

данные, продемонстрировавшие возможность аутоантител у детей первых лет жизни гидролизовать инфицированные клетки-мишени.

Не исключена также возможность использования достижений современной абзимологии в лечении наследственных энзимопатий путем замещения дефектного фермента соответствующей фармакоконструкцией на основе аналога абзима в случае классической абзимотерапии или кодирующим абзим геном в случае интервенционной генотерапии.

Каталитические антитела, предназначенные для использования в современных схемах лечения, должны удовлетворять двум основным критериям — точно узнавать и связывать клетку — или молекулу-мишень — и связав, осуществлять запрограммированные в абзимах функции катализа. Точно следовать этим критериям удалось японским исследователям, впервые обнаружившим в крови больных гемофилией А аутоантитела к фактору VIII с протеолитическим и нейтрализующим потенциалом. В одной из клиник гематологами была продемонстрирована прямая корреляция между уровнем протеолитического гидролиза циркулирующего в крови дефектного фактора VIII и развитием клинической симптоматики, а введение в организм больного адаптированных абзимов кардинально изменило исход лечения заболевания в положительную сторону.

Сегодня можно говорить о тех перспективах, которые открываются в практических областях современной медицины в связи с получившим развитие этапом прикладных разработок на основе каталитических антител. Не исключено, что уже в ближайшем будущем спектр нозологий, охватываемый исследованиями и практическими результатами в области клинической абзимологии, будет значительно расширен.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Р.С. Тишенина, М.С. Суровикина

Биохимическая лаборатория МОНИКИ организована в 1966 г. как научно-практическое подразделение многопрофильного института и методический центр для клинко-диагностических лабораторий (КДЛ) лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) Московской области. В связи с чем лаборатория решает следующие задачи:

1. Разрабатывает оригинальные, внедряет их и новые, более информативные методы диагностики в практику института и КДЛ Московской области.

2. Оказывает научно-организационную и методическую помощь лабораториям Московской области.

3. Участвует в подготовке кадров для КДЛ Московской области, России, стран СНГ, работая на кафедрах ФУВ МОНИКИ, осуществляя подготовку врачей на рабочих местах, проводя научно-практические конференции и семинары.

4. Постоянно оказывает консультативную помощь врачам, научным сотрудникам института и ЛПУ Московской области при обследовании

наиболее сложных пациентов.

5. Участвует в лицензировании и аккредитации лабораторий Московской области.

С учетом международного и отечественного опыта в биохимической лаборатории МОНИКИ организованы специализированные группы, которые возглавляют доктора и кандидаты медицинских наук. Следует подчеркнуть, что в отличие от других лабораторий Московской области, в биохимической лаборатории МОНИКИ выполняется расширенная коагулограмма, осуществляется оценка тромбоцитарного звена гемостаза, внедрены современные методы диагностики и контролируемого лечения сахарного диабета и других заболеваний эндокринной системы.

В лаборатории выполняется до 120-130 тестов, из них более половины — специализированные, высокотехнологичные, ежегодно внедряется от 5 до 10 ранее не применяемых диагностических тестов. В работе используются, в основном, приборы и реактивы хорошо зарекомендовавших себя в России зарубежных и Российских фирм. Ежегодно выполняется от 450 000 до 500 000 исследований, примерно 20% из которых — для пациентов консультативного отдела института. Благодаря внедрению во многие лаборатории Московской области современных биохимических анализаторов, позволяющих определить большинство биохимических показателей, в последние годы амбулаторным больным, обследуемым в МОНИКИ, выполняются, в основном (80,2%), специализированные, высокотехнологичные исследования. Количество специализированных анализов для больных стационара несколько меньше (62,3%). Количество анализов на 1 взрослого больного терапевтического профиля составило в среднем 20,6; хирургического — 13,4; на 1 ребенка педиатрической клиники — 21,6; детской хирургии — 12,3; детской отоларингологии — 15,6.

Изучение диагностической и патогенетической роли биологически активных соединений (гормонов, катехоламинов) при эндокринных заболеваниях является ведущим научным направлением деятельности лаборатории. Большое значение уделяется исследованиям, посвященным выявлению роли калликреин-кининовой системы крови (ККСК), процесса гемостаза, перекисного окисления липидов (ПОЛ), электролитов, отдельных белков и ферментов при заболеваниях терапевтического и хирургического профиля.

К 1975 г. стало очевидным, что надежды, возлагавшиеся клиницистами на определение содержания большинства гормонов, и в частности АКТГ, кортизола, альдостерона, в крови с дифференциально-диагностической целью, оправдались лишь частично, так как результаты их исследований зависят от многих как эндогенных (гипогликемия, суточный ритм и др.), так и экзогенных (прием лекарственных средств, стрессорные воздействия и др.) факторов. В этой связи в лаборатории разработаны модификации двух функциональных тестов, применяемых наиболее часто для дифференциальной диагностики болезни Иценко-Кушинга (БИК) и заболеваний, протекающих с парциальной симптоматикой адреногиперкортицизма (андроидный тип ожирения, пубертатно-юношеский диспитуитаризм — ПЮД, АКТГ-эктопированный синдром, алкогольный псевдосиндром Кушинга). Основной задачей этих разработок явилась оптимизация диаг-

ностического процесса на догоспитальном этапе обследования (тест Nugent и соавт., 1965), кроме определения в крови содержания кортизола введено определение всем обследуемым глюкозы и, по показаниям, ДГЭА-с, тест Liddle (1960) получил название «Расширенный малый дексаметазоновый тест» [1, 9]. Внедрение этих тестов позволило уменьшить число необоснованных визуализирующих, дорогостоящих методов исследования гипофиза, надпочечников, необоснованных госпитализаций, значительно сократить сроки пребывания больного в специализированном стационаре, а также своевременно выявлять рецидив или подтверждать ремиссию аденогиперкортицизма, оценивать адекватность проводимой терапии.

С 1977 г. осуществляется определение уровня стероидных гормонов в крови надпочечных вен, полученной при селективной венографии надпочечников, как с целью топической диагностики, так и (в последние годы) с целью дифференциальной диагностики гормонально-активных и гормонально-неактивных (инциденталом) опухолей надпочечников. Доказана высокая информативность этого комплексного исследования в труднодиагностируемых случаях для топической диагностики опухолей маленького (менее 1 см) размера, чаще всего — альдостером [2, 8].

В отличие от многочисленных данных литературы, оценка активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в лаборатории осуществлялась не только на определении содержания гидроперекисей, МДА, альфа-токоферола в плазме крови, но и в эритроцитах и на основании определения активности антиокислительных ферментов (СОД и глутатионпероксидазы). А с целью оценки сопряженности функционирования процессов активации ПОЛ и механизмов антиокислительной защиты разработано вычисление индексов потребности в альфа-токофероле, антиоксидантной обеспеченности и антиоксидантной недостаточности. Получены доказательства активации процессов ПОЛ при болезни Иценко-Кушинга, диффузном токсическом зобе, у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС, при тяжелой полиорганной недостаточности.

Результаты исследований обосновали необходимость использования антиоксидантов в комплексном лечении этих заболеваний и легли в основу глав диссертаций (одной докторской и двух кандидатских).

На основании обследования детей, страдающих сахарным диабетом I типа, на протяжении 4 лет до и после интенсифицированной терапии подтверждена не только успешность последней в отношении коррекции нарушений углеводного обмена, но и доказано снижение почти вдвое пациентов-носителей антител к инсулину.

При всех типах сахарного диабета, в частности, при труднокорригируемой гликемии, при гипогликемии или синдроме «утренней зари» обоснована необходимость исследования в крови не только уровня С-пептида, а также инсулина с целью индивидуального исследования его фармакокинетики и антител к последнему для уточнения генеза инсулинорезистентности.

На основании определения уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) в 2002 -2003 гг. на основе жидкостной ионообменной хроматографии низкого давления на автоанализаторе «Диастат» (США), ранее с помощью реактивов фирмы «Roche», у более чем 3000 больных сахарным диабетом из 24 регионов Московской области и клиник института про-

анализирована работа диабетологической службы в целом по Московской области. Установлено, что более 65% обследованных, согласно критериям ВОЗ, находятся в состоянии декомпенсации. Необходимо подчеркнуть, что этот показатель ниже, чем в других регионах России. Более подробный анализ проводится совместно с сотрудниками терапевтической эндокринологии, а результаты будут опубликованы в печати и обсуждены на научно-практической конференции эндокринологов Московской области.

С 1969 г. в лаборатории проводятся интенсивные научные исследования по выявлению роли калликреин-кининовой системы крови (ККСК) при заболеваниях терапевтического и хирургического профиля.

Интерес к этому научному направлению обусловлен тем, что ККСК является основной протеолитической системой крови, создающей и поддерживающей согласованное взаимодействие других протеолитических систем-гемостаза, фибринолиза, ренин-ангиотензинной и комплемента. В этом ансамбле ККСК является связующим звеном между ними и единым координационным комплексом, объединяющим нервную, эндокринную и иммунную системы организма, ККСК контролирует множество физиологических процессов, включается в системы рецепции, адаптационные перестройки, морфогенетические превращения клеток, регуляцию равновесия биохимических компонентов жидких сред (гомеостаза), то есть выполняют адаптивно-защитную функцию. Полифункциональность ККСК обусловлена особыми свойствами ее основного компонента — кининообразующего фермента — калликреина и образуемой этим ферментом группы высокоактивных гипотензивных пептидов, называемых кининами (брадикинин, каллидин, метионил-лизил-брадикинин, глицил-аргинил-метионил-лизил-брадикинин). Последние обладают широким спектром биологического действия, являются регуляторами на всех уровнях деятельности систем кровообращения, дыхания, пищеварения, выделения; влияют на тонус сосудов, состояние эндотелия, проницаемость сосудистой стенки, интенсивность тканевого дыхания, утилизацию кислорода и глюкозы клетками, метаболизм цитокинов, состояние рецепторов, воспринимающих действие гормонов. Калликреин в настоящее время называют адаптогеном, повышающим устойчивость организма к стрессорным воздействиям. Адаптационная функция фермента осуществляется через влияние на кору надпочечников путем регуляции секреции глюко- и минералокортикоидов. Интенсивность образования кининов (кининогенз) определяется не только активностью калликреина, но и состоянием всех компонентов ККСК-прекалликреина, ингибиторов, активаторов калликреина, субстратов-кининогенов (высоко- и низкомолекулярного), кининразрушающих ферментов — кининаз [3]. В норме существует химическое равновесие между процессами кининообразования и кининоразрушения, благодаря чему постоянно поддерживается определенный физиологический уровень кининов в крови. Вследствие того, что при массивном местном образовании (локализованном патологическом процессе) кинины вызывают основные симптомы воспаления (гиперемия, отек, увеличение проницаемости сосудов, нарушение функции, боль) их относят к числу медиаторов воспаления. Информация о функциональном состоянии ККСК является интегральным лабораторным показателем гомеостаза. Последний

нарушается при повреждениях органов и тканей, воспалительных, аллергических процессах различной этиологии и локализации. Сведения об изменениях активности отдельных компонентов ККСК позволяют проводить оценку характера и степени изменений биохимического гомеостаза во все стадии течения болезни, а также могут быть использованы в качестве объективного критерия эффективности проводимого терапевтического или хирургического лечения. Углубленные исследования гомеостаза необходимы для оценки соотношения между локальными проявлениями и общей характеристикой конкретной патологии, то есть для совершенствования лечебного процесса, обеспечения принципа «управляемой терапии» и глубокого понимания фундаментальных основ патологии. Для целей клинической медицины и расшифровки путей и механизмов участия различных компонентов ККСК в разнообразных патологических процессах и в соответствии с решением Международного комитета по номенклатуре вазоактивных пептидов (1968) в 70-80-е годы в группе «кинины» были проведены многочисленные экспериментальные и клинические исследования, позволившие разработать точные, высокочувствительные и специфические кининогеназные методы (оценка кининов на изолированных органах лабораторных животных — роге матки крыс, полоске тощей кишки кошки) всех основных компонентов ККСК — калликреина плазмы (его трех форм), калликреина тканей, ингибиторов калликреина крови, кининаз и свободных кининов крови. Необходимость методических разработок была обусловлена неточностью, недостаточной специфичностью отечественных эстеразных методов определения калликреина крови и его предшественника — прекалликреина, отсутствием метода определения самих кининов.

Все разработанные в группе «кинины» методы опубликованы в центральной печати, защищены 4 авторскими свидетельствами на изобретения (№№ 2155341, 2000 г.; 531530, 1976 г.; 903773, 1982 г.; 31309982, 1987 г.) активно и пассивно (по печатным публикациям) внедрены в разные лечебные, научные, педагогические учреждения СССР и России, использованы для практических и научных исследований. Предложенные методы оценки функционального состояния ККСК были внедрены и апробированы в клиниках МОНИКИ — отделения 2-й терапии, профпатологии, педиатрии, детской инфекции, детской хирургии, сердечно-сосудистой хирургии, хирургической эндокринологии. Исследования показали ценность разработанных методов в целях диагностики, углубленного изучения отдельных звеньев патогенеза, определения прогноза заболевания, формирования групп риска, оценки способов терапии и ее коррекцию за счет применения антикининовых или кининогенезстимулирующих препаратов.

На основе полученных результатов защищены диссертации — 1 докторская и 12 кандидатских. В работах установлена фазовость изменений активности ККСК (усиление, качественное изменение, ослабление) в зависимости от стадии заболевания и тяжести течения патологического процесса в легких и сердце, желудочно-кишечном тракте, железах внутренней секреции. Обоснована необходимость назначения ингибиторов калликреина (тразилола, кортикола) не «вслепую», без индивидуального определения интенсивности кининогенеза, а только после определения активнос-

ти кининообразующего фермента у каждого конкретного пациента [5].

Поздние стадии течения затяжной пневмонии, астматического бронхита и бронхиальной астмы у детей протекают на фоне ослабления кининогенеза. Включение микродоз гепарина (0,8 ед/кг массы) в основной курс комплексной терапии затяжной пневмонии у детей нормализует ослабленный кининогенез и улучшает исходы лечения (новый метод стимуляции ослабленного кининогенеза защищен авторским свидетельством на изобретение (№ 31309982, 1987 г.). Назначение общепринятых доз гепарина (50-100 ед/кг массы) оказывалось не эффективным.

В экспериментальных и клинических исследованиях доказано антикалликреиновое действие нового отечественного фосфорорганического соединения — димефосфона. Назначение этого препарата приводило к нормализации активности калликреина плазмы, увеличению уровня его ингибиторов, сокращению длительности бронходеструктивного синдрома и сроков клинического выздоровления при ОРВИ.

Коррекция паталогически измененного кининогенеза антикининовыми (продектин) или калликреинстимулирующими препаратами (микродозы андекалина) при пылевом бронхите улучшает эффективность проводимой терапии.

С применением нового разработанного метода определения ингибиторов калликреина, действие которых направлено на подавление кининогеназной, а не эстеразной активности данного фермента, показало, что обе фазы нарушений интенсивности кининогенеза сопровождаются снижением уровня специфических ингибиторов калликреина и наиболее резко выраженное падение их содержания в крови отмечается в фазу ослабленного образования кининов.

Выключение из кровотока пептидных регуляторов гомеостаза (кининов) в фазу 50% ослабления кининогенеза на фоне снижения уровня ингибиторов калликреина, обнаруженное у детей с врожденными пороками сердца, осложненными инфекционным миокардитом, приводит к изменениям тромбоцитарного звена гемостаза и способствует развитию осложнений в послеоперационном периоде. Гелий-неоновое воздействие на циркулирующую кровь вызывало 108% увеличение активности калликреина плазмы, приводило к нормализации ослабленного кининогенеза в течение 7-суточного послеоперационного периода и уменьшало опасность развития осложнений системы гемостаза.

При хроническом персистирующем и активном гепатите у детей отмечаются различной степени изменения активности калликреина плазмы и его ингибиторов, кининаз и свободных кининов. Нарастание степени ослабления кининообразования коррелирует с увеличением изменений показателей иммунной и фибринолитической систем, маркеров синдрома цитолиза, мезенхимального воспаления, гепатодепрессии. Нормализация кининогенеза пирогеналом и курсом микродоз гепарина (0,8 ед/кг массы), включенными в комплексную терапию хронического гепатита В, способствует нормализации показателей ККСК, иммунной и фибринолитической систем, улучшает клиническое течение и прогноз заболевания. Включение димефосфона в комплекс терапевтических мероприятий при затяжных вирусных гепатитах А и В у детей способствует сокращению дли-

тельности интоксикации, более быстрой (в 4-6 раз) нормализации активности трансаминаз и тимоловой пробы, оказывает нормализующее влияние на активность трех форм калликреина плазмы и его ингибиторов в фазу ослабления кининообразования, обуславливая более короткие сроки выздоровления.

На основе кининогеназного способа определения активности калликреина плазмы крови в 1995-1997 гг. был разработан специфический колориметрический метод определения трех форм калликреина (общего; связанного с ингибиторами; прекалликреина) и показателя его адсорбции на каолине — ПАКЛ [5].

Метод прост в исполнении, проводится на фотоэлектрокалориметре с минимальным количеством плазмы крови. При сопоставлении данного метода с кининогеназным доказано, что активность общего калликреина является интегральным показателем состояния ККСК и биохимического гомеостаза. Прекалликреин характеризует функцию печени; калликреин, связанный с ингибиторами, отражает наличие в кровотоке суммы калликреинов плазменного и тканевого происхождения, ПАКЛ свидетельствует об изменении структуры калликреина. С применением кининогеназного и калориметрического методов изучен характер изменений кининогенеза у больных сахарным диабетом и БИК. Полученные данные указывают на то, что патогенез сахарного диабета I и II типов включает процесс накопления в крови калликреина тканевого происхождения (вероятно панкреатического). Характер ослабления кининогенеза при сахарном диабете II типа имеет много общего с таковым при БИК, осложненной стероидным диабетом. Выявлены закономерности между дефицитом прекалликреина и сдвигами показателей коагулограммы, формирующими латентное нарушение гемостаза без признаков коагулопатии потребления [4]. Одной из причин декомпенсации микроциркуляции при диабетических ангиопатиях является гипокининемия.

Клинические наблюдения над детьми, страдающими различными формами хронического панкреатита, позволили установить, что ослабление кининогенеза составляет важное звено патогенеза их развития. По мере течения хронического панкреатита степень угнетения кининогенеза прогрессирует, что способствует микроциркуляторным изменениям в паренхиме поджелудочной железы и нарушению ее экзокринной функции. При гиперсекреторных стадиях хронического панкреатита возникает снижение определенных фракций пула молекул средней массы, что утяжеляет течение панкреатита. Показатели активности общего калликреина и калликреина, связанного с ингибиторами, можно использовать в качестве критериев эффективности лечения. Результаты обосновывают назначение кининогенезстимулирующих препаратов в качестве средств, улучшающих лечение хронического панкреатита.

Многолетние исследования с использованием колориметрического метода определения активности трех форм калликреина плазмы и ПАКЛ у больных с гормонально-активными опухолями надпочечников (альдостерома, феохромоцитомы, кортикостерома) позволили установить, что ослабление кининогенеза и последующая гипокининемия могут создавать условия для нарушения нормального митотического деления клеток, воз-

никновения гиперкортицизма, нарушении метаболизма глюкозы крови. Хирургическое удаление опухоли способствует компенсаторному синтезу калликреинов желез, нормализующих системный кининогенез и восстанавливающих нарушенный биохимический гомеостаз [8].

Определение активности разных форм калликреина у детей, страдающих гнойно-септическими заболеваниями (ГСЗ) — осложненной деструктивной пневмонией, разлитым гнойным перитонитом, острым гематогенным остеомиелитом — доказывает, что состояние умеренно усиленного кининогенеза является благоприятным фактором течения заболевания, фаза ослабления кининогенеза составляет важное звено патогенеза поздних сроков развития ГСЗ. Недостаточность в кровотоке кининов поддерживает повышенное содержание фракций МСМ, являющихся эндогенными токсинами. Лазеротерапия, включенная в комплексное лечение, в 2-3 раза быстрее стимулирует ослабленную активность калликреина крови и этим усиливает защитно-регулирующую функцию ККСК, повышает эффективность лечения.

Учитывая уникальность биохимической структуры ККСК, представительство ее в тканях и железах, универсальность влияния на метаболизм всех видов обмена веществ, доказательства лечебной эффективности ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, являющегося одновременно кининазой-II), применяемых для лечения гипертензий различного генеза, сведения о деструктивном действии калликреина на апобелок В (входящий в состав атерогенных липопротеидов низкой и очень низкой плотности), в дальнейшем представляет интерес изучение участия ККСК и ее ключевого фермента калликреина в патогенезе атеросклеротических поражений сосудов головного мозга и сердца, с использованием показателей кининогенеза в качестве диагностических критериев разных стадий развития этой патологии. Важно также выявление роли ККСК в возникновении дисбаланса прессорной и депрессорной систем, сопровождающих гиперальдостеронизм и феохромоцитому.

Последние 15 лет научные исследования были посвящены разработке **нового научного направления в клинической эндокринологии** — изучению биотрансформации эндогенного кортизола у человека с патогенетической (оценка чувствительности организма к эндогенному кортизолу и к синтетическим глюкокортикостероидам-ГКС) и диагностической целями.

Как известно, в клинической практике последних 50 лет на основании исследования показателей, отражающих содержание кортизола в крови и моче, судят о секреции кортизола при различных заболеваниях, 30 лет интенсивно изучаются различные факторы, влияющие на отдельные звенья гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и моделирующие секрецию кортизола. Однако последние 10-15 лет научные достижения фокусируются на факторах, способных изменять чувствительность тканей к эндогенному и экзогенному кортизолу. Этот интерес обусловлен тем, что уже накоплен обширный клинический материал, свидетельствующий о вариативности ответа на глюкокортикоидную терапию: у одних пациентов отмечается высокая эффективность ее, тогда как у других — с этим же заболеванием — наблюдается отсутствие ожидаемого эффекта, то есть имеет место тканевая резистентность к ГКС. Основные направления, включающие исследования

пререцепторного и пострецепторного звеньев, привели к признанию большого значения метаболизма кортизола в изменении чувствительности к ГКС. Доказано, что снижение или увеличение чувствительности к эндогенному кортизолу зависит как от метаболизма кортизола, так и от функционального состояния отдельных звеньев гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что подробно обсуждается в обзоре B.R. Walker [12].

Учитывая, что при БИК и СИК нарушен один из важных механизмов, обеспечивающих у здоровых авторегуляцию кортизола в крови — «механизм обратной связи между содержанием АКТГ и кортизолом», нами 20 лет назад было сделано предположение об особой роли процессов необратимого удаления кортизола из организма, то есть о его метаболизме или биотрансформации. Этот процесс при заболеваниях человека практически не исследован до настоящего времени.

К 1980 г. было установлено, что метаболизм кортизола, также как и других липофильных соединений эндогенного (билирубин, холестерин, стероидные гормоны) и экзогенного (обширный круг фармакологических препаратов и др.) происхождения осуществляется, в основном, с помощью микросомальной или монооксигеназной гидроксилирующей системы печени.

Метаболические превращения большинства биологически активных соединений в печени протекают в три стадии. Первая — окисление, реакции которой катализируются изоэнзимами цитохрома Р-450. Глюкокортикостероиды (ГКС) регулируют уровень этого фермента в печени, что доказано адреналэктомией и влиянием дексаметазона в опытах с культурой гепатоцитов. Работами Mathis и соавт. (1986-1988) было показано, что ГКС осуществляют влияние на синтез цитохрома Р-450 в гепатоцитах человека на уровне транскрипции, влияя на связывание ГКС с глюкокортикоидным рецептором 2-го типа и активируя комплекс реакций, опосредованных первым гентроном гена человека [10].

В реакциях II стадии происходит конъюгация, сульфатация и ацетилирование метаболитов I стадии. Основными ферментами являются УДР-глюкуронилтрансфераза, глутатион-S-трансфераза, N- ацилтрансфераза, НАДФ-гуанин-оксиредуктаза. Синтез и активность этих ферментов регулируют ГКС посредством экспрессии соответствующих генов. Другим регулятором активности ферментов II стадии является Ah-рецептор, который структурно и функционально близок к глюкокортикоидному рецептору II типа [11]. Основной реакцией биотрансформации кортизола в печени является конъюгация с глюкуроновой и в меньшей степени с серной кислотами с образованием водорастворимых комплексов. Третья стадия представляет собой активный транспорт и экскрецию водорастворимых продуктов биотрансформации, в частности — кортизола. Примерно 90% кортизола экскретируется в виде глюкуронидов и 10% в виде сульфатов.

Таким образом, кортизол на монооксигеназную систему печени оказывают тройное влияние. Во-первых, он является эндогенным субстратом окисления, во-вторых, является индуктором, регулирующим активность ключевых ферментов этой системы, в-третьих, продукты его метаболизма оказывают влияние на функциональное состояние этой системы.

На популяционном уровне выявлено 3 фенотипа исходной, неиндуцированной активности ферментов монооксигеназной системы печени у человека: гомозиготы по рецессивному гену (медленные окислители и быстрые ацетиляторы), гомозиготы по доминантному гену (быстрые окислители и медленные ацетиляторы) и гетерозиготы (средние окислители и средние ацетиляторы), то есть происходит как бы адаптационная согласованность между стадиями биотрансформации эндогенных субстратов. Вместе с тем, у некоторых лиц оба процесса одновременно снижены. Можно предположить, что при аналогичном сочетании у отдельных индивидуумов адаптационные процессы будут снижены при стрессовых ситуациях, а назначение лекарственных препаратов может сопровождаться высоким риском интоксикации.

Кроме того, печень, являясь органом-мишенью для кортизола, регулирует синтез и активность большинства ферментов, в том числе ферментов глюконеогенеза. В клетках печени происходит конкуренция за НАДФН между монооксигеназными реакциями и другими НАДФН-потребляющими процессами (глюконеогенезом, синтезом жирных кислот и липидов). При высоких концентрациях субстратов микросомального окисления конкуренция заканчивается, как правило, в пользу монооксигеназных реакций. Поскольку НАДФН образуется в процессе пентозного пути обмена углеводов, при сахарном диабете также страдает обеспечение НАДФН процессов микросомального гидроксилирования. На этом основании можно было предположить, что у больных БИК, у которых имеет место стероидный диабет, процессы метаболизма кортизола должны быть снижены, по сравнению с больными без нарушения обмена углеводов.

К тому же, в печени, как и в других тканях-мишенях, происходят метаболические превращения биологически неактивного кортизона в активный кортизол с помощью специфического изофермента 11-бета-гидрооксистероид дегидрогеназы I типа. Этот процесс может нарушаться, идти в обратном направлении, а именно: под влиянием изофермента 11-бета-гидрооксистероид дегидрогеназы II типа из более биологически активного кортизола образуется инертный кортизон, и с этим связывают пониженную чувствительность к ГКС, в том числе и кортизолу. Об активности этих изоферментов судят на основании исследования масс-спектрометрическим методом содержания кортизола и кортизона в моче [12].

Методов, позволяющих определить биотрансформацию эндогенного кортизола у человека, в литературе мы не встречали. Поэтому в 1985-1990 гг. на основании математических расчетов между показателями концентрации кортизола в крови и показателями экскреции 17-ОКС (отражающих суммарную биотрансформацию ГКС) у здоровых разработан способ определения активности ферментных систем, метаболизирующих кортизол у человека [8]. Установлено, что у здоровых секреция кортизола и его метаболизм осуществляются синхронно. При БИК метаболизм кортизола нарушается. Выявлено 3 патогенетических варианта биотрансформации кортизола. У пациентов с легким течением заболевания, характеризующимся нарушением только суточного ритма секреции АКТГ и кортизола — регулируемая стадия, установлен гиперреактивный вариант метаболизма кортизола. У пациентов со среднетяжелым течением заболевания, характеризующимся нарушением не только суточного ритма секреции АКТГ и кор-

тизола, но и нарушением ответной реакции на малые дозы дексаметазона как со стороны тропных гормонов гипофиза, так и со стороны гормонов коркового слоя надпочечников, выявлен вариант адаптированного повышения активности процессов, ответственных за метаболизм кортизола. У больных с тяжелым и галопирующим течением БИК (у большинства из них на прием малых доз дексаметазона уровень тропных гормонов гипофиза не только не снижался, но у некоторых даже парадоксально повышался, у большинства был стероидный диабет) установлен гипореактивный вариант метаболизма кортизола, для которого характерно стойкое и значительное повышение уровня кортизола в крови при сравнительно менее резком повышении уровня экскреции 17-ОКС. Представляется, что выявленные различия в метаболизме кортизола могут определяться как популяционным фенотипом, так и разной адаптацией ферментов монооксигеназной системы печени метаболизировать кортизол в условиях длительной гиперкортизолемии. При ремиссии БИК этот процесс нормализовался у большинства больных. Следовательно, индукция ферментов, ответственных за их метаболизм, — обратимый процесс. После прекращения поступления избыточного количества кортизола в печень больного БИК активность ферментативного его превращения в монооксигеназной системе снижается. Результаты этих исследований явились предметом изобретения (№ 1702320, 1991 г.).

Одним из метаболитов кортизола является 6-бета-оксикортизол, который выделяется с мочой и составляет 2-6% от экскреции суммарных 17-ОКС. Вместе с тем, в литературе мы не встретили описания прямого метода определения экскреции конъюгированной фракции кортизола. С этой целью для оценки биотрансформации эндогенного кортизола у человека нами был разработан РИА-метод определения конъюгированной фракции кортизола в моче, за разработку которого получен патент на изобретение (№ 2121686, 1998 г.). В отличие от спектрофотометрического метода определения экскреции свободной фракции кортизола (5%) и суммарных 17-ОКС (95%) выявлены менее выраженные различия показателей соотношения между свободной и конъюгированной фракциями, в среднем 1:2 (см. табл.). По-видимому, это обусловлено высокой специфичностью РИА-метода, позволяющего определять только кортизол, а не его метаболиты (17, 21-диокси-20-кетостероиды), вступающие в реакцию с фенилгидразином при определении 17-ОКС.

У детей показатели экскреции фракций кортизола ниже и зависят от возраста и, возможно, от массы тела, до 12 лет не превышают нижнюю границу нормы взрослых. Выяснение половых и возрастных различий у здоровых детей будет предметом дальнейших исследований.

По сравнению со здоровыми уровень экскреции свободной фракции кортизола у большинства больных пубертатно-юношеским диспитуитаризмом — ПЮД (72 пациента) при прогрессировании БИК (28), СИК (14) и реже — при ожирении взрослых (ОВ) — 70 повышен, тогда как увеличение уровня экскреции конъюгированной фракции крайне редко встречается у больных ОВ, несколько реже, чем свободная фракция при ПЮД и БИК. У отдельных больных БИК и СИК установлено резкое повышение конъюгированной фракции, превышающей норму в 3-5 раз, что свидетельствует

Уровень экскреции в суточной моче фракций кортизола у здоровых взрослых

Фракции кортизола мочи	Уровень экскреции (среднее знач., нмоль/л)	Пределы колебаний
Свободный кортизол	$196 \pm 9,4$;	90-250 ;
Конъюгированный кортизол	$421 \pm 36,8$;	210-640 ;
Общий кортизол	$586 \pm 67,2$;	300-750 .

о стимуляции процессов микросомального гидроксилирования эндогенным кортизолом. Однако при тяжелом или длительном течении гиперкортицизма установлено менее выраженное повышение конъюгированной фракции по сравнению с уровнем кортизола крови или экскрецией его свободной фракции. Это может свидетельствовать о недостаточности возможностей организма метаболизировать кортизол в условиях длительно существующей гиперкортизолемии. При ремиссии больных, страдающих БИК, или после адреналэктомии больных СИК показатели экскреции как свободной, так и конъюгированной фракций чаще нормализуются. Рецидив БИК характеризуется вновь повышением экскреции конъюгированной фракции кортизола, однако у большинства больных это повышение было также менее выраженным по сравнению с показателями экскреции его свободной фракции. В этот период нельзя исключить влияния применения различных лекарственных препаратов в комплексной терапии БИК, воздействующих прямо или опосредованно на процессы микросомального гидроксилирования. Анализ сопоставления показателей кортизола крови, экскреции его свободной и конъюгированной фракций позволяет предположить, что снижение адаптационных процессов метаболизма кортизола сопровождается более высокими показателями содержания кортизола в крови и экскреции его свободной фракции. Это предположение получило подтверждение при обследовании группы здоровых и пациентов, страдающих бронхиальной астмой, до назначения ГКС. Установлена обратная корреляционная связь между содержанием кортизола в крови и показателями экскреции конъюгированной фракции, и той же направленности, но менее тесная связь между показателями экскреции свободной и конъюгированной фракциями. Эти исследования лишний раз убеждают, что уровень кортизола в крови периферических вен в конкретный промежуток времени — это интегральная величина, обусловленная функциональным состоянием коркового слоя обоих надпочечников, процессами его транспорта, метаболизма и гипоталамо-гипофизарной регуляции. Можно предположить, что рецидив БИК обусловлен не только повышением секреции ГКС корой надпочечников, но и снижением процессов микросомального гидроксилирования, особенно при длительном приеме лекарственных препаратов, влияющих на этот процесс. Дальнейшее исследования роли процес-

са микросомального метаболизма кортизола позволит наметить новые подходы при назначении комбинированной терапии больным, страдающим БИК, которые плохо переносят назначение тех или иных лекарственных препаратов.

С дифференциально-диагностической целью проведен сравнительный анализ результатов экскреции свободной и конъюгированной фракций кортизола в ответ на прием малых доз дексаметазона (0,5 мг дексаметазона в 6, 12, 18, 24 час. в течение 2 суток) у больных ПЮД, ОВ и БИК и здоровых. Установлено, что указанная доза дексаметазона снижает показатели экскреции обеих фракций кортизола на 50% и более процентов у здоровых, больных ПЮД, ОВ и менее резко при прогрессировании БИК и СИК. Не исключено, что при БИК и СИК может адаптационно увеличиваться превращение кортизола в кортизон.

В последние годы активно изучается клиническое значение определения экскреции фракций кортизола при вариантах надпочечниковой недостаточности и у больных, получающих ГКС при соматических заболеваниях, в том числе при бронхиальной астме. Установлено, что при первичной надпочечниковой недостаточности экскреция конъюгированной фракции кортизола — наиболее ранний диагностический тест по сравнению с исследованием уровня кортизола в утренние часы и суточной экскреции свободного кортизола у больных с латентной формой надпочечниковой недостаточности или с впервые выявленным заболеванием, а также при назначении заместительной терапии кортефом (гидрокортизоном) или других ГКС при лечении соматических заболеваний, в том числе бронхиальной астмы [7].

Таким образом, в лаборатории разработан новый РИА-метод определения конъюгированной фракции кортизола в моче. Результаты этих исследований нашли применение при диагностике заболеваний гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в оценке эффективности терапии в процессе ее проведения. Этот метод наиболее информативен при диагностике надпочечниковой недостаточности, особенно при латентно протекающей форме. С его помощью удастся индивидуализировать проведение терапии экзогенными ГКС как при надпочечниковой недостаточности, так и при соматических заболеваниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин А.П., Тишенина Р.С., Богатырев О.П., Белошицкий М.Е. Клинико-биохимические тесты в изучении отдаленных результатов лечения болезни Иценгко-Кушинга и кортикостеромы. /Пособие для врачей, 1999. — 35 с.
2. Калинин А.П., Тишенина Р.С., Богатырев О.П. и соавт. Клинико-биохимические тесты в изучении отдаленных результатов хирургического лечения первичного гиперальдостеронизма и феохромоцитомы. /Пособие для врачей, 2000. — 32 с.
3. Суrowикина М.С. Биологический способ определения активности калликрейна плазмы, его применение для диагностики и терапии в клинике внутренних болезней. /Метод. рекомендации. — М., 1979. — 20 с.
4. Суrowикина М.С., Давыдова И.В., Калинин А.П., Стамм М.В. Нарушения свертывающей системы крови и кининогенеза у больных сахарным диабетом и болезнью Иценко-Кушинга. /Информ. письмо. — М., 1996. — 20 с.
5. Суrowикина М.С., Стамм М.В., Суrowикин В.В. //Бюлл. экспер. биологии и медицины, 1997. — 1. — 111-114.

6. Суровикина М.С., Калинин А.П., Богатырев О.П., и соавт. Кининовая система крови при болезни Иценко-Кушинга и гормонально активных опухолях надпочечников. /Пособие для врачей, — М., 2000.- 20 с.
7. Тишенина Р.С., Ильченко В.А., Стоцкая Т.В., Валиулина Д.В. Функциональное состояние надпочечников, метаболизм кортизола при эндокринных и неэндокринных заболеваниях, в лечении которых используются синтетические глюкокортикоиды. /Учебное пособие. — М. — 1998. — 17 с.
8. Тишенина Р.С., Калинин А.П., Федорович Ю.Н. // Мед. Радиология. — 1985. — №7. — С.27-31.
9. Тишенина Р.С., Калинин А.П., Хзарджян В.Г., Мельникова Э.Н. //Пробл. эндокринолог. — 1988. — Т.34, №6. — С.32-38.
10. Mathis J. at al. //Arch. Biochem. Biophys. — 1986. — V. 244, N 2. — P. 650-661.
11. 11. Nerbert D.W., Gonzales F.L. //Ann. Rev. Biochem. — 1987. — V. 56. — P. 945-993
12. Walker B.K. // Curr. Opinion in Endocrinology and Diabetes. — 1998. — V.5, N 3. — P. 168-174.

МОРФОЛОГИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ — НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин

Условно организм можно разделить на две основные системы: клеточную и жидкостную. Все биохимические процессы, которые протекают в клеточной части организма, оказывают влияние на состав его жидкостной части. Биологические жидкости являются зеркалом метаболических процессов, протекающих в клетках. В свою очередь, биологические жидкости оказывают сильнейшее влияние на метаболизм в клетке. В настоящее время для исследования химических соединений, обеспечивающих такое влияние, используется, главным образом, аналитический подход. Это тысячи различных параметров, которые извлекаются из организма широким спектром диагностических методов. Клиническая диагностика перегружена фактическими данными. Врач не в состоянии не только глубоко проанализировать, но даже просто ознакомиться с теми результатами, которые ему может предоставить современная диагностика.

«Данные, — писал английский кибернетик С. Бир, — это злокачественная опухоль, новейшая разновидность загрязнения окружающей среды». Данные только тогда могут иметь ценность, когда они систематизированы или, что одно и то же, — структурированы. Отсюда одной из важнейших задач клинической лабораторной диагностики является не просто сбор различных данных, а прежде всего, — интеграция россыпи фактических данных в крупные информационные блоки с тем, чтобы предоставить врачу первично обработанные и систематизированные результаты лабораторных исследований.

Существует два подхода к решению этой задачи:

1. Извлечение из системы отдельных информационных элементов и последующий их сбор в интегральный информационный продукт путем использования компьютерных программ или только опыта врача. Так формируется **логическая** информация, которая не всегда соответствует фактическому состоянию и поведению исследуемого биологического объекта,