риск, назначенных на плановую некардиальную хирургию и получавших превентивную антитромбоцитарную терапию. Предоперационные уровни hs-сТнТ ($> 14 \text{ нг/л}$, 99-я перцентиль) были повышены у 31% пациентов, и послеоперационный

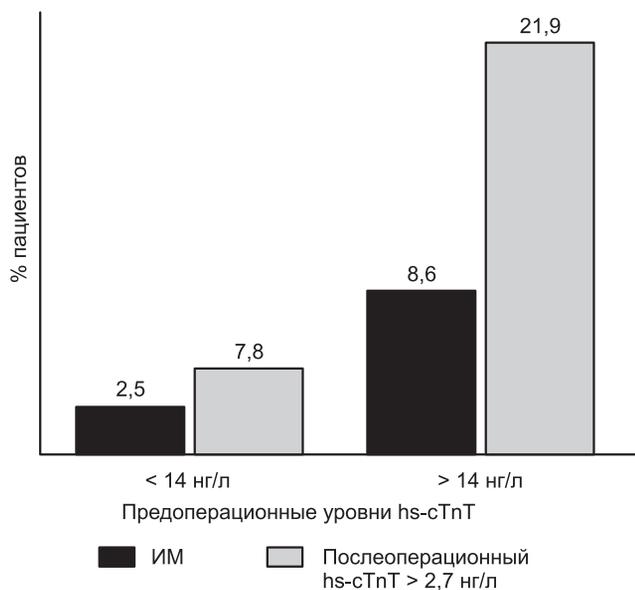


Рис. 4. Связь между предоперационными уровнями hs-cTnT (< 14 нг/л и > 14 нг/л) и частотой развития послеоперационных ИМ и послеоперационным повышением уровня hs-cTnT более, чем на 2,7 нг/л. [79]

миокардиальный некроз (критерием которого было повышение послеоперационного уровня hs-cTnT ≥ 14 нг/л с последующим повышением на 50%) был выявлен у 22% пациентов. Среди 88 пациентов, у которых одновременно измерялись послеоперационные hs-cTnT и сTnT, высокочувствительный тропонин выявил 26% лиц с миокардозом, а стандартный — 6%. Таким образом, hs-cTnT повышал количество выявленных случаев периоперационного миокардиального некроза в 5 раз [80].

В другом исследовании при проспективном наблюдении 979 пациентов, назначенных на хирургию, предоперационные уровни hs-cTnT также оказались связанными с неблагоприятными исходами (летальность, ОИМ, остановка сердца, восстановление сердечной деятельности и дыхания (cardio-pulmonary resuscitation), острая декомпенсированная сердечная недостаточность). 2,6% пациентов умерли, 3,7% имели неблагоприятные исходы. При этом у умерших пациентов уровни hs-cTnT составляли 21 нг/л против 7 нг/л у выживших, а предоперационные уровни NT-proBNP — 576 пг/мл у умерших против 166 пг/мл у выживших. Пограничные предоперационные уровни для выявления пациентов с повышенным риском послеоперационных неблагоприятных исходов составляли: для hs-cTnT — 14 нг/л, для NT-proBNP — 300 пг/мл, пациенты с повышенным hs-cTnT имели смертность 6,9% против 1,2% при низком hs-cTnT, при повышенном NT-proBNP — 4,8% против 1,4% при низком NT-proBNP. Как сильный и независимый предиктор неблагоприятных исходов hs-cTnT имел большую чувствительность и специфичность, чем NT-proBNP. Принципиально, что предоперационное измерение hs-cTnT значительно повышало прогностическую точность пересмотренного кардиального индекса [81].

Повысившиеся после операции уровни hscTn — предиктор неблагоприятных исходов

Весьма показательное наблюдение 3325 пациентов, назначенных на плановую или неотложную некардиальную хирургию, у которых измеряли пред- и послеоперационные уровни стандартного сTnT теста (четвертое поколение, нижний предел определения 30 нг/л) и уровни hs-cTnT (99-я百分иль для здоровой популяции — 14 нг/л).

Предоперационные уровни. Показано, что у 21% пациентов предоперационный уровень hs-cTnT составлял 71 нг/л (99-я百分иль) и 33 нг/л (95-я百分иль). Для лиц старше 65 лет уровень 95-й百分или составлял 36 нг/л, для лиц моложе 65 лет — 25 нг/л. У женщин уровень 95-й百分или составлял 18 нг/л, у мужчин — 48 нг/л.

Послеоперационные уровни выше 14 нг/л были зафиксированы у 45% пациентов. Повышение hs-cTnT более чем на 85% по сравнению с предоперационным уровнем было найдено у 38% пациентов. Для сравнения, послеоперационные уровни сTnT были повышены только у 9% пациентов.

Данное исследование показало, что у 20% пациентов, перенесших некардиальную хирургию, были значительно повышены предоперационные уровни hs-cTnT, а у 40% повысились послеоперационные уровни [82].

В другом исследовании при наблюдении 135 пациентов с обширными желудочно-кишечными операциями стандартный сTnI и hs-cTnI измеряли сразу после операции и через 8 и 24 ч. По сравнению со стандартным сTnI послеоперационные уровни hs-cTnI возрастали у большего количества пациентов и в более ранний послеоперационный период. При этом только повышение уровней hs-cTnI ≥ 99 -й百分или, а не стандартных тропонинов, было связано с повышением относительного риска смертности. Авторы полагают, что «hs-cTnI имеют преимущество при измерениях, направленных на оценку риска послеоперационных осложнений» [83].

Вот что показало одноцентровое наблюдение 1627 пациентов, перенесших некардиальную хирургию в 2011 г. Тропонин I измеряли с помощью теста 3-го поколения AssuTnI (99-я百分иль — 0,04 мкг/л) в течение первых трех послеоперационных дней. Уровни сTnI $> 0,06$ мкг/л считали связанными с миокардиальными повреждениями, и таких пациентов было обнаружено 19%. В течение 30 дней общая смертность составляла 3%. Относительный риск смерти при малом повышении сTnI (0,07–0,59 мкг/л) составлял 2,4, а при повышении уровней сTnI в 10–100 раз — 4,2. ИМ согласно второму универсальному определению был диагностирован у 10 пациентов (0,6%), из которых только 1 (0,06%) имел ИМ ST [84].

В целом результаты этих исследований продемонстрировали, что «*протокол, предусматривающий рутинное измерение послеоперационных тропонинов, является краеугольным камнем для выявления послеоперационных*

миокардиальных нарушений. Назначение измерения тропонина только на основании клинических подозрений занижает количество выявляемых кардиальных повреждений в три раза» [85].

Насколько полезным при некардиальной хирургии может оказаться многомаркерный подход для предоперационной оценки риска миокардиальных повреждений и для послеоперационной их диагностики?

Пред- и послеоперационные уровни BNP и NT-proBNP

В относительно раннем исследовании наблюдались 204 пациента, которые перенесли обширные некардиальные операции. Неблагоприятными исходами считались развитие острых коронарных повреждений (уровень сTnI > 0,32 нг/мл) или смерть в течение трех дней после операции. Как оказалось, предоперационные уровни BNP были повышены у пациентов с неблагоприятными исходами — 52,2 пг/мл против 22,2 пг/мл у пациентов без указанных исходов. При BNP > 40 пг/мл риск неблагоприятных исходов составлял 6,8. Особенно высокими предоперационные уровни BNP были у пациентов, у которых после операции имели место фибрилляция предсердий или изменение ST/T-волны на ЭКГ и повышение сTnI > 0,32 нг/мл [86].

В другом исследовании при долгосрочном наблюдении 654 пациентов, перенесших обширные некардиальные операции, были зафиксированы 204 (16%) летальных исхода, при этом у 17 пациентов они последовали от сердечно-сосудистых причин. Пограничный предоперационный уровень BNP, предсказывавший неблагоприятные исходы, составлял 35 пг/мл и был связан с повышением риска смерти в 3,5 раза и риска сердечно-сосудистой смерти в 6,9 раза. В общем, высокие предоперационные уровни BNP являются предикторами краткосрочных и долгосрочных неблагоприятных исходов после обширной некардиальной хирургии [87].

В дальнейшем при наблюдении 133 клинически стабильных пациентов с обширной некардиальной хирургией неблагоприятные исходы (госпитализация для миокардиальной реваскуляризации, ОКС, застойная сердечная недостаточность, общая смертность) фиксировались в течение 1 года. Как оказалось, у 14% пациентов имели место неблагоприятные исходы, включая 11% летальных случаев. При этом повышенные уровни BNP ≥ 50 пг/мл были связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов, составлявшим 6,5, независимо от послеоперационных уровней сTnI. Однако при повышенном предоперационном уровне BNP и послеоперационном сTnI ≥ 2 нг/мл риск неблагоприятных исходов составлял 25,2; при этом риск общей смертности составлял 18,7 [88].

В недавнем наблюдении 145 пациентов с плановой некардиальной хирургией уровни NT-proBNP измерялись до и после оперативного вмешательства. В течение 29 дней наблюдения у 17 (11,7%) пациентов имели мес-

то неблагоприятные исходы (14 нефатальных ИМ, две нефатальных остановки сердца, 4 кардиальные смерти). Оптимальные пограничные предоперационные и послеоперационные уровни NT-proBNP составили 917 и 2962 пг/мл соответственно. При этом риск неблагоприятных исходов для предоперационного NT-proBNP составлял 4,2 [89].

Сходные результаты были получены и у 297 пациентов с неотложной некардиальной хирургией. В течение трех лет неблагоприятные исходы (нефатальные ИМ, острая сердечная недостаточность или смерть) были зафиксированы у 31% пациентов. При этом предоперационные уровни NT-proBNP ≥ 725 пг/мл связаны с риском неблагоприятных исходов, составлявшим 4,8, а послеоперационные при ≥ 1600 пг/мл с риском 1,91. В целом, предоперационный NT-proBNP ≥ 1740 пг/мл повышал риск неблагоприятных исходов в 6,9 раза [90].

Мета-анализ 15 исследований, включавших наблюдение 4856 пациентов, перенесших некардиальную хирургию, показал, что предоперационный уровень BNP действительно сильно связан с краткосрочными (в течение 43 дней) неблагоприятными исходами, отношение рисков — 19,77. При этом риск общей смертности составлял 9,28, а риск кардиальной смерти — 23,88.

Таким образом, именно предоперационные уровни являются весьма сильными предикторами неблагоприятных исходов при некардиальной хирургии. В краткосрочном масштабе повышенный предоперационный BNP связан с повышением риска кардиальной смерти или нефатальных ИМ в 20 раз, и в 10 раз с повышением смертности от всех причин. В долгосрочном масштабе высокий предоперационный уровень BNP также связан с неблагоприятными исходами с отношением рисков 17,70, при этом риск общей смертности составляет 4,77 [91].

Другой мета-анализ 9 исследований, включавших 3821 пациента, перенесших некардиальную хирургию, показал, что повышенные предоперационные уровни BNP или NT-proBNP имелись у 24,8% пациентов, при этом у 9,6% пациентов были неблагоприятные сердечно-сосудистые исходы (кардиальная смерть, нефатальные ИМ, фибрилляция предсердий). В целом и этот мета-анализ показал, что именно высокие предоперационные уровни BNP и NT-proBNP — это очень сильный предиктор периоперационных сердечно-сосудистых событий, включавших 30-дневный риск кардиальной смерти, нефатальных ИМ, фибрилляции предсердий. Отношение рисков при этом составляет 44,2 [92].

Насколько полезным может быть совместное рутинное измерение пред- и послеоперационных уровней натрийуретических пептидов при некардиальной хирургии?

Мета-анализ результатов 18 исследований, включавших 2051 пациента, перенесших некардиальную хирургию, показал, что послеоперационные уровни BNP, составлявшие 245 пг/мл, предсказывали неблагоприятные исходы (общая смертность, нефатальные ИМ) в течение 30 дней со значением AUC ROC 0,71, а уровень

NT-proBNP 718 пг/мл — со значением AUC ROC 0,80. Эти пограничные уровни независимо от других показателей предсказывали 30-дневную смертность или нефатальные ИМ с отношением рисков 4,5; общую смертность — с отношением рисков 4,2, кардиальную смертность — с отношением рисков 9,4 и сердечную недостаточность — с соотношением рисков 18,5.

Что касается неблагоприятных исходов в течение 180 дней, то повышенный послеоперационный BNP предсказывал общую смертность или нефатальные ИМ с отношением рисков 3,3; общую смертность — с отношением рисков 2,2; кардиальную смертность — с отношением рисков 2,1 и сердечную недостаточность — с отношением рисков 3,5. При уровнях BNP от 0 до 250 пг/м доля неблагоприятных исходов составляла 6,6%; при 250–400 пг/мл — 15,7, а выше 400 пг/мл — 29,5%. При послеоперационном NT-proBNP от 0 до 300 пг/мл неблагоприятные исходы составляли 1,8%, при 300–900 — 8,7%, более 900 пг/мл — 27%. Авторы утверждают: «уровни натрийуретических пептидов, повышенные после некардиальной хирургии, связаны с неблагоприятными кардиальными событиями» [93].

В другом исследовании в течение двух лет наблюдались 89 гериатрических пациентов, перенесших неотложную ортопедическую хирургию нижних конечностей. Кардиальные осложнения включали ОИМ, застойную сердечную недостаточность, фибрилляцию предсердий, тяжелую аритмию (major arrhythmia) или смерть. Внутригоспитальные кардиальные осложнения зафиксированы у 25,8% лиц. Общая смертность составила: внутригоспитальная — 3,4%, в течение одного года — 23,6% и в течение двух лет — 30,3%. Медианные предоперационные уровни NT-proBNP у пациентов без внутригоспитальных кардиальных осложнений составили 387 против 1969 пг/мл у пациентов с указанными осложнениями (повышение в 5 раз), а послеоперационные — 676 против 7052 пг/мл (повышение в 10 раз). Оптимальный предоперационный пограничный уровень для выявления пациентов с высоким риском кардиальных осложнений составлял 842 пг/мл, а послеоперационный — 1401 пг/мл. Предоперационный уровень NT-pro-BNP \geq 842 пг/мл был независимым предиктором внутригоспитальных кардиальных осложнений с отношением рисков 11,6. Пациенты с предоперационным NT-pro-BNP \geq 842 пг/мл или с послеоперационным NT-pro-BNP \geq 1401 пг/мл имели значительно сниженную выживаемость. В целом, повышенные пред- и послеоперационные уровни NT-proBNP у пожилых пациентов, перенесших неотложную некардиальную хирургию, являются независимыми предикторами внутригоспитальных коронарных событий и летальности в течение одного и двух лет [94].

Недавний мета-анализ результатов 18 исследований, включавших наблюдение 2179 пациентов, перенесших некардиальную хирургию, показал, что добавление к предоперационному измерению BNP и NT-proBNP их

послеоперационного определения на 20% улучшает стратификацию 30-дневного риска и на 11% — 180-дневного риска неблагоприятных исходов у пациентов. Авторы полагают, «что дополнительное послеоперационное измерение уровней натрийуретических пептидов у пациентов, перенесших некардиальную хирургию, повышает эффективность стратификации пациентов согласно риску 30- и 180-дневных неблагоприятных исходов, включающих летальность или нефатальные ИМ» [95].

Проблемы терапии при периоперационном повышении тропонинов

Как указывалось, при хирургии активируется большое количество различных тромбогенных факторов и факторов, дестабилизирующих бляшки. Полагается, что периоперационное повышение тропонинов может быть результатом: 1) разрыва бляшки, сопровождающегося дистальной эмболизацией, или 2) тромбоза малых коронарных артерий. В данный момент согласованных рекомендаций по снижению послеоперационных уровней тропонинов для понижения риска осложнений, с этим связанных, нет. Однако уже проводятся клинические испытания эффективности дабигатрана (dabigatran) и омепразола (omeprazole), которые, как полагается, могут предотвратить смертность и сердечно-сосудистые осложнения у пациентов, перенесших некардиальную хирургию [96].

На данный момент рекомендуется, чтобы пациенты с молчаливым (бессимптомным) послеоперационным повышением тропонинов, прежде всего, были проконсультированы кардиологом [84]. При этом подчеркивается, что при отсутствии ишемических симптомов или характерных изменений на ЭКГ отличить разрыв бляшки от предсуществовавшей обструкции коронарных сосудов и от других причин, ведущих к повышению тропонинов, весьма затруднительно [84].

Хотя коронарная ангиография и является золотым стандартом для диагностики коронарных заболеваний, это не самый подходящий метод для его применения в ранний послеоперационный период. Поэтому в таких ситуациях для пациентов с бессимптомными повышениями тропонинов рекомендуется применение менее инвазивных подходов, таких как коронарная компьютерная томография или МРТ. С помощью компьютерной томографии могут быть диагностированы заболевания коронарных артерий, ТЭЛА и другие торакальные аномалии. МРТ может быть полезной для выявления дисфункции левого желудочка, патологии клапанов или кардиомиопатии Тако-дубо [84]. При этом локализация небольших повреждений миокарда с помощью МРТ с отсроченным контрастированием может быть полезной для понимания механизмов, связанных с выходом тропонинов в циркуляцию. А малоинвазивный метод ЭхоКГ может оказаться бесполезным из-за ожидаемого низкого качества изображений в раннем послеоперационном периоде, что делает невозможным выявление локальных нарушений движения сердечной стенки [84].

В целом, регулярное кардиологическое наблюдение после выписки пациентов с необъясненным повышением тропонинов является обязательным. При этом может быть рекомендовано проведение стресс-тестов. В течение нескольких недель после проведения нагрузки на пациента для выявления миокардиальной ишемии может быть полезным проведение фармакологического стресс-теста. Наиболее эффективными методами при этом могут быть ядерно-нуклидный стресс-тест и перфузионное магнитно-резонансное исследование. Обычный эргометрический стресс для применения на раннем послеоперационном периоде из-за его малой чувствительности и специфичности считается подходящим не может [84].

Послеоперационные пациенты с элевацией ST-сегмента должны получать терапию, рекомендуемую для терапии ИМ [84]. При выявлении развивающегося периоперационного миокардиального повреждения необходимо проведение первичного ЧКВ настолько быстро, насколько это доступно. При этом необходимо избегать имплантации стента, если это возможно, с целью ограничения тройной антитромботической терапии в ранний послеоперационный период. Однако дополнительная терапия с помощью бета-блокаторов и статинов является обязательной [84].

Для пациентов с выявленным послеоперационным ИМ Б ST необходимы мероприятия, направленные на предотвращение полной окклюзии коронарной артерии и развития ИМST. В дополнение к обычной профилактической антикоагуляционной терапии предлагается начинать ее с одного антитромботического препарата. Такая практика антитромботической терапии для послеоперационных пациентов отличается от рекомендуемой для пациентов с ИМ Б ST [97], но представляется логичной для снижения риска кровотечений в раннем послеоперационном периоде [84].

Теоретически может быть полезной терапия пациентов с послеоперационной миокардиальной патологией с помощью антитромботических препаратов, однако для пациентов с ТЭЛА могут быть полезны антикоагуляционные препараты. Однако при начале использования множественных анти-тромботических препаратов в немедленный послеоперационный период следует соблюдать предосторожность из-за потенциального риска кровотечений [84].

Для пациентов с «молчащим» повышением тропонинов и не имеющих ишемических изменений на ЭКГ индивидуализированная терапия с помощью бета-блокаторов и статинов должна назначаться исходя из причины неишемически повышенных тропонинов, которую следует устанавливать. При этом может быть полезным использование неинвазивного имаджинга [84].

В позднем послеоперационном периоде может быть целесообразным неинвазивное выявление ишемии или коронарная ангиография и проведение ЧКВ, контролируемого значениями регионального резерва кровотока [84].

Терапия пациентов с периоперационными повышенными тропонинами и ПОИМ после их выписки

Согласно зарубежным исследованиям, большинство пациентов, имевших установленные периоперационные повреждения миокарда, обычно покидают госпиталь без прохождения антитромбоцитарной терапии и без терапии статинами [25]. Результаты рандомизированных исследований, которые указывали бы на полезность такой терапии, пока нет, но есть отдельные указания, что такая терапия снижает смертность у пациентов с высоким риском [98].

Полагается, что с появлением возможности стратифицировать кардиальные риски у пациентов, подвергающихся некардиальной хирургии, с помощью высокочувствительных тропонинов, BNP и NT-proBNP появится возможность принимать обоснованные решения о назначении превентивной терапии аспирином и статинами еще до выписки соответствующих пациентов [99].

Заключение

1. Согласно критериями первого и второго всеобщего (универсального) определения ИМ (стандартное измерение тропонинов) частота ПОИМ при некардиальной хирургии может составлять 5–10% и более.
2. При этом только 35% пациентов, перенесших ПОИМ, действительно имеют манифестируемые ишемические симптомы ИМ.
3. Рутинный мониторинг уровней тропонина при некардиальной хирургии необходим для выявления ПОИМ, при этом повышенные послеоперационные тропонины свидетельствуют о плохом прогнозе, вне зависимости от того, являются ПОИМ симптоматическими или асимптоматическими.
4. Включение стандартных тропониновых тестов в протокол некардиальных операций повышает вероятность обнаружения послеоперационных миокардиальных повреждений в три раза.
5. Периоперационное повышение уровней высокочувствительных тропонинов выявляет количество пациентов с послеоперационным мионекрозом, в пять раз большее, чем повышение стандартных тропонинов.
6. Вероятность того, что у пациентов, назначаемых на некардиальную хирургию, будут неишемически (хронически) повышенные уровни высокочувствительных тропонинов, может быть весьма значительной, особенно у пожилых индивидов и у пациентов с высокой коморбидностью.
7. Неишемически повышенные предоперационные уровни hscTn сильно связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов.
8. При некардиальной хирургии повышенные предоперационные уровни натрийуретических пептидов связаны с повышением риска неблагоприятных исходов в 20–40 раз.
9. Рутинное пред- и послеоперационное измерение высокочувствительных тропонинов и натрийурети-

ческих пептидов у пациентов, назначаемых на некардиохирургическое вмешательство, весьма целесообразно для оценки риска развития периоперационных инфарктов миокарда и для мониторинга их тяжести.

Благодарности. Автор считает своей приятной обязанностью сердечно поблагодарить д.м.н. проф. Гильманова А.Ж. (Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа) за большую помощь, оказанную при подготовке данной статьи.

Автор благодарит Резникову О.И. (ЗАО «ДИА-КОН») за помощь в работе над текстом.

Литература

1. Weiser T.G., Regenbogen S.E., Thompson K.D. et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data // *Lancet*. 2008; 372: 139–144.
2. Landesberg G., Beattie W.S., Mosseri M. et al. Perioperative myocardial infarction // *Circulation*. 2009; 119: 2936–2944.
3. Lopez-Jimenez F., Goldman L., Sacks D.B. et al. Prognostic value of cardiac troponin T after noncardiac surgery: 6-month follow-up data // *J. Am. Coll. Cardiol*. 1997; 29: 1241–1245.
4. Godet G., Dumerat M., Baillard C. et al. Cardiac troponin I is reliable with immediate but not medium-term cardiac complications after abdominal aortic repair // *Acta Anaesthesiol. Scand*. 2000; 44: 592–597.
5. Kim L.J., Martinez E.A., Faraday N. et al. Cardiac troponin I predicts short-term mortality in vascular surgery patients // *Circulation*. 2002; 106: 2366–2371.
6. Landesberg G., Shatz V., Akopnik I. et al. Association of cardiac troponin, CK-MB, and postoperative myocardial ischemia with long-term survival after major vascular surgery // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2003; 42: 1547–1554.
7. Filipovic M., Jeger R., Probst C. et al. Heart rate variability and cardiac troponin I are incremental and independent predictors of one-year all-cause mortality after major noncardiac surgery in patients at risk of coronary artery disease // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2003; 42: 1767–1776.
8. Oscarsson A., Eintrei C., Ansker S. et al. Troponin T-values provide long-term prognosis in elderly patients undergoing non-cardiac surgery // *Acta Anaesthesiol. Scand*. 2004; 48: 1071–1079.
9. Kertai M.D., Boersma E., Westerhout C.M. et al. A combination of statins and betablockers is independently associated with a reduction in the incidence of perioperative mortality and nonfatal myocardial infarction in patients undergoing abdominal aortic aneurysm surgery // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg*. 2004; 28: 343–352.
10. Higham H., Sear J.W., Sear Y.M. et al. Perioperative troponin I concentration as a marker of long-term postoperative adverse cardiac outcomes: a study in high-risk surgical patients // *Anaesthesia*. 2004; 59: 318–323.
11. Bursi F., Babuin L., Barbieri A. et al. Vascular surgery patients: perioperative and long-term risk according to the ACC/AHA guidelines, the additive role of post-operative troponin elevation // *Eur. Heart J*. 2005; 26: 2448–2456.
12. Blecha M.J., Clark E.T., Worley T.A. et al. Predictors of electrocardiographic change, cardiac troponin elevation, and survival after major vascular surgery: a community hospital experience // *Am. Surg*. 2007; 73: 697–702.
13. McFalls E.O., Ward H.B., Moritz T.E. et al. Predictors and outcomes of a perioperative myocardial infarction following elective vascular surgery in patients with documented coronary artery disease: results of the CARP trial // *Eur. Heart J*. 2008; 29: 394–401.
14. Bolliger D., Seeberger M.D., Lurati Buse G.A. et al. A preliminary report on the prognostic significance of preoperative brain natriuretic peptide and postoperative cardiac troponin in patients undergoing major vascular surgery // *Anesth. Analg*. 2009; 108: 1069–1075.
15. Kouvelos G.N., Milionis H.J., Arnaoutoglou E.M. et al. Postoperative levels of cardiac troponin versus CK-MB and high-sensitivity C-reactive protein for the prediction of 1-year cardiovascular outcome in patients undergoing vascular surgery // *Coron. Artery Dis*. 2011; 22: 428–434.
16. Nagele P., Rao L.K., Penta M. et al. Postoperative myocardial injury after major head and neck cancer surgery // *Head Neck*. 2011; 33: 1085–1091.
17. Pearse R.M., Moreno R.P., Bauer P. et al. Mortality after surgery in Europe: a 7 day cohort study // *Lancet*. 2012; 380: 1059–1065.
18. Lalmohamed A., Vestergaard P., Klop C. et al. Timing of acute myocardial infarction in patients undergoing total hip or knee replacement: a nationwide cohort study // *Arch. Intern. Med*. 2012; 172: 1229–1235.
19. Ashton C., Peterson N., Wray N. et al. The incidence of perioperative myocardial infarction in men undergoing noncardiac surgery // *Ann. Intern. Med*. 1993; 1187: 504–10.
20. Badner N., Knill R., Brown J. et al. Myocardial infarction after noncardiac surgery // *Anesthesiology*. 1998; 88: 572–8.
21. Semel M.E., Lipsitz S.R., Funk L.M. et al. Rates and patterns of death after surgery in the United States, 1996 and 2006 // *Surgery*. 2012; 151: 171–182.
22. Levy M., Heels-Ansdell D., Hiralal R. et al. Prognostic value of troponin and creatine kinase muscle and brain isoenzyme measurement after noncardiac surgery: A systematic review and meta-analysis // *Anesthesiology*. 2011; 114: 796–806.
23. Lindenauer P.K., Pekow P., Wang K. et al. Perioperative beta-blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery // *N. Engl. J. Med*. 2005; 353: 349–361.
24. Brady A.R., Gibbs J.S., Greenhalgh R.M. et al. Perioperative Beta-Blockade (POBBLE) for patients undergoing infrarenal vascular surgery: results of a randomized double blind controlled trial // *J. Vasc. Surg*. 2005; 41: 602–609.
25. Devereaux P.J., Xavier D., Poque J. et al. Characteristics and short-term prognosis of perioperative myocardial infarction in patients undergoing noncardiac surgery // *Ann. Intern. Med*. 2011; 154: 523–528.
26. Wu W.C., Schiffner T.L., Henderson W.G. et al. Preoperative hematocrit levels and postoperative outcomes in older patients undergoing noncardiac surgery // *JAMA*. 2007; 297: 2481–2488.
27. Devereaux P.J., Yang H., Yusuf S. et al. Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing non-cardiac surgery (POISE trial): a randomised controlled trial // *Lancet*. 2008; 371 (9627): 1839–47
28. Hamm C.W., Bassand J.P., Agewall S. et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart J*. 2011; 32 (23): 2999–3054
29. Poldermans D., Bax J.J., Boersma E. et al. Guidelines for preoperative cardiac risk assessment and perioperative cardiac management in non-cardiac surgery. Task Force for Preoperative Cardiac Risk Assessment and Perioperative Cardiac Management in Non-cardiac Surgery; European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart J*. 2009; 30 (22): 2769–812.

30. Вельков В.В. Революция в кардиологии; высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: «тропонин-отрицательных больше нет» // Клинико-лабораторный консилиум. 2011; 4 (40): 24–43. [http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/Issue4\(40\)2011_\(24-43\).pdf](http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/Issue4(40)2011_(24-43).pdf) (последний доступ 02-12-2013)
31. Вельков В.В. Высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: тест, который спасает жизни // Клинико-лабораторный консилиум. 2012; 1 (41): 47–52. [http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/MagN1_41_\(1-47-52\).pdf](http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/MagN1_41_(1-47-52).pdf) (последний доступ 02-12-2013)
32. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S. et al. Third Universal Definition of Myocardial Infarction // *Circulation*. 2012; 126 (16): 2020–35. Русский перевод: Российский кардиологический журнал, 2013; 2 (100), Приложение 1: 1–6. http://scardio.ru/content/Guidelines/Rek_infarct_2013.pdf (последний доступ 02-12-2013)
33. Вельков В.В. Новые международные критерии инфаркта миокарда и высокочувствительные тропонины: новые возможности и новые проблемы // Клиническая лабораторная диагностика, 2014; в печати. <http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/NewInternationalcriteriaVVV3.pdf> (последний доступ 02-12-2013)
34. Jaffe A.S. Troponin-past, present, and future // *Curr. Probl. Cardiol*. 2012; 37 (6): 209–28.
35. Lippi G., Montagnana M., Aloe R., Cervellin G. High sensitive troponin immunoassays: navigating between the scylla and charybdis // *Adv. Clin. Chem*. 2012; 58: 1–29.
36. Hickman P.E., Potter J.M., Aroney C. et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis // *Clin. Chim. Acta*. 2010; 411: 318–23.
37. Jaffe A.S. Wu AHB Troponin Release – Reversible or Irreversible Injury? Should We Care? // *Clinical Chemistry*. 2012, 58: 1148–150.
38. Katus H.A., Giannitsis E. Jaffe AS Interpreting Changes in Troponin – Clinical Judgment Is Essential // *Clinical Chemistry*. 2012; 58 (1): 39–44.
39. Apple F.S. Standardization of Cardiac Troponin I Assays Will Not Occur in My Lifetime // *Clinical Chemistry*. 2012; 58: (1): 169–171.
40. Newby L.K., Jesse R.L., Babb J.D. et al. ACCF 2012 expert consensus document on practical clinical considerations in the interpretation of troponin elevations: a report of the American College of Cardiology Foundation task force on Clinical Expert Consensus Documents // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012; 11; 60 (23): 2427–63.
41. Thygesen K., Mair J., Giannitsis E. et al. How to Use High-Sensitivity Cardiac Troponins in Acute Cardiac Care // *Eur. Heart J*. 2012; 33 (18): 2252–2257.
42. Keller T., Zeller T., Ojeda F. et al. Serial changes in highly sensitive troponin I assay and early diagnosis of myocardial infarction // *JAMA* 2011; 306: 2684–2693.
43. Mingels A., Jacobs L., Michielsen E. et al. Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays // *Clin. Chem*. 2009; 55 (1): 101–108.
44. Scherr J., Braun S., Schuster T., Hartmann C., Moehlenkamp S., Wolfarth B. et al. 72-h kinetics of high-sensitivity troponin T and inflammatory markers after marathon // *Med. Sci. Sports Exerc*. 2011; 43: 1819–27.
45. Sabatine M.S., Morrow D.A., de Lemos J.A. et al. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35 // *Eur. Heart J*. 2009; 30 (2): 162–9.
46. Schlett C.L., Truong Q.A., Ahmed W. et al. High-sensitivity troponin T and C-reactive protein to identify patients without cardiac structural and functional abnormalities as assessed by cardiac CT and SPECT imaging: can biomarkers predict cardiac health? // *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. 2013; 29 (4): 865–73.
47. Ahmed W., Schlett C.L., Uthamalingam S. et al. Single Resting hsTnT Level Predicts Abnormal Myocardial Stress Test in Acute Chest Pain Patients With Normal Initial Standard Troponin // *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2013; 6 (1): 72–82.
48. Javed U., Aftab W., Ambrose J.A., Wessel R.J., Mouanoutoua M., Huang G. et al. Frequency of elevated troponin I and diagnosis of acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol*. 2009; 104: 9–13.
49. Januzzi J.L.Jr., Bamberg F., Lee H. et al. High sensitivity troponin T concentrations in acute chest pain patients evaluated with cardiac computed tomography // *Circulation*. 2010; 121 (10): 1227–1234.
50. Irfan A., Twerenbold R., Reiter M. et al. Determinants of high-sensitivity troponin T among patients with a noncardiac cause of chest pain // *Am. J. Med*. 2012; 125 (5): 491–498.
51. Nadir M.A., Rekhraj S., Wei L. et al. Improving primary prevention of cardiovascular events by using biomarkers to identify individuals with silent heart disease // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012; 60: 960–8.
52. Shah A.S., Langrish J.P., Li X., Jiang L., Newby D.E., Mills N.L. Cardiac troponin reflects silent myocardial ischemia in patients with stable coronary artery disease // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012; 59: E1415.
53. McFalls E.O., Larsen G., Johnson G., Apple F.S., Goldman S., Arai A. et al. Long-term outcomes of hospitalized patients with a non-acute syndrome diagnosis and an elevated cardiac troponin level // *Am. J. Med*. 2011; 124: 630–635.
54. Alcalai R., Planer D., Culhaoglu A. et al. Acute coronary syndrome vs nonspecific troponin elevation: clinical predictors and survival analysis // *Arch. Intern. Med*. 2007; 167 (3): 276–281.
55. Mueller M., Vafaie M., Biener M. Cardiac troponin T. From Diagnosis of Myocardial Infarction to Cardiovascular Risk Prediction // *Circ. J*. 2013; 77 (7): 1653–61.
56. Januzzi J.L.Jr., Filippatos G., Nieminen M. et al. Troponin elevation in patients with heart failure: on behalf of the third Universal Definition of Myocardial Infarction Global Task Force: Heart Failure Section // *Eur. Heart J*. 2012; 33 (18): 2265–71.
57. Nagarajan V., Hernandez A.V., Tang W.H. Prognostic value of cardiac troponin in chronic stable heart failure: a systematic review // *Heart*. 2012; 98 (24): 1778–86.
58. Lankeit M., Friesen D., Aschoff J., Dellas C., Hasenfuss G., Katus H. et al. Highly sensitive troponin T assay in normotensive patients with acute pulmonary embolism // *Eur. Heart J*. 2010; 31: 1836–1844.
59. Filusch A., Giannitsis E., Katus H.A., Meyer F.J. High-sensitive troponin T: A novel biomarker for prognosis and disease severity in patients with pulmonary arterial hypertension // *Clin. Sci. (Lond)*. 2010; 119: 207–213.
60. Kanderian A.S., Francis G.S. Cardiac troponins and chronic kidney disease // *Kidney Int*. 2006; 69: 1112–4.
61. Wang A.Y., Lai K.N. Use of cardiac biomarkers in end-stage renal disease // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2008; 19: 1643–52.
62. Khan N.A., Hemmelgarn B.R., Tonelli M. et al. Prognostic value of troponin T and I among asymptomatic patients with end stage renal disease: a meta-analysis // *Circulation*. 2005; 112: 3088.
63. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease // *Kidney international, Suppl*. 2013; 3: 1–150.
64. Landesberg G. The pathophysiology of perioperative myocardial infarction: facts and perspectives // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth*. 2003; 17 (1): 90–100.
65. Priebe H.J. Triggers of perioperative myocardial ischaemia and infarction // *Br. J. Anaesth*. 2004; 93 (1): 9–20.
66. Priebe H.J. Perioperative myocardial infarction--aetiology and prevention // *Br. J. Anaesth*. 2005; 95 (1): 3–19.

67. Gualandro D.M., Campos C.A., Calderaro D. et al. Coronary plaque rupture in patients with myocardial infarction after noncardiac surgery: Frequent and dangerous // *Atherosclerosis*. 2012; 222: 191–195.
68. Devereaux P.J., Goldman L., Cook D.J. et al. Perioperative cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: A review of the magnitude of the problem, the pathophysiology of the events, and methods to estimate and communicate risk // *CMAJ*. 2005; 173: 627–34.
69. Dawson-Bowling S., Chettiar K., Cottam H. et al. Troponin T as a predictive marker of morbidity in patients with fractured neck of femur // *Injury*. 2008; 39: 775–780.
70. Chong C.P., Lam Q.T., Ryan J.E. et al. Incidence of postoperative troponin I rises and 1-year mortality after emergency orthopaedic surgery in older patients // *Age Ageing*. 2009; 38: 168–174.
71. Redfern G., Rodseth R.N., Biccard B.M. Outcomes in vascular surgical patients with isolated postoperative troponin leak: a meta-analysis // *Anaesthesia*. 2011 Jul; 66 (7): 604–10.
72. Beattie W.S., Karkouti K., Tait G. et al. Use of clinically based troponin underestimates the cardiac injury in non-cardiac surgery: a single-centre cohort study in 51,701 consecutive patients // *Can. J. Anaesth*. 2012 Nov; 59 (11): 1013–22.
73. Lee T.H., Marcantonio E.R., Mangione C.M. et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery // *Circulation*. 1999; 100: 1043–1049.
74. Boersma E., Ketaj M.D., Schouten O. et al. Perioperative cardiovascular mortality in noncardiac surgery: validation of the Lee cardiac risk index // *Am. J. Med*. 2005; 118: 1134–1141.
75. Ford M.K., Beattie W.S., Wijesundera D.N. Systemic review: prediction of perioperative cardiac complications and mortality by the revised cardiac risk index // *Ann. Intern. Med*. 2010; 152: 26–35.
76. Devereaux P.J., Chan M.T. et al. Vascular Events In Noncardiac Surgery Patients Cohort Evaluation (VISION) Study investigators. Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery // *JAMA*. 2012; 307: 2295–2304.
77. Kopolovic I., Simmonds K., Duggan S. et al. Elevated cardiac troponin in the early post-operative period and mortality following ruptured abdominal aortic aneurysm: a retrospective population-based cohort study // *Crit. Care*. 2012; 16 (4): R147.
78. Muehlschlegel J.D. If a Troponin Falls in a Forest but No One Measures It, Does It Really Matter? // *Anesthesiology*. 2011; 114: 732–3.
79. Nagele P., Brown F., Gage B.F. et al. High-sensitivity cardiac troponin T in prediction and diagnosis of myocardial infarction and long-term mortality after noncardiac surgery // *Am. Heart J*. 2013; 166 (2): 325–332.
80. Alcock R.F., Kouzios D., Naoum C. et al. Perioperative myocardial necrosis in patients at high cardiovascular risk undergoing elective non-cardiac surgery // *Heart*. 2012; 98 (10): 792–8.
81. Weber M., Luchner A., Manfred S. et al. Incremental value of high-sensitive troponin T in addition to the revised cardiac index for peri-operative risk stratification in non-cardiac surgery // *Eur. Heart J*. 2012 Dec. 19.
82. Kavsak P.A., Walsh M., Srinathan S. et al. High sensitivity troponin T concentrations in patients undergoing noncardiac surgery: a prospective cohort study // *Clin. Biochem*. 2011; 44 (12): 1021–4.
83. Lee G.R., Jhanji S., Tarrant H. et al. Peri-operative troponin monitoring using a prototype high-sensitivity cardiac troponin I (hs-cTnI) assay: comparisons with hs-cTnT and contemporary cTnI assays // *Ann. Clin. Biochem*. 2013 Sep 18. [Epub ahead of print]
84. van Waes J.A., Nathoe H.M., de Graaff J.C. et al. Myocardial injury after noncardiac surgery and its association with short-term mortality // *Circulation*. 2013 Jun 11; 127 (23): 2264–71.
85. Beattie W.S., Wijesundera D.N. Perioperative cardiac biomarkers: the utility and timing // *Curr. Opin. Crit. Care*. 2013; 19 (4): 334–41.
86. Cuthbertson B.H., Amiri A.R., Croal B.L. et al. Utility of B-type natriuretic peptide in predicting perioperative cardiac events in patients undergoing major non-cardiac surgery // *Br. J. Anaesth*. 2007; 99 (2): 170–6.
87. Cuthbertson B.H., Amiri A.R., Croal B.L. et al. Utility of B-type natriuretic peptide in predicting medium-term mortality in patients undergoing major non-cardiac surgery // *Am. J. Cardiol*. 2007; 100 (8): 1310–3.
88. Bolliger D., Seeberger M.D., Lurati Buse G.A. et al. A preliminary report on the prognostic significance of preoperative brain natriuretic peptide and postoperative cardiac troponin in patients undergoing major vascular surgery // *Anesth. Analg*. 2009; 108 (4): 1069–75.
89. Borges F.K., Furtado M.V., Rossini A.P. et al. Prognostic value of perioperative N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in noncardiac surgery // *Arq. Bras. Cardiol*. 2013; 100 (6): 561–70.
90. Farzi S., Stojakovic T., Marko T. et al. Role of N-terminal pro B-type natriuretic peptide in identifying patients at high risk for adverse outcome after emergent non-cardiac surgery // *Br. J. Anaesth*. 2013; 110 (4): 554–60.
91. Ryding A.D., Kumar S., Worthington A.M., Burgess D. Prognostic value of brain natriuretic peptide in noncardiac surgery: a meta-analysis // *Anesthesiology*. 2009; 111: 311–319.
92. Karthikeyan G., Moncur R.A., Levine O. et al. Is a pre-operative brain natriuretic peptide or N-terminal pro-B-type natriuretic peptide measurement an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes within 30 days of noncardiac surgery? A systematic review and meta-analysis of observational studies // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2009; 54 (17): 1599–606.
93. Rodseth R.N., Biccard B.M., Chu R. et al. Postoperative B-type natriuretic peptide for prediction of major cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: systematic review and individual patient meta-analysis // *Anesthesiology*. 2013; 119 (2): 270–83.
94. Chong C.P., Ryan J.E., van Gaal W.J. et al. Usefulness of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict postoperative cardiac complications and long-term mortality after emergency lower limb orthopedic surgery // *Am. J. Cardiol*. 2010; 106 (6): 865–72.
95. Rodseth R.N., Biccard B.M., Le Manach Y. et al. The prognostic value of preoperative and postoperative B-type natriuretic peptides (BNP and NT proBNP) in patients having noncardiac surgery: A systematic review and individual patient data meta-analysis // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2013 Sep 25.
96. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01661101?term=jdevereaux&rank=2> (последний доступ 02-12-2013)
97. Hamm C.W., Bassand J.P., Agewall S. et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart J*. 2011; 32: 2999–3054.
98. Gordon E.K., Fleisher L.A. Reducing perioperative cardiac morbidity and mortality: is this the right goal? // *Curr. Opin. Crit. Care*. 2013; 19 (4): 342–5.
99. Gordon E.K., Fleisher L.A. Reducing perioperative cardiac morbidity and mortality: is this the right goal? // *Curr. Opin. Crit. Care*. 2013; 19 (4): 342–5.

РОЛЬ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ В ДИАГНОСТИКЕ, ОЦЕНКЕ, ТЯЖЕСТИ И ЛЕЧЕНИЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

А. Г. РАХМАНОВА, З. Н. ЛИСИЦИНА

ГБУЗ Центр по профилактике и борьбе со СПИД и кафедра социально-значимых инфекций ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

***Резюме.** Наиболее распространенными вирусными инфекциями в мире являются: грипп, хронические вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекция. Заболеваемость ежегодно увеличивается, наряду с этим наблюдаются изменчивость вирусов и обилие их вариантов, между которыми нет перекрестного иммунитета, мутация вирусов, появление новых разновидностей и особенностей патогенеза, что делает крайне сложной профилактику этих инфекций с использованием вакцин и противовирусных препаратов. Авторами даются современные рекомендации по подбору противовирусной терапии при вышеперечисленных инфекциях и мониторингу процесса лечения.*

***Ключевые слова:** вирусные инфекции, грипп, вирусный гепатит В и С, ВИЧ, противовирусное лечение, мониторинг.*

ROLE OF VIRAL REPLICATION IN DIAGNOSIS, MONITORING, SEVERITY EVALUATION AND TREATMENT OF VIRAL INFECTIONS

A. G. RAHMANOVA, Z. N. LISITSINA

State Budget Healthcare Institution Center for HIV prevention and treatment;

State Budget educational institution for Higher professional education

«First Saint-Petersburg State I. P. Pavlov Medical University», Ministry of Health care, Russia,

Department for social important infections

***Summary.** The most prevalent viral infections in the world are influenza, viral hepatitis and HIV. The prevalence of these is annually increasing. Modification and mutations of viruses, frequency of their variants and peculiarities of pathogenesis lead to the difficulties in the prevention of these infections. Because of these facts the monitoring of the infections is necessary as well as monitoring of the etiotropic treatment efficacy. The authors give modern recommendations for antiviral treatment choice in above mentioned infections and monitoring of this treatment.*

***Key words:** viral infections, influenza, viral hepatitis B and C, HIV, antiviral treatment, monitoring*

Данные для корреспонденции

Лисицина Зоя Николаевна, к. м. н., заведующая клинико-диагностической лабораторией СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; 198103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179; тел.: +7 (812) 251-98-48

Роль репликации вирусов в диагностике, оценке тяжести и лечении вирусных инфекций

А.Г. РАХМАНОВА, З.Н. ЛИСИЦИНА
ГБУЗ Центр по профилактике и борьбе со СПИД
и кафедра социально-значимых инфекций ПСПбГМУ им. И.П. Павлова

Наиболее распространенными вирусными инфекциями в мире являются грипп, хронические вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекция. При этом заболеваемость ежегодно увеличивается. Наряду с этим, наблюдаются изменчивость вирусов и обилие их вариантов, между которыми нет перекрестного иммунитета, мутации вирусов, появление новых разновидностей, что делает крайне сложной профилактику этих инфекций с использованием вакцин и противовирусных препаратов.

Эти обстоятельства определяют необходимость мониторинга развития этих инфекций и, в особенности, этиотропной противовирусной терапии, эффективность которой может учитываться лишь при оценке титров вируса или при терапии, назначаемой исходя из вирусологического ответа. Этим определяется клиническая эффективность лечения.

Противовирусная терапия гриппа H₁N₁

Эпидемия высокопатогенного гриппа H₁N₁ в С.-Петербурге зарегистрирована в 2009 году. Тогда умерли 30 больных, эндемичные случаи продолжают наблюдаться. Доказано, что при тяжелых формах гриппа с развитием вирусной пневмонии выявляются высокая степень репликации вируса или высокая вирусная нагрузка и длительное его выявление в бронхоальвеолярном содержимом. Ввиду этого противовирусные препараты (осельтамивир 150 мг × 2 раза в день, занамивир по 5 мг 2 ингаляции в день) следует назначать при постоянном мониторинге репликации вируса по данным ПЦР с 1-го по 21-й день болезни. Как правило, у умерших на 14–20-й день болезни выделен вирус из ткани легкого и других органов.

Вирусные гепатиты

В мире насчитывается более 350 млн больных с гепатитом В и С, от последствий которых (цирроз и рака печени) умирает ежегодно более 10 млн человек. В Санкт-Петербурге регистрируется ежегодно свыше 10 000 новых случаев гепатитов В и С — преимущественно хронических форм заболевания.

Более 15 000 тыс. пациентов в кабинетах инфекционных заболеваний (КИЗ) поликлиник и стационаров **ежегодно** нуждаются в противовирусной терапии по данным вирусологических исследований, биохимическим показателям и степени выраженности фиброза.

Таблица 1. Список лабораторных параметров для обоснования терапии при ХВГВ и С

Показатель	Результат	Показатель	Результат
АЛТ		Лейкоциты	
АСТ		Тромбоциты	
Билирубин		СОЭ	
Амилаза		Лейкоциты, абс. числа	
Креатинин		HBsAg нейтрофилы	
Щел. фосфатаза		HBsAb	
Холестерин		HBcorAb	
Тимол. проба		HBeAg	
ГГТП		HBeAb	
Глюкоза		HDVAb	
Общий белок		* PCR DNA HBV кач.	
Альбумин		*PCR DNA HBV кол.	
Аутоиммунная панель ТГГ, ТЗ, Т4		HCV Ab ПЦР количественная	
		генотип	
Гаммаглобулины		*АФП	
Fe сыворотки		УЗИ органов брюшной полости, диаметр VP	
JL 28		*Пункционная биопсия печени	
Hb Эритроциты		*Фибротест или *Фиброскан	

Таблица 2. Распределение пациентов по степени фиброза и активности трансаминаз в начале терапии

	ХВГВ	ХВГВ + D	ХВГС
Степень фиброза			
F0-2	280 (48%)	35 (58%)	510 (48,5%)
F3-4	300 (52%)	25 (42%)	540 (51,5%)
Активность трансаминаз			
N	50 (9%)	5 (8%)	189 (15%)
до 100 ммоль/л	280 (48%)	40 (67%)	336 (32%)
> 100 ммоль/л	200 (43%)	15 (25%)	525 (50%)

Распределение пациентов по степени вирусной нагрузки

Гепатит	Вирусная нагрузка	Количество пациентов
ХВГВ	> 100 000 МЕ	307 (53%)
ХВГВ + D	PCR HDV +	60 (100%)
ХВГС	> 700 000 МЕ/мл	672 (64%)

Таблица 3. Схема мониторинга противовирусной терапии хронического вирусного гепатита С

Параметры и процедуры ФИО, район, профессия, инвалидность	Скрининг	Наблюдение по срокам терапии (недели)								Наблюдение после терапии (недели) УВО			
		Недели наблюдения	До 30 дней*	Старт терапии	2	4	8	12* РВО	16	20	24/ 48/72*	4	12
Дата													
Физикальный осмотр	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
RW, Ф-50, HBsAg, HBeAb	×												
*ПЦР количественная	×					×				×			
*Генотипирование ВГС	×												
Клинический анализ крови с тромбоцитами	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Биохимический профиль	×	×			×	×				×	×	×	×
ТЗ, Т4, ТТГ, АТ к ТГ	×					×				×			×
УЗИ органов брюшной полости, диаметр VP	×												
*Пункционная биопсия печени (Фибротест, Фиброскан)	×									×			×
Оценка побочных эффектов противовирусной терапии (нейтрофилы, эритроциты, тромбоциты)				×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

* Госпитализация, добавить выписки к карте

Таблица 4. Результаты мониторинга больных ХГС генотип 1 (Пег ИФН)

Степень фиброза	0; 1; 2	3	4	Итого
Вирусная нагрузка	120	23	46	189
АЛТ до 100	101	16	42	159
АЛТ выше 100	19	7	4	30
БВО	67 (55%)	11 (47%)	15 (32%)	0
РВО	95 (79%)	16 (69,5%)	23 (50%)	0
ВН до 700 тыс.	56	10	28	94
ВН выше 700 тыс.	64	13	18	95
Вир. прорыв			7 (15%)	
Отказ от лечения (поб. эффекты)	9+2 (10%)	7+2 (39%)	5 (11%)	
Рецидив	5 (4%)	2 (9%)	4 (9%)	
УВО через 6 мес.	Из 60 – 44 (70%)	Из 40 – 20 (50%)		

Клинические примеры

Случай № 1

Больной Н-в Намик 1972 г., директор магазина, житель С.-Петербурга с 1992 г.

Диагноз. Хронический вирусный гепатит D, фаза репликации по HDV с минимальной активностью HBV, холецистит, камней нет, фиброз 4, установлен в стационаре КИБ им. С.П. Боткина в 2011 году. До этого диспепсический синдром, ноющие боли в правом подреберье, желтухи никогда не было. В больницах не лежал, считал себя здоровым. В семье все здоровы (жена и 2 детей привиты от гепатита В). Эпизодически в прошлом вводил наркотики. Сердечно-легочная система в норме, телеангиэктазий нет, «печеночные ладони». Селезенка + 1,5, печень + 3, асцит ±, вены пищевода расширены 1 степени. Лабораторные исследования — см. таблицу 5.

Тиберал 5 дней 2 курса до лечения Пегасисом и повторно Силибор (Легалон 140) — 1 год, Гептрал 2 курса в стационаре, систематически Телбивудин → Энтекавир с 22.09.2013. Пегасис 180 мкг 1 раз в неделю с 22.02.2013 реакция на Пегасис + (t`), 23.02.2013 Нейпомакс 30 МЕ № 3 в связи со снижением нейтрофилов и тромбоцитов.

Таблица 5. Лабораторные данные к случаю № 1

Показатели	Начало терапии 03.02.13	Стационар 04.2013	05.2013	16.04–05.2013	17.06.2013	21.08.2013
Билирубин	8,1	9,1	10,1	9,4	8,9	8,0
АЛТ ед.	460	267	260	266	236	197
Эритр.	4,1	4,0	4,5	4,6	4,1	4,2
Нейтроф. абс	1,6	—	0,63	0,69	1,41	1,56
Тромбоциты	85	56	49	69	82	76
T4 (щитов. жел.)	N			N	N	N
JgJ, JgM, HCV, ПЦР	Отр.	Отр.		Отр.	Отр.	Отр.
HBsAg	+ 2446,8 МЕ/мл	+	+	+ 2446,8 МЕ/мл	+ 1444 МЕ/мл	+ 1440 МЕ/мл
РНК HDV	+	+ 100 млн МЕ	—	+	+	+ 5 млн МЕ
ДНК HBV	+	+ 1500 МЕ	—	+	—	+
Глюкоза			5,15		4,7	4,2
Холестерин			4,7		—	—
ЛПВП			2,9		—	—
ЛПНП коэф. эстерификации			2,7 3,8 (N)			
Липаза			36 N		—	—
Триглицериды			198 N		—	—
Альбумин г/л			47,9	N	40,1	40,2

Лабораторный мониторинг лечения HCV гепатита, генотип 3a

Случай № 2

Больной Б-в Сергей 52 г. (1961 г.р.) Красногвардейский р-н, С.-Петербург, бизнесмен.

Случайно при обследовании 5 июня 2013 года выявлены анти-HCV, жалобы периодически на слабость, печень + 1,5 см, селезенка +, асцит ±. В анамнезе заболеваний нет, живет с женой, взрослый сын, живет отдельно. У жены выявлен гепатит С, острый с переходом в хронический гепатит в июне 2013 года. От гепатита В привиты.

Диагноз: хронический гепатит С, генотип 3 фаза репликации, F4 варикозное расширение вен 1 степени, асцит ±, по Чайльд Пью класс А. Лабораторные данные — см. таблицу 6.

Получает: Рибавирин 1,200 г ежедневно, Пегасис 180 мкг раз в неделю (24–48 (?) — нед.), Легалон 1 раз в неделю, Фосфоглиф курсами, соблюдение диеты.

Таблица 6. Данные лабораторных исследований (случай № 2)

Показатели	До лечения 18.06.2013	10.07.2013 БВО 4 нед	12.08.2013	РВО 12 недель 10.09.2013	УВО 24 недели	36 недель
Билирубин	18,0			8,9		
Креатинин	88,0			86		
АЛТ	75	57	64	26		
АСТ	61	60	58	20		
Генотип 3a ПЦР вирусная нагрузка МЕ/ мл	27 млн	13 600		0		
Гемоглобин	150	140		145		
Тромбоциты	180	185	156	154		
Нейтрофилы абс.	1,8	1,16	1,02	1,16		
Лейкоциты	3,44		3,6	4,1		
ТТГ	N	побочных эффектов нет		N		
Альбумин	46,6			48,6		
Холестерин	3,49			4,1		
Глюкоза						

Случай № 3

Больной С-ков И.И. с диагнозом хронический гепатит D в стадии цирроза печени с активной репликацией HDV (HDV RNK 2 млн 150 тыс. коп/мл), варикозно расширенными венами пищевода 2 степени, асцит ±, язвой желудка, желчно-каменной болезнью консультирован на городской инфекционной гепатологической Комиссии по назначению противовирусной терапии больным ХВГ, а также в НИИ рентгенологии и радиологии у профессора Гранова Д. А. о необходимости пересадки печени (заключение прилагается).

Рекомендовано оформить инвалидность (II–III группы), продолжить противовирусную терапию, увеличив дозу Роферона до 3 млн 2 раза в неделю (не более из-за тромбоцитопении), тиберал 0,5 × 2 раза после еды 5 дней (язва желудка → гепатопротекторы, консультация у эндоскописта для решения вопроса о лигировании вен пищевода).

При ухудшении повторная консультация в НИИ радиологии и у инфекционистов гепатологов Санкт-Петербурга.

Случай № 4

Больная М-к Оксана 33 г. Вес 94 кг, рост 154 см.

Диагноз: установлен впервые в 2003 году в стационаре. Жалоб не было. Мать 3 детей, работает. Биопсия печени: стеатоз печени, без анулярной перестройки, фиброз, некротическая реакция.

Назначен Пегинтрон 150 мкг/раз в нед., рибавирин 1400.

Показатели	03.05.2011	12.07.2011	04.10.2011	24.01.2012	17.04.2012
Гемоглобин	40,0	113	72,6	113	127
Эритроциты	159	3,56	2,23	339	386
Лейкоциты	5,41	2,8	1,52	2,13	4,17
Нейтрофилы	5,1	2,1	0,776	1,25	2,39
Лимфоциты	1,41		0,56	0,535	1,23
Тромбоциты	230	217	141	190	280
АЛТ	152	65	48,0	35,4	61,0
АСТ		59	66,0	47,3	54,0
Билирубин	9,0	13,3	11,0	10,1	11,0
Креатинин	5,58	81	74,0	82,0	
Сахар		4,9	5,65	5,95	6,2
ТТГ		5,6	50,04		
Генотип 1b ПЦР HCV ME/мл		38446	—	—	—

Случай № 5

Больная К., 42 г. инвалид 2 гр., хронический вирусный гепатит В, цирротическая стадия, декомпенсация. Портальная гипертензия. Варикозно расширенные вены пищевода 1–2 стадии телеангиэктазии. Асцит более 10 литров, не купируемый альбумином, мочегонный парацентез без эффекта.

Выявлена впервые в период беременности, в 2006 году, HBsAg, асцит с 2010 года, АЛТ 175 ед., креатинин 0,1 ммоль, билирубин 126 г/л, Hb – 74 г/л, L – 11,3, СОЭ – 60. УЗИ печени – вр 14 мм.

Стационары КИБ 30 и ГГЦ декабрь 2012 г. HBsAg отриц., сумм. антиHBV+, ДНК HBV отр., антиHBe+. Аутоиммунный профиль без особенностей. Альбумины 50%, γ глобулины 20,6.

Поставлена в лист ожидания на пересадку печени, найден родственник донор 25 декабря 2012 г.

С 5 января 2013 года получает Сибиво 600 мг/сутки. Через 2 месяца на фоне стандартной терапии асцит ±, печень + 3 см, селезенка 1,5.

Длительность терапии у ранее леченных пациентов без цирроза определяется в зависимости от вирусологического ответа («терапия по вирусологическому ответу»)

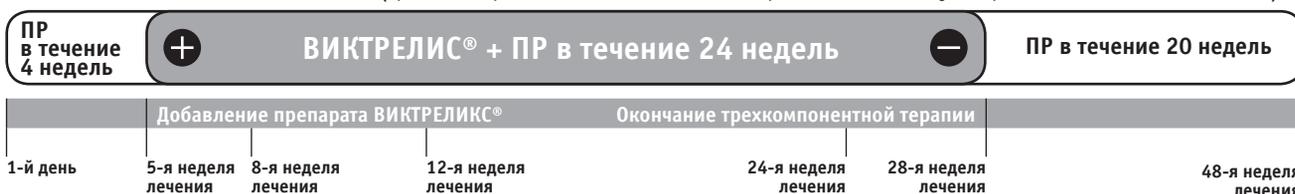
Рисунок 1

Ранний ответ: Неопределяемый уровень РНК ВГС⁺ на 8 неделе лечения и на 24 неделе лечения.

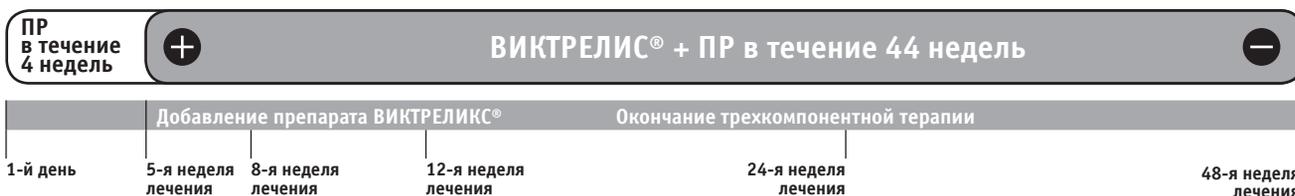
Общая длительность лечения составляет 28 недель (сокращение последних 5 месяцев двойной терапии ПР)



Поздний ответ: Определяемый уровень РНК ВГС на 8 неделе лечения, но неопределяемый на 24 неделе лечения. Общая длительность лечения составляет 48 недель* (тройная терапия до 28 недели, затем продолжить двойную терапию ПР с 28 по 48 неделю)



Длительность терапии у наивных пациентов с циррозом³



* Учитывая повышение риска развития нежелательных явлений при приеме препарата ВИКТРЕЛИС® (особенно анемии), в случае, если пациент не в состоянии переносить лечение, 12 последних недель тройной терапии можно заменить 12 неделями двойной терапии.

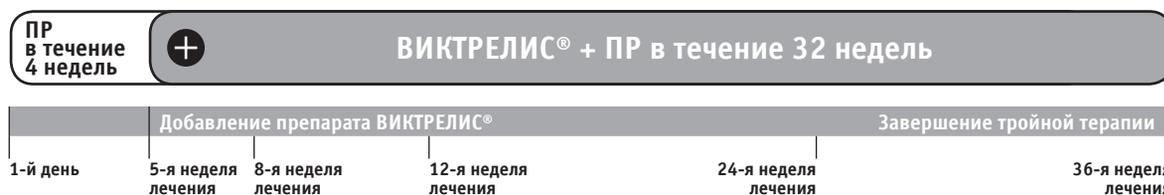
Терапия ХГВС, проводимая по наличию/отсутствию вирусологического ответа

Схема лечения рефрактерных больных отражена на рис. 2. Эту схему применяют у пациентов, у которых предыдущая терапия была неэффективной (пациенты, частично ответившие на лечение или имевшие рецидив). Длительность терапии у пациентов с неэффективной предшествующей терапией без цирроза печени определяется в зависимости от вирусологического ответа («терапия по вирусологическому ответу»)

Рисунок 2

Ранний ответ: Неопределяемый уровень РНК ВГС⁺ на 8 неделе лечения и на 24 неделе лечения.

Общая длительность лечения составляет 36 недель



Поздний ответ: Определяемый уровень РНК ВГС на 8 неделе лечения, но не определяемый на 24 неделе лечения. Общая длительность лечения составляет 48 недель* (тройная терапия до 36 недели, затем продолжить двойную терапию ПР с 36 по 48 неделю)



Длительность терапии у ранее леченых пациентов с циррозом и/или нулевым ответом на предшествующую терапию.



* Учитывая повышение риска развития нежелательных явлений при приеме препарата ВИКТРЕЛИС® (особенно анемии), в случае, если пациент не в состоянии переносить лечение, 12 последних недель тройной терапии можно заменить 12 неделями двойной терапии.

Проблемы терапии ВИЧ/СПИД

Таблица 7. Оценочные показатели пораженности ВИЧ/СПИДом (% числа людей, живущих с ВИЧ, от населения)

РОССИЯ 0,8 (1,2 млн на 143 млн)			
США 0,4 (1,2 млн на 314 млн)		Германия < 0,1 (67 тыс. на 81 млн)	
Франция 0,4 (150 тыс. на 65 млн)		Бразилия 0,4 (0,7 млн на 190 млн)	
Англия 0,17 (85 тыс. на 62 млн)		Китай 0,01 (1,2 млн на 1350 млн)	

Из доклада руководителя Федерального центра СПИДа акад. В.В. Покровского на Международной научно-практической конференции по военной медицине. Санкт-Петербург, 29 октября 2013 года.



Нобелевская премия за ВИЧ – 25 лет спустя...
Л. Монтань, Ф. Барр-Синусси открыли ВИЧ в 1983 году



Роберт Галлс и Аза Гасановна Рахманова – участники
Московской Международной недели вирусологии.
Москва, сентябрь 2013 года

Цели антиретровирусной терапии

Вирусологические цели

Снизить вирусную нагрузку до минимального уровня (до <50 коп/мл) и удерживать ее на этом уровне в течение как можно более длительного времени, чтобы замедлить прогрессирование заболевания и предотвратить формирование резистентности.

Клинические цели

Увеличить продолжительность жизни больных и улучшить качество жизни, сохранить работоспособность.

Иммунологические цели

Восстановить функцию иммунной системы, как количественные показатели (повышение количества лимфоцитов CD4 до нормального уровня), так и качественные (восстановление адекватного патоген-специфического иммунного ответа).

Эпидемиологические цели

Уменьшить число случаев передачи ВИЧ за счет снижения содержания вируса в крови, сперме и вагинальном секрете.

Таблица 8. Минимальный мониторинг лабораторных показателей при АРВТ первого ряда

Схема	Исходные показатели	Показатели в ходе терапии (в зависимости от симптоматики)
AZT/3TC/EFV	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка (РНК ВИЧ коп/мл) • Гемоглобин • Общий анализ крови • Тест на беременность • CD4 	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • Гемоглобин • Лейкоцитарная формула • CD4 каждые 6 мес.
AZT/3TC/NVP	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • Гемоглобин • Общий анализ крови • CD4 	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • Гемоглобин • Лейкоцитарная формула • АЛТ на предмет токсичности • CD4 каждые 6 мес
d4T/3TC/EFV	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • Тест на беременность • CD4 	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • CD4 каждые 6 мес.
d4T/3TC/NVP	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • CD4 	<ul style="list-style-type: none"> • Вирусная нагрузка • АЛТ на предмет токсичности • CD4 каждые 6 мес.

Критерии неэффективности АРВ терапии (ФНМЦ СПИД)

Вирусологические критерии

Через 24 недели терапии уровень РНК ВИЧ > 400 копий/мл

Повышение уровня РНК ВИЧ > 400 копий/мл (в двух определениях с интервалом 1 месяц) после неопределяемой вирусной нагрузки

Иммунологические критерии

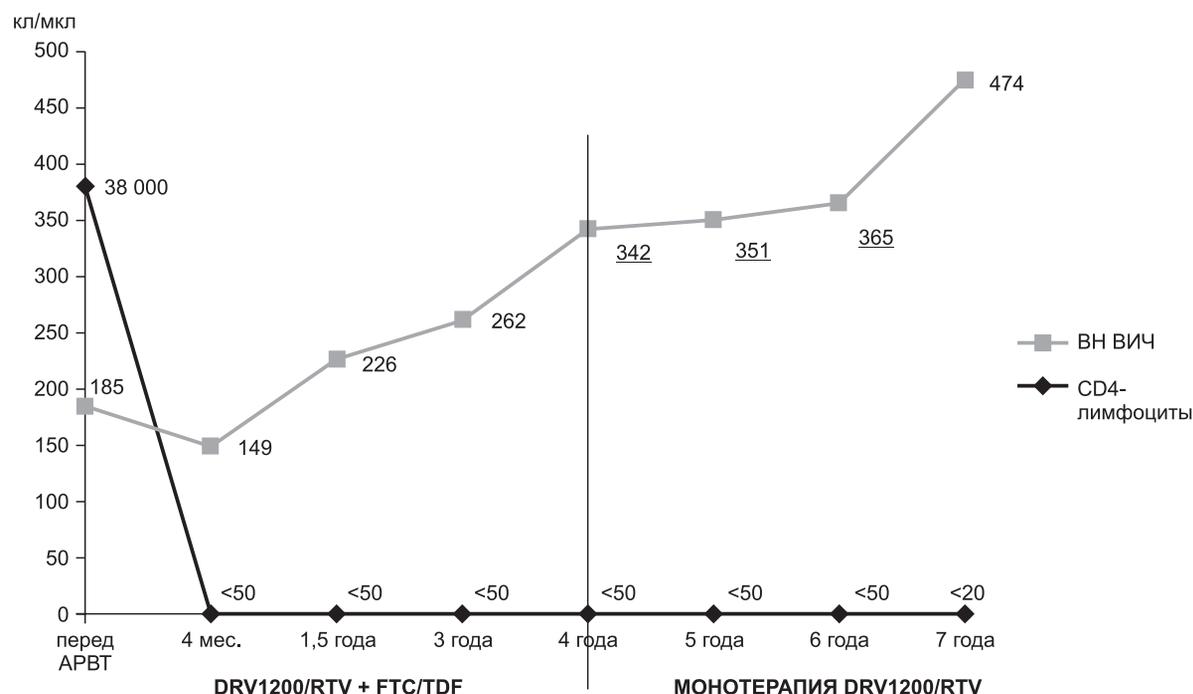
Увеличение количества CD4+лимфоцитов менее чем на 50 клеток/мкл через 1 год от начала АРВ терапии, при неопределяемом уровне РНК ВИЧ

Клинические критерии

При неопределяемом уровне РНК ВИЧ — появление новых серьезных вторичных заболеваний (стадии 4В; 4Б фаза прогрессирования) спустя 3 месяца после начала АРВ терапии. При этом необходимо исключить синдром восстановления иммунной системы (появление туберкулеза, атипичного микобактериоза, ЦМВ-ретинита и др.), особенно если до лечения у пациента число CD4+лимфоцитов было менее 50 клеток/мкл.

Рисунок 3. Новые подходы к антиретровирусной терапии и ее мониторинг

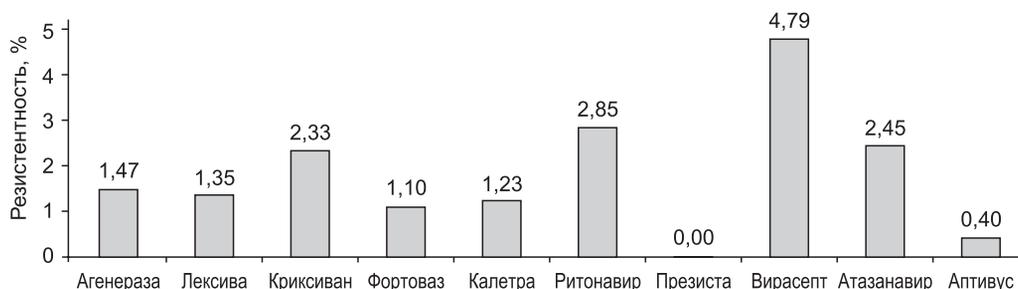
Новые антиретровирусные препараты позволяют получить долговременное снижение уровней ВИЧ до минимальных цифр (рис. 3).



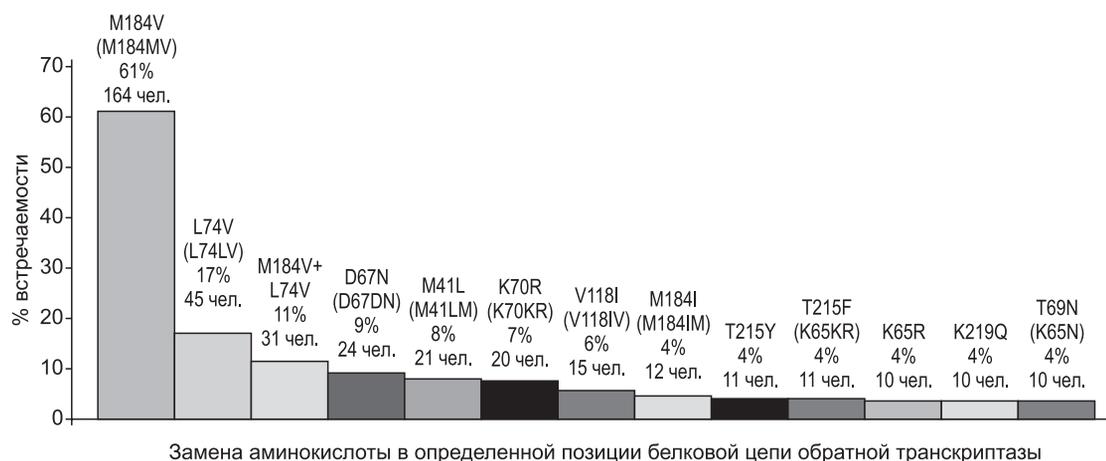
ВИЧ-инфекции

Несмотря на успехи АРВТ, значительное число пациентов рефрактерно к лечению, что связано с мутациями в геноме вируса.

Рисунок 4. Резистентность к препаратам и мутации в гене обратной транскриптазы вируса



Частота обнаружения наиболее распространенных мутаций устойчивости ВИЧ к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы у пациентов с высокой резистентностью к ВААРТ (общее число исследованных образцов N = 270)



Помимо своевременного лечения взрослых пациентов, важнейшей проблемой является диагностика и лечение ВИЧ-инфекции при передаче ее от ВИЧ-инфицированных матерей (табл. 9).

Таблица 9. Мониторинг ВИЧ у новорожденного младенца от матери

4 дня жизни + ДНК
 27 дней жизни +
 РНК ВИЧ (вирусная нагрузка)
 5 мес жизни 3 193 807 коп РНК ВИЧ
 6 мес жизни 803 882 коп РНК ВИЧ
 8 мес жизни 5112 коп РНК ВИЧ
 Передача ВИЧ от матери ребенку снижена от 19% до 1,5%

Выводы

1. Инновационный подход к клинико-лабораторному мониторингу HBV, HCV и ВИЧ-1 позволяет применять схемы терапии вирусных инфекций, направленные на элиминацию возбудителей.
2. Основным методом мониторинга в настоящее время состоит в контроле за репликацией вируса с учетом клинических данных.

Благодарности

сотрудникам лаборатории, руководимой З. Н. Лисициной,
главному врачу городского центра вирусологических исследований С. С. Вашуковой,
профессору В. Л. Эмануэлю и его сотрудникам

Литература

1. Бартлетт Дж., Галлант Дж., Фам П. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2009–2010. — М.: Р. Валент, 2010. — 450 с.
2. Вирус иммунодефицита человека — медицина / Под. ред. Н.А. Белякова и А.Г. Рахмановой. — СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. — 752 с.
3. Рахманова А.Г., Яковлев А.А. Хронические вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекция. — Из-во «ВВМ», 2011. — С. 164.
4. Рахманова А.Г., Захарова Н.Г., Торопов С.Э. и др. Формирование резистентности к высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) у ВИЧ-инфицированных пациентов // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т. 2, № 2. — С. 204–209.
5. Захарова Н.Г., Виноградова А.Н., Дрожжина В.А., Дементьева Н.Е. Клинико-эпидемиологическая характеристика резистентности вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) в Санкт-Петербурге у больных, получающих высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ) // Вестник Военно-медицинской академии. — 2008. — №2 (22). — С. 147
6. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О. и др. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2010. — Т. 20, № 6. — С.4–60.
7. Sarrazin C., Christophe Hezode Ch., Zeuzem S., Jean-Michel Pawlotsky J.-M. Antiviral strategies in hepatitis C virus infection // Journal of Hepatology. — 2012. — S. 88–100.
8. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection // Journal of Hepatology. — 2011. — Vol. 55. — S. 245–264.
9. Gervais A., Bacq Y., Bernuau J., et al. Decrease in serum ALT and increase in serum HCV RNA during pregnancy in women with chronic hepatitis C // J. Hepatol. — 2000. — Vol. 32. — P. 293–299.

ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИХ ЛЕЧЕНИЕ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

С.В. АРТЮХОВ, А.В. МАЛЯР

СПб ГБУЗ «Елизаветинская больница» (главный врач Гуманенко Е.К.), Санкт-Петербург

Целью нашего исследования является определение и формирование единого методологического мультидисциплинарного подхода к диагностике и лечению больных с развившимися осложнениями в виде генерализованных воспалительных процессов (ГВП).

Для достижения цели мы рассматриваем проспективно и ретроспективно пациентов с различной соматической, как травматической, так и нетравматической патологией, для выявления закономерностей развития ГВП.

Генерализованные воспалительные процессы (ГВП) включают в себя синдром системной воспалительной реакции (ССВР), сепсис, тяжелый сепсис и септический шок. Организация работы по диагностике и лечению данных осложнений в многопрофильном стационаре требует мультидисциплинарного подхода, направленного, в первую очередь, на раннее определение группы риска развития каждого из осложнений, которые, как известно, могут сменять друг друга, а могут быть самостоятельными, каждый по отдельности, без этапности. Отделения реанимации чаще всего сталкиваются с данными видами осложнений. Однако при более внимательном рассмотрении данная проблема имеется и в общесоматических отделениях различного профиля.

В нашем стационаре создан отдел по лечению ГВП, основной задачей которого является диагностика и коррекция лечения данной категории больных. При появлении у больного критериев ССВР (SIRS – systemic inflammatory response syndrome) от двух параметров и более по R. Bone и наличии очага инфекции выполняется тест на уровень прокальцитонина в крови, одновременно с определением уровней средних молекул в моче и крови. Повышение уровня прокальцитонина до >2 единиц позволяет судить о наличии у больного тяжелого сепсиса (при наличии SIRS 2 и более). Далее пациент ежедневно оценивается по шкале SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score). Оценка количества средних молекул в моче и крови позволяет нам своевременно применять методы гравитационной хирургии крови. Исходя из балльной оценки параметров шкалы SOFA, а также потребности в нахождении больного в отделении реанимации, пациент подпадает под действие одного из четырех медико-экономических стандартов. Независимо от стандарта, по каждому больному проводится коллегиальное планирование лечения с участием реаниматолога, нутрициолога, клинического фармаколога и септолога (врача-хирурга). Исходя из нашего опыта, чаще всего развитие ГВП сопровождается тяжелой сочетанной травмой, экстренную абдоминальную патологию.

Внедрение вышеуказанных подходов позволяет нам адекватно понимать и реагировать на развитие ГВП, иметь целостную картину и представление о ведении данной категории больных.

GENERALIZED INFLAMMATORY PROCESSES AND THEIR TREATMENT IN THE MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

S. V. ARTUKHOV, A. V. MALAR

Saint-Petersburg State Budget Health Care Institution «Elizavetinskaya hospital», Saint-Petersburg

Данные для корреспонденции

Артюхов Сергей Викторович, к. м. н., заведующий отделом лечения генерализованных воспалительных процессов СПб ГБУЗ «Елизаветинская больница»
195257, Санкт-Петербург, ул. Вавиловых, 14, тел.: +7(911)914-76-27, e-mail: art_serg@mail.ru

ПРОКАЛЬЦИТОНИН И ПРЕСЕПСИН КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЕПТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

О.И. РЕЗНИКОВА

ЗАО «ДИАКОН», г. Пушкино, Московская область

Ранняя и высокоспецифичная диагностика сепсиса имеет решающее значение для своевременного назначения терапии и выживания пациента. СРБ — традиционный маркер воспаления — является неспецифическим по отношению к его этиологии и повышается как при инфекционном воспалительном процессе (сепсис), так и при неинфекционном (синдром системного воспалительного ответа). Традиционный маркер сепсиса прокальцитонин (ПКТ) имеет следующие недостатки. Ложноположительный ПКТ — неспецифическое по отношению к инфекции повышение его уровня при массовой гибели клеток после политравмы, хирургии, ожогов. В этих случаях ПКТ быстро повышается и при отсутствии инфекции снижается и приходит в норму через 3–5 дней, в течение которых подтвердить или исключить сепсис на основе ПКТ нельзя. Ложноотрицательный ПКТ: на ранних стадиях развития системной инфекции, пока она имеет локальный характер, уровни ПКТ находятся в «серой зоне».

Пресеписин (ПСП) — это гуморальный белок, образуемый макрофагами при фагоцитозе инфицирующих бактерий и грибов. Повышение циркулирующих концентраций ПСП происходит в течение 1,5–2 ч после начала системной инфекции и отражает ее тяжесть и при мониторинге терапии (антибиотики, гемоперфузия, гемофильтрация и др.), ПСП быстро отражает ее эффективность. При развитии сепсиса после кардиохирургии ПСП повышается в первый послеоперационный день, ПКТ — на второй. Динамика ПСП прямым образом связана с динамикой показателей тяжести критических пациентов, согласно шкалам APACHE II и SOFA. При воспалительных процессах, не связанных с бактериальной и грибковой инфекцией, и при вирусных инфекциях, ПСП не повышается.

Лекция предназначена для хирургов, врачей ОРИТ и врачей лаборантов.

PROCALCITONIN AND PRESEPTIN AS DIAGNOSTIC MARKERS OF SEPTIC CONDITIONS

O. I. REZNIKOVA

ZAO «Diakon», Pushino, Moscow region

Early and highly specific sepsis diagnosis is critically important for early treatment administration and life saving of patient. Traditional inflammatory marker CRP is non-specific, increasing both in infectious (sepsis) and non-infectious (systemic unflamatory response) inflammatory processes. Procalcitonin (PCT) is a traditional sepsis marker but its use is limited by following factors. Non-specific elevation (false-positive PCT) is observed in massive cells necrosis in massive traumatic lesions, surgery, burns. In these cases rapid rise of PCT may be observed without infection and normalize in subsequent 3–5 days. During this period it is impossible to confirm or exclude sepsis basing on PCT. False negative PCT is observed at the early period of systemic infection, while local changes dominate and the levels of PCT are in «grey zone».

Preseptin (PSP) is a protein synthesized by macrophages in process of phagocytosing of bacteria and fungi. Increase of PSP circulating levels is observed in 1,5–2 hrs after start of systemic infection, reflects its severity and can be used for treatment monitoring (antibiotics, hemoperfusion, hemofiltration etc) because of rapid changes in effective treatment. In sepsis development after cardiac surgery PSP level rises in first postoperation day, PCT — at the second one. Dynamic PSP changes directly correlate with the dynamic changes of critically ill patients condition evaluated by APACHE II and SOFA scales. In inflammatory processes not related to bacterial and fungal infections as well as in viral infections no PSP rise is observed.

The lecture is oriented on surgeons, emergency care physicians and laboratory medicine specialists.

Данные для корреспонденции

Резникова Ольга Ивановна, ведущий менеджер Отдела маркетинга ЗАО «ДИАКОН»;
142290, Московская обл., г. Пушкино, пр. Науки, 5; тел.: +7 (495) 980-63-39 доб. 5564,
e-mail: o.reznikova@diakonlab.ru

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПО ИЗМЕНЕНИЮ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕЧЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ЗОНДА ИОДИД 2-[П-ДИМЕТИЛАМИНО)-СТИРИЛ]-1-МЕТИЛПИРИДИНИЯ

Т.В. ПАРХОМЕНКО, Н.Б. МИХАЙЛОВА, Б.В. АФАНАСЬЕВ, О.В. ГАЛИБИН, В.В. ТОМСОН
ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Минздрава РФ, Научно-исследовательский центр; Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой

Резюме. Разработан и предложен метод использования витального флуоресцентного зонда иодида 2-[п-(диметиламино)-стирил]-1-метилпиридиния (2-Di-1-ASP) для оценки состояния ККМ. Найдены оптимальные условия работы с зондом: температура, время инкубации, концентрация зонда. Экспериментально подтверждено, что 2-Di-1-ASP является чувствительным показателем и регистрирует изменения энергетического потенциала ККМ при воздействии на них различных факторов: криоконсервации с криопротектором диметилсульфоксидом, размораживания, физиологического раствора, среды Хенкса, среды стандартного стабилизатора, времени хранения. Данные, полученные с помощью предлагаемого метода, могут служить дополнительным критерием для оценки образцов ККМ перед их криоконсервацией, хранением и трансплантацией.

Ключевые слова: клетки костного мозга, энергетическая активность, трансплантат, витальный флуоресцентный потенциал-чувствительный зонд иодид 2-[п-(диметиламино)-стирил]-1-метилпиридиния.

EVALUATION OF THE BONE MARROW CELLS CONDITION BY MEASUREMENT OF LUMINESCENCE INTENSITY OF THE FLUORESCENT POTENTIAL-SENSITIVE IODIDE 2-DIMETHYLAMINOSTIRIL-1-METHYPIRIDINE PROBE

T.V. PARKHOMENKO, N.B. MIKHAILOVA, B.V. AFANASJEV, O.V. GALIBIN, V.V. TOMSON
State Budget Educational Institution of Higher Professional Education "First Saint-Petersburg State I.P. Pavlov Medical University" Ministry of Health Care of Russian Federation, Scientific research center; R.M. Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology

Summary. Developed and proposed a method of using the vital fluorescent probe 2-[p-(dimethylamino) styryl]-1-methylpyridinium iodide [2-Di-1-ASP] to assess the state of the bone marrow cells [BMC]. The optimal terms of work are found with a probe: temperature, time of incubation, concentration of probe. It is experimentally confirmed that 2-Di-1-ASP is a sensible index and registers the changes of power potential of BMC at affecting them different factors: cryoconservation with cryoprotector, unfreezing, physiological solution, Hanks solution, environment of standard stabilizator, shelf-live. The data got by means of the offered method can serve as an additional criterion for the estimation of standards of BMC before their cryoconservation, storage and transplantation.

Key words: bone marrow cells, energetic activity, graft, vital fluorescent potential-sensitive probe, 2-[p-(dimethylamino) styryl]-1-methylpyridinium iodide.

Данные для корреспонденции

Пархоменко Татьяна Васильевна, к. б. н., ст. научн. сотр. лаборатории патоморфологии

НИЦ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8, тел./факс: +7 (812) 499-71-54, e-mail: parhomenkotv@spb-gmu.ru

Принятые сокращения:

ALDH — альдегиддегидрогеназа; 2-Di-1-ASP — иодид 2-[п-(диметиламино)-стирил]-1-метилпиридиния; \bar{E} усл. ед. — энергетическая активность в условных единицах; ККМ — клетки костного мозга; СХ — среда Хенкса; ФР — физиологический раствор; ЦФДА — стандартный раствор стабилизатора (содержит: цитрат натрия, лимонную кислоту, дигидрофосфат натрия, декстрозу, аденин).

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток костного мозга периферической крови, пуповинной крови является эффективным методом терапии онкогематологических заболеваний у взрослых и детей. Костный мозг — традиционный источник стволовых клеток для трансплантации и используется для этих целей уже более 30 лет. Известно, что для успешного приживления трансплантата костного мозга количество ядросодержащих клеток должно быть не менее $2,5 \times 10^7$ на кг массы тела реципиента [1]. Успех трансплантации во многом зависит от достаточной концентрации CD34⁺ клеток, содержащихся в костном мозге, и их функциональной активности.

Среди современных методов определения качества трансплантата костного мозга наиболее адекватным считается количественный способ идентификации CD34⁺ с использованием специфических моноклональных антител и проточного цитофлуориметра [2]. Метод основан на оценке фенотипа молекул клеточной поверхности. Однако его применение имеет ряд ограничений: клеточные поверхностные маркеры могут различаться между собой в образцах из разных источников; популяция CD34⁺ гетерогенна по экспрессии данного маркера. В 1995 году был предложен метод определения качества гемопоэтических стволовых клеток костного мозга по величине активности внутриклеточного фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH) [3]. Метод основан на регистрации интенсивности свечения отрицательно заряженного продукта реакции в результате взаимодействия субстрата (добавленного к суспензии клеток) и фермента ALDH. Продукт реакции сохраняется внутри клетки только тогда, когда цитоплазматическая мембрана интактна. Этот метод дает возможность оценить в суспензии долю клеток с неповреждёнными цитоплазматическими мембранами.

Определенный уровень продуцирования макроэргических молекул в живой клетке является критическим фактором поддержания ее жизнеспособности и проявления функциональной активности. Имеются данные о наличии прямой связи между энергетическим статусом клеток и их функциональной активностью [4, 5]. При исследовании переживающих клеток с помощью потенциалчувствительных зондов выявлены корреляционные отношения между величиной энергетической активности исследованных клеток и уровнем электрических потенциалов на их плазматической и митохондриальных мембранах [6, 7].

Среди прижизненных флуорохромов широко применяются акридиновый оранжевый и бромистый этидий [8]. Однако указанные флуорохромы не могут использоваться для характеристики энергетического статуса митохондрий, поскольку они сами влияют на энергетическое состояние живых клеток [9]. Использование флуоресцентных зондов, нековалентно взаимодействующих с мембранными системами, является оптимальным [10], так как позволяет исследовать состояние биологи-

ческих мембран в клетках, в том числе в митохондриях. Электрические помпы, важной особенностью которых является наличие молекулярных протонных каналов, работают во всех биологических мембранах. Трансмембранный потенциал обнаружен не только в мембранах митохондрий, но и в мембранах хлоропластов, фотосинтезирующих бактерий и аэробных гетеротрофных бактерий, в мембранах эритроцитов и саркоплазматического ретикулума мышц. Мембранный потенциал является универсальным продуктом систем энергетического сопряжения [11].

Применение флуоресцентных методов позволяет исследовать первичную реакцию клеток в нативном состоянии и после воздействия различных физико-химических факторов [12, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Экспериментальные исследования с использованием флуоресцентных зондов позволили получить информацию о функциональной активности различных клеток: эритроцитов [19], клеток миокарда [20], клеток иммунной системы [21], гладких мышечных клеток [22]. На Т-лимфоцитах крыс была продемонстрирована корреляция интенсивности свечения флуоресцентного зонда и количества активированных эритропоетином митохондрий [23, 24], способность эритропоетина восстанавливать энергетическую активность клеток (Т-лимфоцитов крыс) после их обработки дициклогексилкарбодимидом и пентахлорфенолом [25].

Целью данной работы было изучение возможностей витального флуоресцентного потенциалчувствительного зонда иодид 2-[п-(диметиламино)-стирил]-1-метилпиридиния катионного типа (2-Di-1-ASP) для оценки качества клеток костного мозга (ККМ) перед их трансплантацией, а также после их хранения и криоконсервации.

Впервые для исследования состояния митохондрий в культуре клеток сердца голубя этот зонд был использован Берейтер-Ханом в 1976 [26]. Позднее была установлена способность зонда 2-Di-1-ASP проникать в живые ККМ и флуоресцировать в них [27].

В задачи работы входило:

1. Разработать оптимальные режимы использования зонда дициклогексилкарбодимидом для оценки энергетической активности ККМ с помощью указанного зонда;
2. Оценить воздействие различных факторов, таких как криоконсервация, криопротекция, размораживание и время инкубации в различных средах, на состояние ККМ;
3. Исследовать корреляцию между изменением флуоресценции 2-Di-1-ASP в ККМ и энергетической активностью при различных условиях их хранения.

Материалы и методы

Разработку метода проводили на образцах ККМ доноров. Получение и заготовку ККМ проводили по опубликованной методике [28]. Криоконсервацию и размо-

раживание ККМ проводили по методу, описанному ранее [29]. Криоконсервация ККМ используется для их длительного хранения, причем предполагается, что функциональная активность криоконсервированных ККМ остается достаточно высокой в течение длительного времени. Отмывание клеток от стандартного раствора стабилизатора, а также от криопротектора диметилсульфоксида (ДМСО) после размораживания проводили физиологическим раствором (ФР) или раствором Хенкса (РХ) в разведении 1:10 дистиллированной водой. Состав стандартного раствора стабилизатора (ЦФДА, Terumo corporation, Japan, Токуо): в 100 мл содержится 2,63 г цитрата натрия, 0,327 г лимонной кислоты, 0,251 г дигидрофосфата натрия, 2,9 г декстрозы безводной, 0,0275 г аденина.

Подготовку ККМ для флуориметрических измерений проводили по следующей схеме: суспензию клеток после размораживания переносили из пробирок типа Эппендорф в центрифужные пробирки емкостью 10–12 мл, сразу же добавляли ФР или РХ в десятикратном избытке по отношению к объему суспензии клеток, перемешивали и центрифугировали при 10 000 об/мин. в течение 10 минут при комнатной температуре, надосадочную жидкость удаляли, осадок ресуспендировали в ФР или в РХ и далее полученную суспензию клеток использовали для флуориметрических исследований.

Отработка метода включала в себя поиск оптимальных условий инкубации образцов ККМ с 2-Di-1-ASP (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR., USA): а) температуры, б) времени инкубации, в) концентрации зонда. Рабочая концентрация зонда была подобрана опытным путем с таким расчетом, чтобы можно было регистрировать \bar{F} клеток как в исходной суспензии (когда они максимально активны), так и после хранения (когда \bar{F} ККМ значительно снижена). Было исследовано несколько различных концентраций зонда в диапазоне от 1,0 до 80,0 мкМ. Установлено, что при времени инкубации менее 45 минут \bar{F} 2-Di-1-ASP достоверно снижена (для 8 пар наблюдений $P = 0,05$, критерий Вилкоксона–Манна–Уитни), далее \bar{F} возрастает до максимальной величины и сохраняется постоянной в течение 90 минут инкубации. Сравнительный анализ \bar{F} ККМ, окрашенных 2-Di-1-ASP, показал, что максимальная интенсивность флуоресценции наблюдается при 37 °С.

К суспензии ККМ с концентрацией $(\sim 2-3) \times 10^7$ клеток/мл добавляли 2-Di-1-ASP (конечная концентрация зонда в пробе 40,0 мкМ), инкубировали при 37 °С в течение 50–60 минут, готовили препараты клеток и исследовали на люминесцентном микроскопе, Люмам-И-2 (ЛОМО, Россия). Флуоресценцию зонда возбуждали ртутной лампой ДРШ-250-2 с длиной волны 405–436 нм. Для регистрации флуоресценции использовали фотометрическую насадку ФМЭЛ-1 и интерференционный фильтр с максимумом пропускания 585 нм. Длина волны возбуждения 470 нм, интенсивность флуоресценции регистрировали при длине волны 560 нм. В каждом пре-

парате определяли флуоресценцию массива из 70–100 клеток. В специальной серии экспериментов было установлено, что за время измерений на микроскопе существенного изменения активности ККМ не происходит.

Статистическую обработку данных экспериментов проводили по критерию Вилкоксона–Манна–Уитни и критерию Розенбаума [30].

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов обнаружена способность 2-Di-1-ASP проникать в живые ККМ и флуоресцировать в них. Для оценки воздействия на ККМ различных факторов — криоконсервации с криопротектором диметилсульфоксидом, размораживания, физиологического раствора, среды Хенкса, среды стандартного стабилизатора, времени хранения — были исследованы образцы ККМ десяти разных доноров.

Изучение влияния ФР на ККМ проведено на пяти образцах разных доноров в процессе их хранения. Криоконсервированные ККМ размораживали, отмывали физиологическим раствором, хранили при 37 °С в термостате. Через определенные временные интервалы отбирали пробы клеток, инкубировали их с 2-Di-1-ASP и определяли \bar{F} . Результаты исследования представлены в таблице 1.

Полученные данные, приведенные в таблице 1, показывают, что при хранении ККМ в ФР через 3 часа суммарная интенсивность флуоресценции $\Delta \bar{F}$ 2-Di-1-ASP снижается с $71,5 \pm 4,1$ до $31,6 \pm 2,4$ усл. ед.

Изучение влияния криопротектора ДМСО на ККМ проведено на четырех образцах (разных доноров) в процессе их хранения. Криоконсервированные образцы ККМ четырех различных доноров размораживали и хранили в термостате при 37 °С в присутствии 7% ДМСО. Через определенные временные интервалы отбирали пробы клеток, инкубировали их с 2-Di-1-ASP и определяли \bar{F} . Результаты исследования представлены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 следует, что при хранении ККМ после их размораживания без отмывания от криопротектора ДМСО уже через 1,5 часа $\Delta \bar{F}$ снижается с $65,3 \pm 2,1$ до $30,3 \pm 1,2$ усл. ед.

На нативных образцах ККМ одного и того же донора была проведена сравнительная оценка результатов воздействия на изменение интенсивности флуоресценции ККМ стандартного стабилизатора ЦФДА и СХ, а также криоконсервации и размораживания в процессе их хранения.

Нативные ККМ донора хранили в термостате при 37 °С в среде ЦФДА. Через определенные временные интервалы отбирали пробы клеток, инкубировали их с 2-Di-1-ASP и определяли \bar{F} .

В параллельном опыте нативные ККМ того же донора отмывали от среды стабилизатора и хранили в термостате при 37 °С в СХ. Через определенные временные

Таблица 1

Влияние физиологического раствора (ФР) на динамику изменения флуоресценции (\tilde{F} , усл. ед.) ККМ после их криоконсервации, размораживания и удаления криопротектора

Параметр	Время хранения, час.			
	Исх.	1	2	3
$\Delta\tilde{F}$, усл. ед.	71,5 ± 4,1	55,4 ± 3,8 *	49,3 ± 2,9 **	31,6 ± 2,4 ***

Примечание: *P = 0,05, **P = 0,01, ***P = 0,001 (критерий Вилкоксона–Манна–Уитни);

\tilde{F} , усл. ед. – средняя величина результатов флуориметрии 70–100 индивидуальных клеток в препарате;

$\Delta\tilde{F}$, усл. ед. – усредненная величина результатов по образцам ККМ пяти различных доноров.

Таблица 2

Влияние криопротектора диметилсульфоксида (ДМСО) на динамику изменения флуоресценции (\tilde{F} , усл. ед.) ККМ после их криоконсервации и размораживания

Параметр	Время хранения, час.			
	Исх.	0,5	1	1,5
$\Delta\tilde{F}$, усл. ед.	65,3 ± 2,1	53,3 ± 1,4	40,6 ± 1,5	30,3 ± 1,2

Примечание: $P_Q = 0,01$ (критерий Розенбаума);

\tilde{F} , усл. ед. – средняя величина результатов флуориметрии 70–100 индивидуальных клеток в препарате;

$\Delta\tilde{F}$, усл. ед. – усредненная величина результатов по образцам ККМ четырех различных доноров.

интервалы отбирали пробы клеток, инкубировали их с 2-Di-1-ASP и определяли \tilde{F} . Результаты исследования представлены в таблице 3.

Из данных, приведенных в таблице 3, следует, что хранение нативных ККМ в стандартном растворе стабилизатора по сравнению с раствором Хенкса является оптимальным.

ККМ того же донора криоконсервированы в одних и тех же условиях в пробирках типа Эппендорф с криопротектором ДМСО. Три параллельных опыта ставили на трех отдельных образцах (в трех пробирках). После размораживания ККМ отмывали и хранили в термостате при 37 °С в СХ. Через определенные временные интервалы отбирали пробы клеток, инкубировали их

Таблица 3

Влияние стандартного стабилизатора (ЦФДА) и среды Хенкса (СХ) на динамику изменения флуоресценции (\tilde{F} , усл. ед.) нативных ККМ

Параметр	Среда	Время хранения, час.					
		Исх.	2	5	24	48	72
\tilde{F} , усл. ед.	ЦФДА	124,2 ± 6,3	110,0 ± 6,5*	74,4 ± 5,1**	82,8 ± 3,8**	56,1 ± 2,5***	48,7 ± 1,6***
\tilde{F} , усл. ед.	СХ	124,2 ± 6,3	95,3 ± 4,7*	69,5 ± 4,3*	60,0 ± 2,7*	44,8 ± 2,7*	34,2 ± 2,2**

Примечание: * P = 0,05, ** 0,01 < P < 0,05, *** 0,005 < P < 0,01 – для среды ЦФДА;

* 0,01 < P < 0,05, ** 0,005 < P < 0,01 – для СХ (критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

Таблица 4

Влияние криоконсервации и размораживания на динамику изменения флуоресценции \tilde{F} , усл. ед. ККМ в среде Хенкса

Образец	Параметр	Время хранения, час.		
		Исх.	2	24
1	\tilde{F} , усл. ед.	90,1 ± 4,5	74,4 ± 6,1*	33,0 ± 1,3***
2	\tilde{F} , усл. ед.	104,7 ± 6,1	93,2 ± 5,7*	54,6 ± 1,9***
3	\tilde{F} , усл. ед.	93,9 ± 4,0	80,0 ± 3,0*	42,3 ± 2,0***
Итого	$\Delta\tilde{F}$, усл. ед.	96,2 ± 4,8	82,5 ± 4,9*	43,3 ± 1,7***

Примечание: *P = 0,05, *** 0,005 < P < 0,01 (критерий Вилкоксона–Манна–Уитни);

\tilde{F} , усл. ед. — средняя величина результатов флуориметрии 70–100 индивидуальных клеток в препарате;

$\Delta\tilde{F}$, усл. ед. — усредненные величины по трем образцам.

с 2-Di-1-ASP и определяли \tilde{F} . Результаты исследования представлены в таблице 4.

Из данных, приведенных в таблице 4, видно, что $\Delta\tilde{F}$ ККМ через 24 часа хранения после размораживания снизилась с 96,2 ± 4,8 до 43,3 ± 1,7 (на 60% от исходной). При сравнении данных таблицы 3 и таблицы 4 (графа «Исх.») видно воздействие криоконсервации на $\Delta\tilde{F}$ ККМ. Исходная интенсивность флуоресценции снижается со 124,2 ± 6,3 до 96,2 ± 4,8 усл. ед. Таким образом, криоконсервация и размораживание являются дополнительными факторами, влияющими на состояние ККМ.

Заключение

Предложенный метод с использованием витального флуоресцентного зонда иодида 2-[п-(диметиламино)-стирил]-1-метилпиридиния (2-Di-1-ASP) является информативным способом оценки состояния ККМ и позволяет достоверно судить о воздействии на них различных факторов. Предполагается, что данные, полученные с помощью указанного метода, могут быть использованы в качестве дополнительного критерия для оценки образцов ККМ перед их криоконсервацией, хранением и трансплантацией.

Литература

1. Tse W., Laughlin M. J. Umbilical cord blood transplantation: a new alternative option // Hematology Education Programme Book. 2005: 377–383.
2. Sutherland D. R., Anderson L., Keeney M., Nayar R., Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering // J. Hematother. 1996; 5: 213–226.

3. Jones R. J., Barber J. P., Vala M. S., Collector M. I., Kaufmann S. H., Ludeman S. M., Colvin O. M., Hilton J. Assessment of Aldehyde Dehydrogenase in Viable Cells // Blood. 1995; 85 (10): 2742–2746.

4. Скулачев В. П. Биоэнергетика в системе биологических наук // Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена. Пушкино, 1987: 4–6.

5. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. М.: Медицина, 1985: 430 с.

6. Григорович Н. А., Алекса Т. Ф. Использование цитофлуоресцентных методов для идентификации лимфоцитов и макрофагов, оценки их функционального состояния // Иммунология. 1984; (1): 10–15.

7. Морозова Г. И., Добрецов Г. Е., Дубур Г. Я., Дубур Р. Р., Голицын В. М., Баренбойм Г. М., Владимиров Ю. А. Флуоресценция 4-(п-диметиламиностирил)-1-метилпиридиния в живой клетке // Цитология. 1981; 23 (8): 916–923.

8. Кирьянова Е. А., Зеленин А. В. Некоторые закономерности накопления инородных для клеток веществ в лизосомах // ДАН СССР. 1970; 190 (2): 451–454.

9. Фадеева М. Ф., Браун А. Д. Повреждение интеркалирующими агентами // Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия. Л.: Наука, 1977: 149–151.

10. Владимиров Ю. А., Добрецов Г. Н. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980: 320 с.

11. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М.: Наука, 1972: 203 с.

12. Зацепина Г. Н., Венгрус Т. В., Горюнов Н. Н. Мембранные потенциалы и адаптивные способности лимфоцитов и эритроцитов в разных состояниях жизнедеятельности млекопитающего // Биофизика. 1993; 38 (6): 1098–1103.

13. Kosnikov V. V., Dobretsov G. E. Depolarizing action of allergens on passive sensitized lymphocytes // Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol. 1991; 95 (1): 42–47.

14. Parkhomenko T. V., Morozova G. I., Klytsenko O. A. Discovery of the immunomodulated EPO effect on rat thymocytes by probe-cation DSM // Nephrology, Dialysis, Transplantation. 1997; 12 (9): A16.

15. *Vida T. A., Emr S. D.* A new vital stain visualizing vacuolar membrane dynamics and endocytosis in yeast // *Journ. of Cell Biol.* 1995; 228 (5): 779–792.
16. *Parkhomenko T. V., Morozova G. I., Klytsenko O. A., Tomson V. V.* Partial restoration by erythropoietin (EPO) of T-lymphocytes fluorescence after its deenergisation // *Nephrology, Dialysis, Transplantation.* 2001; 16 (6): A21.
17. *Ito Sumito, Kusuhara Hiroyuki, Yokochi Miyu, Toyoshima Junko, Inoue Katsuhisa, Yuasa Hiroaki, Sugiyama Yuichi.* Competitive inhibition of the luminal efflux by multidrug and toxin extrusions, but not basolateral uptake by organic cation transporter 2, is the likely mechanism underlying the pharmacokinetic drug-drug interactions caused by cimetidine in the kidney // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2012; 340 (2): 393–403.
18. *Parkhomenko T. V., Morozova G. I., Klytsenko O. A., Tomson V. V.* Erythropoietin (EPO) response of cells isolated from rat thymuses in vitro // *Focus uni-luebeck, Supplement.* 2009: 32.
19. *Петров В. А., Добрецов Г. Е., Вундерлих З., Пликетт Ф., Гласс К.* Обнаружение кластеров отрицательных зарядов на поверхности плазматических мембран эритроцитов с помощью флуоресцентных зондов // *Биофизика.* 1983; 28 (3): 501–502.
20. *Parkhomenko T. V., Klytsenko O. A., Tomson V. V.* Erythropoietin stimulates aerobic and anaerobic processes in rat cardiomyocytes // *Focus uni-luebeck, Supplement.* 2012: 37.
21. *Артюхов В. Г., Путинцева О. В., Брагина В. А., Пашков М. В., Василенко Д. В.* Флуоресцентные методы в исследовании УФ-индуцированных изменений структурно-функционального состояния лимфоцитов крови человека // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины.* 2012; 153 (6): 891–895.
22. *Wandelt B., Mielniczak A., Turkewitsch P., Darling G. D., Stranix B. R.* Substituted 4- [4- (dimethylamino) styryl] pyridinium salt as a fluorescent probe for cell microviscosity // *Biosensors and Bioelectronics.* 2003; 18: 465–471.
23. *Parkhomenko T. V., Morozova G. I., Klytsenko O. A., Tomson V. V.* Erythropoietin (EPO) influence on the transmembrane electric potential and mitochondria number in rat T-lymphocytes // *Abstracts XXXVII Congress of the EDTA-ERA.* 2000: 41.
24. *Морозова Г. И., Пархоменко Т. В., Клыценко О. А., Томсон В. В.* Стимулирующее влияние эритропоэтина на энергетику тимоцитов, выявляемое in vitro по флуоресценции потенциалчувствительного зонда в митохондриях // *Биологические мембраны.* 2007; 24 (6): 472–478.
25. *Parkhomenko T. V., Morozova G. I., Klytsenko O. A., Tomson V. V.* Evaluation of restoring Erythropoietin (EPO) effect on rat T-lymphocytes after their treatment with some inhibitors in vitro // *Annals of Hematology.* 2003; 82 (6): S114.
26. *Bereiter-Hahn Y.* Dimethylaminostyrylmethylpyridiniumiodine (DASPMI) as a fluorescent probe for mitochondria in situ // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1976; 423 (1): 1–14.
27. *Пархоменко Т. В., Галибин О. В., Михайлова Н. Б., Бабенко Е. В., Томсон В. В.* RU № 2488826, опубл. 27.07.2013, Бюлл. № 21.
28. *Фрегатова Л. М., Зубаровская Л. С., Эстрина М. А., Головачева А. А., Бабенко Е. В., Платонова Г. Г., Зуева Е. Е., Афанасьев Б. В.* Методы получения стволовых клеток у больных и доноров для их последующей трансплантации // Санкт-Петербург, СПб ГМУ. Кафедра гематологии, трансфузиологии, трансплантологии ФПО. 2004: 36 с.
29. *Kessinger A., Armitage J., Landmark J., Weisenburger D.* Reconstitution of Human Hematopoietic Function with Autologous Cryopreserved Circulating Stem Cells // *Exp. Hemat.* 1986; 14: 192–196.
30. *Гублер Е. В., Генкин А. А.* Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л.: Медицина, 1973: 142 с.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФЕКТАНТАМ И АНТИСЕПТИКАМ

К.Г. КОСЯКОВА

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Резюме. Определение чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам является обязательной частью микробиологического мониторинга больничной среды. Официальные действующие документы, регламентирующие данные исследования, имеют существенные методологические различия, поэтому получение стандартизированных результатов не представляется возможным. В статье рассматриваются теоретические аспекты закономерностей гибели микроорганизмов под действием биоцидных факторов, а также параметры, влияющие на достоверность определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам.

Ключевые слова: устойчивость к дезинфектантам и антисептикам; погрешность измерений; микробиологический мониторинг.

METHODOLOGICAL PROBLEMS OF DETERMINATION OF THE SUSCEPTIBILITY OF MICROORGANISMS TO DISINFECTANTS AND ANTISEPTICS

K.G. KOSIAKOVA

North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg

Resume. Determination of the susceptibility of microorganisms to disinfectants and antiseptics is a mandatory part of microbiological monitoring of hospital environment. Official documents regulating such studies have significant methodological differences, so getting standardized results is not possible. The article deals with theoretical aspects of the regularities of the death of microorganisms under the influence of biocidal factors and parameters that affect the accuracy of the determination of the susceptibility of microorganisms to disinfectants and antiseptics.

Key words: resistance to disinfectants and antiseptics; measurement error; microbiological monitoring.

Данные для корреспонденции

Косьякова Карина Георгиевна, к. м. н., доцент кафедры медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова; 191015, ул. Кирочная, д. 41, тел. (812) 543-01-95, e-mail: karina.kosyakova@spbmapo.ru, karinkos@mail.ru

В медицинской литературе последних лет неоднократно описывались случаи недостаточной эффективности проводимых противоэпидемических мероприятий, связанные с формированием устойчивости микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам, что способствует поддержанию высокого уровня заболеваемости. Частота обнаружения устойчивых к дезинфектантам *Pseudomonas spp.* варьирует от 4,2 до 84,2% от числа исследованных культур; выявлены варианты, устойчивые к перекиси водорода, хлорамину, хлоргексидину, фенолу, йодопирону. Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* выявлены штаммы, устойчивые к перекиси водорода, хлоргексидину, нитрану. Среди *Staphylococcus spp.* обнаружены штаммы, устойчивые к диоксидину, хлорамину Б, хлоргексидину, фурациллину. Устойчивые к антисептикам и дезинфектан-

там варианты выявлены и среди других видов микроорганизмов [1, 2].

Согласно требованиям СанПиН 2.1.3.2630-10 [3], пункт 1.9 «В целях предупреждения возможного формирования резистентных к дезинфектантам штаммов микроорганизмов следует проводить мониторинг устойчивости госпитальных штаммов к применяемым дезинфицирующим средствам с последующей их ротацией (последовательная замена дезинфектанта из одной химической группы на дезинфектант из другой химической группы) при необходимости». Однако на сегодняшний день в нашей стране не существует единой унифицированной методики определения чувствительности микроорганизмов к биоцидным препаратам, а методы, описанные разными авторами, имеют определенные недостатки для практического использования.

Между определением чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, с одной стороны, и дезинфектантам и антисептикам, с другой стороны, есть принципиальное отличие: в первом случае необходимо определять МПК, а во втором МБК.

МПК — минимальная подавляющая концентрация препарата, то есть то его минимальное количество, которое подавляет рост микроорганизмов на питательных средах. При этом гибель бактерий наступает не обязательно, их размножение может быть просто приостановлено. Определения МПК достаточно применительно к антимикробным препаратам в связи с тем, что значительное число используемых сегодня лекарств данной группы обладают бактериостатическим, но не бактерицидным действием в реально используемых концентрациях.

МБК — минимальная бактерицидная концентрация, то есть концентрация, вызывающая гибель микроорганизма за определенное время. Именно она должна определяться применительно к дезинфектантам и антисептикам.

Процедура определения величины МБК подчиняется всем законам теории измерений, и, следовательно, при её выполнении неизбежно возникновение ошибок (погрешностей). Грубые технические ошибки можно предупредить путем повышения квалификации персонала, а существование систематических и случайных ошибок практически неизбежно.

Систематической ошибкой называют составляющую погрешности измерений, остающуюся постоянной и закономерно изменяющуюся при повторных измерениях одной и той же величины. Она отражает особенности объекта измерений или используемой методики. Случайная ошибка — это составляющая погрешности измерений, изменяющаяся случайным образом при повторных измерениях одной и той же величины. Уменьшение величины случайной ошибки достигается при проведении повторных измерений. Если величина систематической ошибки превышает величину случайной, необходимость в повторных измерениях отпадает.

В случае определения чувствительности-устойчивости бактерий к дезинфектантам и антисептикам существование случайной ошибки обусловлено гетерогенностью микробной популяции и неодномоментностью гибели бактерий под воздействием неблагоприятных факторов. Известно, что процесс гибели микробных клеток, помещенных в неблагоприятную среду, подчиняется кинетическим закономерностям реакций 1-го порядка (форм. 1):

$$N(t) = N_0 \times e^{-KT} \quad (\text{форм. 1})$$

где N_0 и $N(t)$ — соответственно исходная и текущая концентрация выживших клеток в суспензии, e — основание натурального логарифма, K — константа скорости гибели — функция природы организма и свойств окружающей среды, T — время воздействия. Поэтому процесс

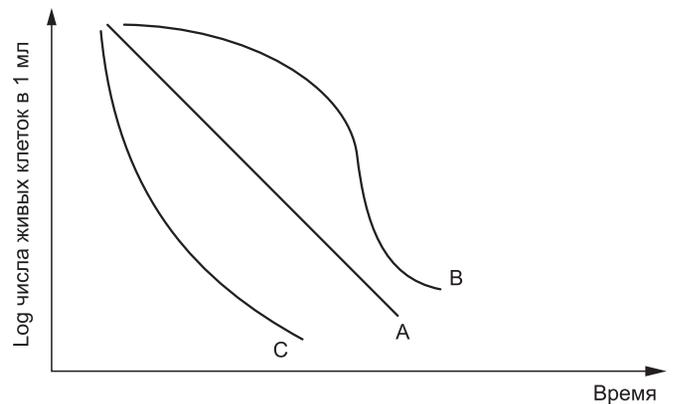


Рис. 1. Характерные кривые гибели микробных клеток в присутствии дезинфектантов и антисептиков (Мунблит В. Я., Тальрозе В. Л., Трофимов В. И., 1985)

гибели микробных клеток может быть изображен графически в виде кривых гибели (рис. 1).

Все эти кривые можно разделить на три основных типа. Кривая А — чисто логарифмическая гибель, в соответствии с вышеприведенным уравнением означающая, что популяция гомогенна по чувствительности к антимикробному веществу в среде. Однако чаще наблюдается кривая В — когда наименее устойчивая часть популяции гибнет в начальный период, основная часть популяции со средним уровнем резистентности гибнет в средний период, а наиболее устойчивые клетки сохраняются в конечный период наблюдения. Кривая С характеризует быструю гибель основной части популяции в начальный период времени при высокой концентрации дезинфектанта или антисептика.

Гибель микробных популяций происходит неравномерно и зависит как от внешних факторов (температура, рН, состав среды, продолжительность неблагоприятного воздействия), так и от внутренних факторов (величина микробной нагрузки и гетерогенность популяции бактерий по признаку устойчивости к антимикробным веществам). Очевидно, что при определении чувствительности бактерий к дезинфектантам и антисептикам необходимо стандартизировать условия эксперимента и, по возможности, исключать все неблагоприятные воздействия, кроме исследуемого.

Проведение этапа нейтрализации резидуального эффекта биоцидного препарата. Отличительной чертой методов определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам, связанной с необходимостью определения именно МБК, а не МПК, является обязательное проведение этапа нейтрализации с использованием различных препаратов в зависимости от групповой принадлежности действующего вещества (ДВ) биоцида согласно Руководству Р 4.2.2643-10 (табл. 1) [4].

Продолжительность in vitro взаимодействия испытуемого штамма и биоцидного препарата. Как видно из

Таблица 1

Нейтрализаторы действующих веществ из различных химических групп

Химическая группа действующего вещества	Нейтрализаторы
1. Галоидактивные (хлор-, бром- и йодактивные) и кислородактивные (перекись водорода, ее комплексы с солями, надуксусная кислота, озон)	0,1–1,0%-е растворы тиосульфата натрия.
2. Четвертичные аммониевые соли (алкилдиметилбензиламмоний хлорид, дидецилдиметиламмоний хлорид и др.)	0,1–1,0%-е растворы лаурилсульфата натрия (сульфонол) или растворы лаурилсульфата натрия с 10% обезжиренного молока или универсальный нейтрализатор (см. ниже)
3. Производные гуанидина (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, хлоргексидин биглюконат и др.)	0,1–1,0%-е растворы лаурилсульфата натрия (сульфонол) или растворы лаурилсульфата натрия с 10% обезжиренного молока или универсальный нейтрализатор (см. ниже)
4. Альдегиды (глутаровый альдегид, глиоксаль, формальдегид, ортофталевый альдегид)	1,0%-й раствор пиросульфита (метабисульфита) натрия или универсальный нейтрализатор (см. ниже)
5. Кислоты	Щелочи в эквивалентном количестве
6. Щелочи	Кислоты в эквивалентном количестве
7. Спирты	Разведение в воде до недействующей концентрации
8. Композиционные средства	Универсальный нейтрализатор, содержащий Твин-80 (3%), сапонин (0,3–3,0%), гистидин (0,1%), цистеин (0,1%) P.S. Если в состав композиции входят окислители, в нейтрализатор дополнительно вводят тиосульфат натрия

кривых гибели микробных клеток, продолжительность неблагоприятного воздействия влияет на количество погибших клеток, и на этом принципе основан ряд методов изучения антимикробной активности дезинфектантов и антисептиков, когда активность препарата определяют через разные временные промежутки взаимодействия с культурой [5]. Но поскольку подавляющее большинство дезинфектантов применяют в виде водных растворов, функциональные свойства которых определяются концентрацией активного действующего вещества в них, то объективной характеристикой чувствительности бактерий к препарату служит МБК, т. е. концентрация дезинфектанта, вызывающая гибель 100% внесенных бактерий в фиксированное время. Такой подход, в отличие от использования различных временных интервалов, более удобен для количественной оценки чувствительности бактерий к дезинфектантам с практической точки зрения [6].

Плотность микробной суспензии является обязательной характеристикой для стандартизации методов определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам. Генетическая неоднород-

ность бактериальной популяции, в свою очередь, не позволяет в полной мере использовать законы кинетики первого порядка для оценки эффективности дезинфектантов и потому требует корректировки методов исследования для снижения случайной ошибки, вызванной этим фактором.

Условия in vitro взаимодействия испытуемого штамма и биоцидного препарата. Методы оценки дезинфектантов можно разделить на суспензионные и поверхностные. При использовании суспензионных методов дезинфектант воздействует на жидкую взвесь микроорганизмов, при поверхностных методах микробная взвесь наносится на тест-поверхность и высушивается, далее подвергается дезинфекции. К первым относятся, в частности, количественные суспензионные тесты: in vitro тест (IVT) с раствором дезинфектанта в дистиллированной воде (AD), IVT с раствором дезинфектанта на воде стандартной жесткости (WSH), IVT с раствором дезинфектанта в 0,2% растворе альбумина, Европейский суспензионный тест (EST) в чистых условиях и с органической нагрузкой, Kesley-Sykes тест. К поверхностным методам относятся такие известные

методы, как французский AFNOR стандарт NF 72-150, тест в практических условиях Немецкого общества гигиены и микробиологии DGHM, Leuven-тест, количественный тест с носителем QST по Van Klingeren, количественный тест поверхностной дезинфекции QSDT.

Шаг разведения биоцидного препарата и необходимое количество повторений определений. Методы определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам регламентируют 2-кратный либо 5-кратный шаг разведения [7, 8]. Однако в описании отдельных методов отсутствуют прямые указания на определенный шаг разведения, который таким образом может выбираться исследователем самостоятельно. Очевидно, что уменьшение шага разведения приводит к повышению точности определений, однако технические особенности любого метода предопределяют размер его ошибки, в совокупности с ошибками, вызванными гетерогенностью микробной популяции по профилю резистентности к биоцидным препаратам. Не зная ошибки метода, невозможно сопоставлять полученные значения МБК, а для снижения случайной ошибки и получения достоверных результатов необходимо увеличивать количество повторений.

В отдельных методах определения чувствительности микроорганизмов к биоцидным препаратам имеются указания на необходимость 3-кратного повторения исследований для повышения их достоверности [9] и различные методические рекомендации выбора шага разведения дезинфицирующего средства. Следует отметить, что кратность повторений определяется особенностями самого метода и шагом разведения препарата и рассчитывается по формуле [7]:

$$N = t^2 \times \delta^2 / I^2 \quad (\text{форм. 2})$$

где N — необходимое число повторений; t — критерий Стьюдента; δ — среднее квадратичное отклонение; I — максимальный размер ошибки выборки (пределы допустимой ошибки) [10]. Для каждого метода для определения необходимого числа повторений следует рассчитывать \log значений МБК, полученных при 8-кратном повторении исследований, с основаниями 2, 5 и 10 (в зависимости от шага разведений) и значения δ для \log значений МБК.

При определении чувствительности бактерий к дезинфектантам и антисептикам суспензионным методом при 10-кратном разведении дезинфектанта исследование достаточно проводить 1 раз, но получаемые при этом данные могут быть использованы лишь для ориентировочной оценки уровня МБК и для выбора необходимого количества разведений препарата с меньшим шагом

при последующих исследованиях. В связи с меньшей гетерогенностью бактериальных популяций по чувствительности к дезинфектантам по сравнению с антисептиками, для определения чувствительности бактерий к дезинфектантам оптимальным является шаг разведения 5 при 3-кратном повторении исследований, а для антисептиков — 2 при 8-кратном повторении [7].

Таким образом, отсутствие общепринятых стандартизированных методов оценки чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам, единых критериев, гарантирующих достоверность полученных результатов, указывает на необходимость разработки и внедрения в практику здравоохранения единой схемы проведения мониторинга за устойчивостью циркулирующих штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Список литературы

1. David J. Outbreaks Associated with Contaminated Antiseptics and Disinfectants / J. David [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2007. — Vol. 51. — P. 4217–4224.
2. Sheldon A. T. Antiseptic «resistance»: real or perceived threat? / T. A. Sheldon // *Clinical infectious diseases.* — 2005. — Vol. 40. — P. 1650–1656.
3. СанПиН 2.1.3.2630-10. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность.
4. Руководство Р 4.2.2643-10. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности.
5. Патент RU 23783663 С1 Способ определения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующему средству (варианты). Сост. В. В. Шкарин [и соавт.], Дата начала действия патента: 10.06.2008, Опубликовано: 10.01.2010 Бюл. № 1, ГОУ ВПО «НИЖГМА Росздрава».
6. МР Методика определения чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам. Сост. А. А. Адарченко, А. П. Красильников, О. П. Собещук, утв. МЗ БССР — Минск, 1989.
7. Информационное письмо. Определение активности растворов дезинфектантов и антисептиков, а также чувствительности к ним микроорганизмов. Сост. А. Г. Бойцов, К. Г. Косякова, Ю. А. Чугунова, Т. А. Гречанинова; утв. Лабораторным советом ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге» 06.05.2009 г. — СПб., 2009. — 18 с.
8. МР 1100-26-0-117 по ускоренному определению устойчивости бактерий к дезинфекционным средствам. Сост. М. И. Леви, Ю. Г. Сучков, утв. руководителем департамента ГСЭПН Минздрава РФ А. А. Монисовым 10.01.2000.
9. МР 2003/17 Чашечный метод оценки эффективности дезинфектантов и антисептиков. Сост. Г. Е. Афиногенов, М. В. Краснова, утв. Первым зам. министра МЗ РФ А. И. Вялковым 19.03.2004.
10. Ашмарин И. П. Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов / И. П. Ашмарин, Н. Н. Васильев, В. А. Амбросов. — Л.: Издательство Ленинградского университета, 1975. — 79 с.

Cystatin C

Цистатин С: чувствительный маркер скорости клубочковой фильтрации (GFR)

Цистатин С (CysC)

- Протеин, образующийся в ядерных клетках с постоянной скоростью
- Свободно фильтруется в клубочках
- Полностью метаболизируется в канальцах
- Не зависит от массы тела, пола, наличия воспалительных процессов или опухолей
- Концентрация CysC в плазме линейно коррелирует с СКФ и более чувствительна к ее изменениям, чем Scr



Цистатин С-АТ

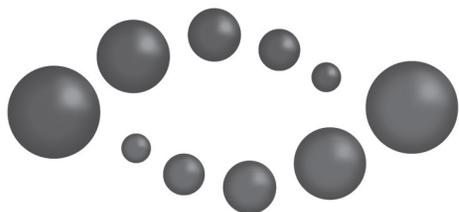
Набор реагентов для определения уровня ЦИСТАТИНА С (Nescauto GC) в сыворотке крови или плазме.

Иммунотурбидиметрический тест для биохимических анализов открытого типа



Производитель: **Alfesa Pharma Corporation, Япония**

Официальный дистрибьютер на территории РФ: **АкваТест СПб**
Санкт-Петербург, Гражданский пр., д. 11, тел.: (812) 600-22-74



БИОИНДУСТРИЯ



Выставка-конференция
проходит в рамках Петербургского
международного форума здоровья

IV МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА-КОНФЕРЕНЦИЯ «БИОИНДУСТРИЯ 2014» –

единая площадка для укрепления
международных связей в развитии
биотехнологических разработок
в странах Балтийского региона.

На выставке будут представлены разработки
и готовая продукция в области биотехнологий:
медицинской, сельскохозяйственной,
промышленной, пищевой, морской
и природоохранной.

ПРИГЛАШАЕМ К УЧАСТИЮ!



Санкт-Петербург, ВК «Ленэкспо»
тел: +7 812 240 40 40, доб. 229, 127
e-mail: bio@expoforum.ru

15–17
ОКТАБРЯ 2014

EXPOFORUM

0+
www.bio.expoforum.ru