

T-SPOT.TB был разработан для выявления эффекторных Т-клеток, которые ответили на стимуляцию специфическим антигеном *M. tuberculosis*. T-SPOT.TB позволяет подсчитать отдельные ТБ-специфичные Т-клетки. Мононуклеары периферической крови (МНПК) выделяются из образцов цельной крови и отмываются, чтобы удалить любые источники мешающего фонового сигнала. Затем МНПК подсчитывают, чтобы убедиться, что в анализируемую среду будет добавлено стандартное количество клеток. Подсчет служит гарантией, что даже у лиц с низкими титрами Т-клеток вследствие ослабления иммунной системы (иммунная недостаточность и иммуносупрессия) в микротитровальные лунки добавляется адекватное количество клеток. Стадии отмыва и подсчета наравне с методом ELISPOT обеспечивают наилучшие условия для выявления больных ТБ и латентной ТБ инфекции. По результатам клинических испытаний, проведенных в Первом МГМУ им. И.М. Сеченова специфичность теста у взрослых составила 93,3%, у детей – 100%; чувствительность у взрослых составила 86,6%, у детей – 93,3%.

*Т.И. Туркина, С.Н. Щербо, Е.В. Колодий, М.В. Дегтярева, Е.В. Киселева.* **Исследование ненасыщенности липидов плазмы крови у новорожденных детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении.** ГБОУ ВПО Российской национальной исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Целью исследования явилось определение ненасыщенности липидов сыворотки крови (двойные связи - ДС) методом озонирования у недоношенных новорожденных детей с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела (НМТ, ОНМТ и ЭНМТ соответственно) при рождении. Под наблюдением находилось 25 новорожденных детей с 1-х сут жизни до 1-го мес жизни, с весом при рождении 750–4020 г, гестационным возрастом 28–40 недель. В 1-ю группу вошли недоношенные новорожденные с ЭНМТ (12,0%); 2-ю группу составили недоношенные новорожденные с ОНМТ (8,0%); 3–4-ю группы составили новорожденные с массой тела от 2001 до 2500 г при рождении (28% и 12% соответственно); 5-я группа – доношенные дети, получавшие лечение в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) (16%). Определение ненасыщенности липидов плазмы крови проводили методом озонирования на анализаторе двойных связей. Метод озонирования основан на взаимодействии озона со связью С=C ненасыщенных жирных кислот в эквимолярном соотношении. Расход озона на химическую реакцию регистрировался спектрофотометрически. Метод обладает высокой чувствительностью, точностью ( $\pm 1\%$ ), селективностью и экспрессностью (1–3 мин на одно определение).

Впервые определены нормативные значения ненасыщенности у здоровых доношенных новорожденных (28%- группа контроля): ДС =  $15,4 \pm 2,0$  ммоль/л. Сравнительный анализ показал, что у новорожденных 1-й и 2-й групп уровень ДС был значительно ниже нормы, с сохранением минимальных значе-

ний в 1-й группе к 3-м суткам жизни: ДС =  $7,5 \pm 1,20$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Длительное сохранение показателя ДС на низком уровне является прогностически неблагоприятным признаком при тяжелом течении инфекционного процесса (сепсиса), вплоть до летального исхода. Показатель ДС в 3-, 4-, 5-й группах характеризовался недостоверным снижением ненасыщенности липидов. При стабилизации клинического состояния и нормализации показателей системной воспалительной реакции к 3-, 4-, 28-м суткам жизни уровень ДС постепенно нормализовался.

Показатель ДС можно использовать в качестве дополнительного критерия в лабораторной диагностике и мониторинге; для объективизации формирования адекватной тактики лечения (введения антиоксидантной и иммунокорректирующей терапии, мембраностабилизирующих препаратов), прогнозирования осложнений.

*Воздвиженская Е.С., Сивцева Е.М., Длин В.В.* **N-терминальный натрийуретический пептид С-типа у детей с нефротическим синдромом при гломерулонефрите.** ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Целью исследования явилось определение уровня N-терминального натрийуретического пропептида С-типа в крови у детей с нефротическим синдромом при гломерулонефрите. Определение выполнялось иммуноферментным методом с помощью набора фирмы Biomedica (Словакия) на лабораторном анализаторе Wallac 1420 Multitabel Counter (Victor 2) у 71 ребенка (возраст от 2 до 18 лет). В основную группу вошел 31 ребенок со стероидрезистентным нефротическим синдромом, группу сравнения составили 40 детей со стероидчувствительным нефротическим синдромом. Влияние стероидной терапии на уровень данного пропептида анализировалось у детей обеих групп. Контрольную группу составили 18 практически здоровых детей. Не выявлено взаимосвязи уровня N-терминального натрийуретического пропептида С-типа с активностью и вариантом нефротического синдрома при гломерулонефрите у детей (основная группа –  $7,57 \pm 3,25$  пмоль/л, группа сравнения –  $7,17 \pm 3,48$  пмоль/л). Не установлено взаимосвязи уровня изучаемого пропептида и возраста больных детей ( $r = 0,1$  и  $r = -0,31$  соответственно;  $p > 0,5$ ), в то время как у детей контрольной группы выявлена сильная отрицательная достоверная корреляционная связь ( $r = -0,725$ ;  $p < 0,05$ ). Показано, что уровень N-терминального натрийуретического пропептида С-типа зависит от выраженности снижения фильтрационной способности почек ( $7,57 \pm 3,48$  пмоль/л и  $37,97 \pm 18$  пмоль/л при скорости клубочковой фильтрации  $> 90$  мл/мин. и  $< 80$  мл/мин. соответственно). Предполагается, что степень повышения данного пропептида в крови может отражать прогрессирование хронической почечной недостаточности и служить одним из прогностических критериев заболевания. Установлено подавляющее влияние стероидной терапии на уровень пропептида в крови у детей с нефротическим синдромом.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

А.К. Берешева. **Особенности анализа при С-методе дифференциального окрашивания цитогенетического исследования хромосомных вариантов.** ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

При дифференциальном С-методе окрашивания цитогенетического исследования в настоящее время обнаружены более 50 видов хромосомных вариантов (С-варианты) генома человека в виде экстремального увеличения или уменьшения околоцентромерного гетерохроматина, инверсий (частичных или полных), а также двойные или увеличенные спутники или спутничные нити.

Практика классического цитогенетика показала, что при анализе С-вариантов в исследовании необходимо учитывать следующие особенности: 1) локализацию С-гетерохроматина, в том числе выявление частичных и полных инверсий; 2) экстремальное увеличение или уменьшение околоцентромерных гетерохроматиновых участков, оценивается по системе анализа (Прокофьева-Бельговская, Захаров, 1981) (более 3 и менее 1 балла соответственно); 3) сочетание частичной или полной инверсии с увеличенным или уменьшенным гетерохроматиновым участком в одной хромосоме; 4) наличие гетероморфизма околоцентромерных гетерохроматиновых райо-

нов гомологичных хромосом; 5) наличие увеличенных или двойных спутников или спутничных нитей; 6) наличие нескольких экстремальных хромосомных вариантов одной хромосомы кариотипа (например: 13ps+pstk+ или 15cenh+pss и др.); 7) наличие различных экстремальных хромосомных вариантов различных хромосом в кариотипе.

С развитием современных молекулярных технологий уменьшается число исследований по цитогенетическому изучению С-вариантов и, тем не менее, необходимо использование данного метода в работе цитогенетика, дальнейшее изучение и накопление данных с редкими вариантами, т.к. по-прежнему медико-генетическое консультирование семей с хромосомными вариантами, вызывает трудности.

*А.А. Бучинская, И.В. Золкина, И.С. Мамедов. Определенные органических кислот в плазме крови и моче методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Цель – выявление врожденных болезней метаболизма (органических ацидурий), при которых в моче и крови накапливаются побочные дериваты патологически измененного обмена веществ – органические кислоты.

Используемый метод анализа – газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Аналитическое оборудование: газовый хроматограф и масс-спектрометр GCMS-QP2010 Ultra фирмы Shimadzu (Япония). Хроматографическая колонка GS-TekGsBP-5MS, квадрупольный масс-анализатор, электронная ионизация с регистрацией положительных ионов. Протокол подготовки включает три стадии: жидкость-жидкостную экстракцию, концентрирование и дериватизацию. Продолжительность анализа составляет 80 мин.

Благодаря высокой селективности и чувствительности метода удается определять органические кислоты (32 параметра) в биологических жидкостях даже у детей (предел обнаружения 2–5 нг/мл). По показателям концентраций органических кислот в моче и крови удается достаточно специфично диагностировать ряд наследственных болезней обмена веществ.

Метод ГХ-МС является одним из самых быстрых и точных методов диагностики наследственных и приобретенных органических ацидурий, а также неонатального скрининга этих состояний. Использование ГХ-МС на биохимическом этапе диагностики позволяет не только ускорить диагностический процесс, но и проводить более тонкое дифференцирование данных часто клинически сходных наследственных болезней метаболизма, что важно с лечебно-профилактической точки зрения и с точки зрения прогноза.

*Е.Е. Варламов, А.Н. Пампура, Т.С. Окунева. Взаимосвязь сенсibilизации к аллергенам коровьего и козьего молока у детей с atopическим дерматитом.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Клиническая задача – определение взаимосвязи сенсibilизации к отдельным аллергенам коровьего молока с сенсibilизацией к аллергену козьего молока.

В исследование включено 88 детей с подозрением на аллергию к БКМ. Всем пациентам проводилось определение специфических IgE к аллергену коровьего и аллергену козьего молока. У 35 детей с выявленной сенсibilизацией к БКМ проводилось определение специфических IgE к  $\alpha$ -лактоальбумину,  $\beta$ -лактоглобулину и казеину. Для определения специфических IgE применялся анализатор ImmunoCAP 100 Phadia AB (Швеция).

Сенсibilизация к аллергену козьего молока присутствовала у 83% пациентов с сенсibilизацией к аллергену коровьего молока. В группе пациентов с отсутствием сенсibilизации к БКМ ( $n = 53$ ) изолированная сенсibilизация к аллергену козьего молока выявлена только у 1 пациента. Была выявлена достоверная положительная корреляция между концентрацией специфических IgE к аллергену козьего молока IgE и IgE к специфическому аллергену цельного коровьего молока ( $r = 0,91, p = 0,0000001$ ),  $\alpha$ -лактоальбумину ( $r =$

$0,76, p = 0,000007$ ),  $\beta$ -лактоглобулину ( $r = 0,72, p = 0,000038$ ) и казеину ( $r = 0,91, p = 0,0000001$ ).

Методом определения специфических IgE на анализаторе ImmunoCAP 100 Phadia AB показано, что сенсibilизация к аллергену козьего молока присутствует у большинства пациентов с сенсibilизацией к аллергену коровьего молока, изолированная сенсibilизация к аллергену козьего молока встречается редко. Таким образом, формулы на основе цельного козьего молока не могут считаться гипоаллергенными для детей с аллергией к белкам коровьего молока.

*Т.В. Виноградова, А.А. Чусляева, Е.А. Ружижская, А.Н. Пампура, В.С. Сухоруков. Особенности цитокинового статуса детей с atopическим дерматитом.* ФГБУ МНИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Цель – определить особенности наличия и уровней цитокинов, характерных для детей с atopическим дерматитом.

Обследован 91 ребенок с atopическим дерматитом (основная группа) в возрасте от 3-х мес до 16 лет ( $5,32 \pm 4,25$  года) и 11 детей (возраст –  $5,2 \pm 1,9$  года) без признаков atopии (группа сравнения). Исследования проводили в период обострения заболевания. Определение уровней интерлейкинов: IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IL-17F, IL-22, TGF- $\beta$ 1 (наборы фирмы «Bioscience», «Platinum ELISA») и хемокинов: эотаксин, эотаксин-2 (наборы фирмы «Invitrogen») проводилось методом ИФА на ридере Anthos 2020 из единой пробы сыворотки крови. Результаты исследования обрабатывались с использованием компьютерных программ Microsoft Excel. Достоверными считались значения  $p = 0,05$ .

В результате проведенного исследования было выявлено, что у детей, как с atopическим дерматитом, так и при отсутствии признаков аллергического воспаления, в циркуляции могут присутствовать практически все исследованные нами интерлейкины и хемокины. Однако их наличие и индивидуальные уровни имеют широкий диапазон.

У всех детей в сыворотке крови, независимо от наличия или отсутствия atopии, в 100% обнаруживаются хемокины: эотаксин и эотаксин-2. Чуть в меньшем проценте (при atopическом дерматите в 97,5%) в сыворотке крови регистрируется противовоспалительный интерлейкин TGF- $\beta$ 1. На третьем месте, по частоте встречаемости, оказался IL-22, который обнаруживается в 54,5% случаев (группа сравнения – 41,0%). У больных atopическим дерматитом частота встречаемости интерлейкинов, задействованных в atopической реакции, составляет: IL-4-23,6%, IL-5-33,7%, IL-13 – 37,0% (в группе сравнения 18,0%, 57,1%, 23,2% соответственно). IL-17 был выявлен у 13,3% больных (9%), в основном, в следовых реакциях, а IL-17F – лишь у одного ребенка (отсутствовал).

Достоверные различия уровней интерлейкинов между группами были получены для IL-4 ( $p = 0,041 \uparrow$ ), IL-5 ( $p = 0,0015 \downarrow$ ), TGF- $\beta$ 1 ( $p = 0,0034 \downarrow$ ), IL-22 ( $p = 0,03 \uparrow$ ).

Для детей с atopическим дерматитом, в отличие от детей без признаков atopии, был характерен выраженный разброс референсных значений уровней всех исследованных интерлейкинов. На наш взгляд, это указывает на активное участие данных цитокинов в развитии воспалительных реакций аллергического типа и их дисбаланс, который выражается как в повышенном синтезе, так и в повышенном расходе.

Для выявления клинической значимости (вид сенсibilизации, течение, тяжесть, прогноз заболевания и т. д.) исследованных цитокинов, а также установления взаимосвязи между ними необходимо проведение углубленного клинико-иммунологического анализа.

*С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров, В.Ю. Воинова, О.С. Куринная, М.А. Зеленова, Е.В. Улас, И.А. Демидова, И.Ю. Юров. Новый методический подход к молекулярной диагностике синдрома Ретта у девочек без мутаций в гене MECP2.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ; ФГБУ РАМН Научный центр психического здоровья РАМН; Московский государственный психолого-педагогический университет; кафедра медицинской генетики

ки ГБОУ ДПО Российская медицинская академии последипломного образования

Синдром Ретта (РТТ; частота: ~1/10 000) связан с мутациями в гене *MESP2*. Однако в 10–30% случаев мутации в гене не выявляются и причины РТТ остаются неизвестными.

Цель настоящей работы – разработка методов диагностики РТТ у девочек без мутаций в гене *MESP2*. Полногеномное сканирование (молекулярное кариотипирование) с применением ДНК-биочипов и оригинального биоинформатического метода анализа результатов геномной гибридизации было проведено у 28 девочек с клиническим диагнозом РТТ, обследованных с помощью молекулярно-генетических методов, без мутаций гена *MESP2*. Делеции (потери последовательностей ДНК) геномных локусов, в которых расположен ген *MESP2*, были выявлены в 9 случаях (32%). Примечательно, что наблюдались два типа делеций: (1) делеции, затрагивающие только ген *MESP2*, связанные с легкими формами РТТ; (2) делеции *MESP2* и соседних генов, связанные с более тяжелыми формами РТТ. В 5 других случаях (18%) были обнаружены другие вариации генома, ассоциированные с фенотипическими проявлениями РТТ. Таким образом, эффективность предлагаемого нового метода диагностики составила около 50%, что позволяет использовать его для молекулярно-цитогенетической диагностики РТТ при негативных результатах молекулярно-генетического анализа. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации (МД-4401.2013.7).

*И.В. Золкина, И.С. Мамедов, П.Б. Глазовский. Уровень коэнзима Q10 в плазме крови у детей с митохондриальными нарушениями.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ

Цель – определение содержания коэнзима Q10 в крови у детей с митохондриальными дисфункциями, сопровождающимися образованием свободных радикалов или активных форм кислорода, приводящих к значимому клеточному повреждению (окисление липидов, белков, ДНК), к так называемому окислительному стрессу. В настоящее время в клинической лабораторной практике особое внимание уделяется диагностике нарушений окислительных процессов с помощью определения уровней специфических антиоксидантов (витамины E, C и β-каротин, коэнзим Q10, глутатион) в биологических жидкостях организма.

Осуществлено исследование уровня коэнзима Q10 в плазме крови у 38 детей с митохондриальными дисфункциями в возрасте от 1 года до 16 лет, госпитализированных в МНИИ педиатрии и детской хирургии. В качестве биологического материала использовалось 100 мкл плазмы крови. Определение концентраций коэнзима Q10 проводилось путем разделения веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с градиентным элюированием на жидкостном хроматографе Agilent 1100 с УФ-детектированием.

В результате комплексного клинико-лабораторного обследования было отмечено, что у всех обследуемых детей с подтвержденным диагнозом митохондриальной дисфункции, уровни коэнзима Q10 были ниже нормы или находились на нижней границе нормальных значений (норма 0,4–1,6 мг/л).

Низкий уровень коэнзима Q10 в крови может служить дополнительным критерием дифференциальной диагностики митохондриальных заболеваний и обоснованием медикаментозной терапии.

*Н.М. Карахан, Л.С. Балева, А.Е. Сипягина. Рациональный выбор лабораторных показателей для мониторинга состояния здоровья детей, подвергшихся действию радиации.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ

Цель работы – определение наиболее информативных показателей иммунного статуса и цитогенетического исследования для раннего выявления радиационного воздействия на организм ребенка. Работа основана на длительном мониторинге за состоянием клинико-лабораторных показателей у 133 детей, из различных когорт наблюдения, подвергшихся

воздействию радиационного фактора. Проведены исследования радиочувствительных лабораторных показателей иммунного статуса методом проточной цитофлюориметрии и хромосомных aberrаций – методом G-бендинга с дифференцированным окрашиванием.

По нашему мнению, потенциальными маркерами иммунотропности радиационного воздействия следует считать следующие молекулы: CD4, CD8, CD10, CD23, CD16, CD38, CD71. Особое значение придается CD95 (маркеру готовности к апоптозу). У детей зарегистрирована тенденция к увеличению относительного количества клеток с CD95, что позволяет рассматривать этот показатель как наиболее информативный маркер радиационного воздействия. Получена статистически значимая отрицательная корреляционная связь между клетками с CD95 и пролиферирующими клетками (CD71<sup>+</sup>), что подтверждает наличие феномена «ускоренного старения» клеток, возможно, связанное с перепроизводством «неполноценных» клеток и их активным выходом в циркуляцию.

Ранее нами показано, что чувствительность к малым дозам радиации определяется первичностью процессов повреждения ДНК и клеток мембран. Семейное изучение закономерностей индукции геномной нестабильности, причинно-следственных связей с клинико-иммунологическими показателями необходимы для выявления детей с повышенным риском развития радиационно-индуцированных заболеваний и выбора адекватных медико-профилактических и лечебных мероприятий.

*В.В. Невстроева, Н.И. Багирова, Е.И. Епифанова. К вопросу о подоцитах и подоцитопатиях у детей с заболеваниями почек.* ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Подоциты – высокоспециализированные клетки, от состояния которых зависит нормальное функционирование почечного фильтра и почки в целом. Продуцируемые или многочисленные белки необходимы для поддержания целостности самой клетки, а некоторые из них оказывают либо прямое, либо опосредованное влияние на морфофункциональные особенности практически большинства структур почки. В зависимости от их чрезвычайно большой значимости цитоархитектоника подоцитов крайне важна (набор необходимых органелл). По данным исследователей, занимающихся изучением морфофункциональных особенностей компонентов почечного фильтра, в составе цитоплазмы подоцитов имеется весь набор органелл (ЭПС гранулярная и агранулярная, клеточный центр, лизосомы, пластинчатый комплекс Гольджи и др.), характерный для любой другой клетки. Однако никем из авторов не упоминается такая важная органелла, как пероксисома, которая постоянно обнаруживается у детей разного возраста с нефротическим гормонорезистентным синдромом, под маской которого скрываются некоторые наследуемые синдромы и системные заболевания (СКВ, периартриты, в частности), сопровождающиеся гиперхолестеринемией и гиперлипидемией. Пероксисомы, в таких случаях, содержат в своем составе разное количество липидных гранул. Вероятно, эти органеллы активно участвуют в перекисном окислении липидов. А также аккуратнее относится к термину «пролиферация подоцитов». Как любая высокоспециализированная клетка подоцит в нормальных физиологических условиях «выходит» из митотического цикла и утрачивает способность митотически делиться и только при патологии, возможно, может «вернуться» в митоз. А имеющийся в подоцитах клеточный центр при таких обстоятельствах может выполнить свою функцию. Однако при довольно большом объеме исследований, проводимых нами как на светооптическом, так и на электронно-микроскопическом уровне никогда не приходилось увидеть делящихся митотически подоцитов, хотя двухядерные подоциты иногда обнаруживаются. При подоцитопатиях у детей до 7 лет необходимо учитывать все изменения в структурной организации подоцитарных органелл (цитоплазматической гранулярной сети, пластинчатого комплекса Гольджи, митохондрий, клеточного центра, перок-

сисом и различных включений: липидных, белковых), а не просто отсутствие или наличие педикул.

*Е.А. Ружницкая, Т.В. Виноградова, А.А. Чуслева, В.С. Сухоруков, А.Н. Пампура, О.Н. Потапова.* **Объективизация оценки эозинофилограммы детей с аллергическими заболеваниями.** ФБГУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ

До настоящего времени не существует единого мнения специалистов относительно особенностей морфологии и эффекторной функции эозинофилов при аллергических заболеваниях у детей. Внимание, уделяемое эозинофилии, неадекватно мало по сравнению с ее патогенетической значимостью при аллергии. Для оптимизации оценки эозинофилограммы в диагностике тяжести, прогноза течения и оценке эффективности лечения аллергических заболеваний перспективно применение компьютерной морфометрии.

Цель – объективизация оценки эозинофилограммы посредством компьютерной морфометрии эозинофилов различной плотности у детей с аллергическими заболеваниями.

Обследованы 65 детей и подростков в возрасте 5-17 лет с аллергическими заболеваниями (47 – с atopическим дерматитом различной степени тяжести, 18 – с аллергическим ринитом). Контроль – 9 практически здоровых лиц с числом эозинофилов в крови не более 3%. Оценивали параметры морфометрии и количество эозинофилов в периферической крови: цельной крови, легкой фракции и средней фракции. Фракционирование клеток крови – на двуступенчатом градиенте (плотность 1,076 и 1,083 г/мл). При морфометрии использовали программу «Видео Тест Мастер», СПб, Россия). Определены наиболее диагностически значимые параметры компьютерной морфометрии: диаметр и периметр эозинофилов, количество дифференцируемых гранул в эозинофиле, оптические признаки незрелости гранул. Таким образом, использование количественных параметров морфометрии эозинофилов повышает объективность оценки эозинофилограммы.

*Е.А. Ружницкая, Н.С. Лев.* **Морфометрия параметров реакции асептического воспаления in vivo при интерстициальных болезнях легких у детей.** ФБГУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ

Для диагностики интерстициальных болезней легких важно распознавание патологического процесса на обратимых стадиях повреждения интерстиция и нижних отделов дыхательных путей. Наиболее информативным методом диагностики интерстициальных заболеваний легких является биопсия легких, однако ввиду ее значительного травматизма, актуально использование альтернативных неинвазивных способов оценки течения воспалительного процесса, в частности, реакции асептического воспаления в «кожном окне». Нами используется усовершенствованная технология оценки реакции асептического воспаления в «кожном окне» посредством компьютерной морфометрии, преимуществами которой является параметрирование процесса, замена качественных и полуколичественных показателей количественными, возможность непосредственного статистического анализа данных. Стандартная схема постановки метода (оценка нейтрофильной и макрофагальной фаз) дополнена III (фибропластической) фазой, что позволяет судить о выходе фибробластов и образовании волокнистых структур. В каждой фазе учитываются показатели, наиболее информативные для оценки характера воспалительного процесса: площадь выхода и плотность элементов воспаления, число, плотность и состав мигрировавших клеток, количество и характер экссудата, количество и структура волокон, которые позволяют оценить значимость аллергического компонента, степень активности нейтрофилов и макрофагов, их взаимодействие, судить об индукции регенерации и/или фиброза. При обследовании 44 детей с гиперчувствительным пневмонитом в возрасте от 2 до 17 лет и длительностью заболевания от 0,5 до 15 лет показана зависимость параметров реакции асептического воспаления от ряда факторов: возраста, длительности и стадии за-

болевания, лечения, наличия признаков фиброза у больных. Таким образом применение современных диагностических технологий на стадиях, предшествующих развитию фиброза, может способствовать повышению эффективности лечения интерстициальных заболеваний легких.

*А.А. Чуслева, А.Н. Пампура, Т.В. Виноградова, Е.А. Ружницкая.* **Уровни эозинофилов, хемокинов у детей с atopическим дерматитом.** ФБГУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Цель исследования – определить взаимосвязь уровня эозинофилов периферической крови с концентрацией цитокинов эозинофильного воспаления и тяжестью клинических проявлений atopического дерматита (АтД) у детей.

В клинике обследовано 54 ребенка с АтД в возрасте от 4 месяцев до 16 лет ( $5,6 \pm 4,27$  года). Для оценки тяжести АтД использовался индекс SCORAD. Проводилось определение абсолютного и относительного количества эозинофилов в периферической крови, уровней эотаксина, эотаксина-2 (наборы фирмы Invitrogen) в сыворотке крови пациентов с АтД методом ИФА на ридере Anthos 2020.

Средний уровень абсолютного количества эозинофилов периферической крови по группе в целом составил  $915 \pm 1224$  кл/мкл. Распределение на подгруппы проводилось путем выделения отдельных кластеров методом К-средних. 1 кластер ( $n = 30$ ) – уровень эозинофилов  $< 790$  кл/мкл, 2 кластер ( $n = 21$ ) – уровень эозинофилов  $> 790$  кл/мкл. Зависимости между наличием/отсутствием эозинофилии и тяжестью клинических проявлений АтД между кластерами не выявлено (U-тест,  $p = 0,23$ ). Эотаксин и эотаксин-2 определялись в сыворотке крови у всех пациентов. У пациентов 1 кластера концентрация эотаксина достоверно выше, чем у детей 2 кластера, ( $113,27 \pm 38,5$  пг/мл и  $81,95 \pm 26,58$  пг/мл соответственно;  $p = 0,0075$ ). Достоверных различий по уровню эотаксина-2 между кластерами не выявлено ( $p = 0,13$ ). Взаимосвязи между наличием/отсутствием эозинофилии 300-500 кл/мкл с концентрацией хемокинов и тяжестью АтД не выявлено.

Таким образом, зависимость уровней эотаксина с количеством эозинофилов становится значимой при уровне эозинофилии выше 790 кл/мкл. Наличие эозинофилии не может использоваться как маркер тяжести течения заболевания.

*А.А. Чуслева, А.Н. Пампура, Т.В. Виноградова.* **Роль IL-22 у детей с atopическим дерматитом.** ФБГУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России

Цель исследования – определить взаимосвязь тяжести клинических проявлений atopического дерматита (АтД) с концентрацией IL-22 в сыворотке крови у детей с АтД.

В клинике обследовано 50 детей с АтД в возрасте от 4 месяцев до 16 лет ( $5,7 \pm 4,4$  года). Для оценки тяжести atopического дерматита использовали индекс SCORAD. Проводили определение уровня IL-22 в сыворотке крови пациентов с АтД методом ИФА на ридере Anthos 2020 (наборы фирмы eBioscience, Platinum ELISA).

Пациенты были распределены на 2 подгруппы в зависимости от тяжести клинических проявлений. I подгруппа – индекс SCORAD  $< 60$  баллов ( $n = 27$ ); II подгруппа – тяжелый АтД – индекс SCORAD  $> 60$  баллов ( $n = 23$ ). IL-22 обнаруживался в сыворотке крови у 58% пациентов. Средний уровень IL-22 в целом по группе составил  $38,7 \pm 76,0$  пг/мл. Частота встречаемости IL-22 во II подгруппе детей достоверно выше, чем у детей со SCORAD  $< 60$  баллов (78,3% и 42,3% соответственно;  $p = 0,02$ ). В этой же подгруппе детей со сверхтяжелым АтД отмечаются достоверно более высокие уровни IL-22 по сравнению с I подгруппой пациентов ( $58,3 \pm 103,2$  пг/мл и  $22,03 \pm 35,2$  пг/мл соответственно;  $p = 0,038$ ). Отмечена тенденция к наличию положительной корреляции между концентрацией IL-22 в сыворотке крови и распространенностью АтД ( $r = 0,3$ ;  $p = 0,06$ ).

Таким образом, IL-22 является маркером тяжести АтД, определение которого может быть полезно для мониторинга активности кожного воспаления, обоснованной оцен-

ки течения заболевания, возможного прогноза и контроля терапии.

*И.Ю. Юров, С.Г. Ворсанова, О.С. Куринная, В.Ю. Воинова, М.А. Зеленова, Ю.Б. Юров.* **Молекулярное кариотипирование и медицинская биоинформатика: новые постгеномные технологии в диагностике нервных и психических заболеваний.** ФГБУ НЦ психического здоровья РАМН; ФГБУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России; Московский государственный психолого-педагогический университет

Современные постгеномные технологии позволяют эффективно выявлять генетические нарушения и вариации генома в клинико-диагностических исследованиях. Однако выделение патогенных и непатогенных форм вариаций генома представляет собой нерешенную задачу в лабораторной генетической диагностике.

Цель настоящей работы заключалась в разработке и внедрении полногеномного сканирования с применением ДНК-

микроматриц (array CGH) и оригинальных вариантов биоинформатического анализа. Были обследованы 110 детей с недифференцированными формами нервно-психических расстройств и врожденными пороками развития. В 85 случаях (77,3%) были выявлены структурные вариации генома. У 36 пациентов из 85 (42,4%) были обнаружены известные формы геномных и хромосомных микроаномалий, связанных с умственной отсталостью, аутизмом и/или пороками развития. В остальных 49 случаях (57,6%) применение биоинформатических технологий позволило выявить ранее неизвестные или уникальные формы молекулярных нарушений генома, приводящие к нервно-психической патологии. Таким образом, предложенные новые технологии (молекулярное кариотипирование и биоинформатический анализ) являются эффективными для выявления геномных нарушений у детей с нарушениями психики и врожденными пороками развития. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации (МД-4401.2013.7).

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ СЕПСИСА

*А.А. Кишкун.* **Современные технологические возможности этиологической диагностики сепсиса.** ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

Сепсис в настоящее время рассматривается, как результат неконтролируемого системного воспалительного ответа (генерализованной воспалительной реакции) на присутствие инфекции. Диагностика сепсиса включает в себя выявление этиологического инфекционного фактора – определение возбудителя и изучение его чувствительности к антибактериальным препаратам, так как именно использование соответствующих антибиотиков является при прочих равных условиях залогом окончательного излечения больного. Традиционные методы этиологической диагностики сепсиса включают:

1. бактериологическое исследование (определение вида возбудителя, его концентрации и наиболее эффективного препарата для антибактериальной терапии);

2. серологический метод (обнаружение антигена и антител);

3. масс-спектрометрию;

4. полимеразную цепную реакцию (ПЦР);

5. газовую хроматографию (экспресс-метод диагностики анаэробной инфекции).

Для клинической практики наиболее важную информацию в отношении выбора эффективной антибактериальной терапии представляет бактериологический метод. Несмотря на значительный прогресс технологий в отношении бактериологических исследований (использование селективных сред, автоматизация, ускоренные диагностические панели), время установления вида возбудителя и определение его чувствительности к антибактериальным препаратам занимает в лучшем случае 24–48 ч. Вместе с тем, с позиций доказательной медицины установлено, что каждый час задержки адекватной антибактериальной терапии пациентов с септическим шоком, уменьшает выживаемость на 7,6%.

Современные технологии позволяют сократить время этиологической диагностики и выбора эффективных антибактериальных препаратов для лечения больных с сепсисом до нескольких часов. Новые технологические подходы в диагностике сепсиса можно разделить на 3 группы:

1. ускоренное определение чувствительности к антибактериальным препаратам и индивидуальный подход к лечению;

2. ускоренная идентификация микроорганизмов и эмпирическая терапия;

3. сочетание оптимальных возможностей 2-х подходов (быстрая идентификация и быстрое определение чувствительности к антибактериальным препаратам) и индивидуальный подход к лечению

Технологии, относящиеся к первой группе, позволяют отслеживать рост бактерий в бульонах, разработанных специально для мочи и биологических жидкостей человека, начиная с момента инокуляции. Математическая обработка результатов роста бактерий в реальном времени позволяет получать не только качественную оценку наличия/отсутствия микроорганизмов в пробе, но и количественную оценку исходного содержания бактерий в КОЕ/мл. Результат исследования можно получить в течение 3–6 ч, а установить чувствительность к антибактериальным препаратам в течение последующих 3 часов.

Вторая группа подходов основана на использовании модификаций метода масс-спектрометрии. Наиболее активно используется матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (МАЛДИ – от англ. MALDI, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization). Материал колоний смешивается с ионизирующей матрицей, затем образец облучается ультрафиолетовым лазером, что ионизирует растворимые белки микроорганизмов, которые распределяются по массе/заряду. Анализ спектра масс белков из колоний с базой данных спектров собранных из известных микроорганизмов с помощью программы базы данных позволяет идентифицировать вид бактерий. На основании установленного вида бактерий и анализа литературы определяется наиболее эффективная антибактериальная терапия. Идентификация вида микроорганизма осуществляется в течение нескольких минут. Недостатком метода является то, что необходимо время (не менее 24 ч) для получения чистой культуры.

Комбинация 2-х подходов позволяет установить вид микроорганизма у больных сепсисом в течение максимум 6 ч и определить чувствительность к антибактериальным препаратам в течение последующих 3 ч.

Таким образом, современные технологии позволяют сократить время этиологической диагностики сепсиса, определения чувствительности к антибактериальным препаратам и выбор индивидуально подхода к лечению до одного рабочего дня специалистов бактериологической лаборатории.

*А.А. Кишкун.* **Диагностика и мониторинг эффективности лечения сепсиса с позиций доказательной медицины.** ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации