

№ 1
ФЕВРАЛЬ
2010

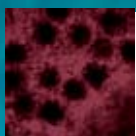
ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

ТЕМЫ НОМЕРА:



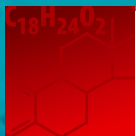
**НОВОЕ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ**



**ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ
ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ**



**БЕРЁМ МАТЕРИАЛ ДЛЯ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПРАВИЛЬНО**



**СОВРЕМЕННЫЕ
ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**



НАШ СПРАВОЧНИК

Содержание

Новое в лабораторной диагностике. Бактериальный вагиноз и бактерия *Atorobium Vaginae*: новые данные о возбудителях старого заболевания.....2

Проблемы диагностики вирусных гепатитов. Выявление ДНК вируса гепатита ТТV: мифы и реалии.....5

Берём материал для исследования правильно. Взятие отделяемого женских половых органов для микроскопических исследований.....8

Современные лабораторные технологии. Определение метаболитов эстрогенов в моче в диагностике заболеваний женской репродуктивной системы11

Наш справочник. Влияние лекарственных препаратов на результаты лабораторных анализов 3-я стр. обл.

Общение для взаимопонимания



Е. В. Селиванов, главный редактор, к. м. н., заместитель директора ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики» по лечебной работе

Уважаемые читатели, вы держите в руках первый номер нашего корпоративного издания.

Со многими из вас мы уже сотрудничаем давно и плодотворно, некоторые стали партнёрами нашей лаборатории недавно, а кто-то ещё только задумывается над этим. В процессе работы часто возникают различные вопросы и разногласия, не всегда информация по новым методикам доводится до вас оперативно. Чтобы наше общение стало более плодотворным, помогало пациентам и нашему бизнесу, мы решились на открытие дискуссионной площадки — журнала «Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики»». Мы планируем публиковать обзорные статьи о новых методах исследований, проблемах существующих технологий и особенностях взятия материала на исследование. Также найдут в журнале отражение и результаты наших анкетирований, другие актуальные вопросы и проблемы.

Пишите нам, мы ждём ваших писем, статей, предложений. Надеемся на плодотворное общение. Наш адрес: otvet@dnklab.com.

Сеть медицинских центров



Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики» — корпоративное издание ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики».

Наш адрес: г. Барнаул, ул. А. Петрова, 247Б. **Тел./факс:** 3852 289069. **E-mail:** otvet@dnklab.com. **Web:** www.dnklab.ru.

Главный редактор: Е. В. Селиванов. **Технический редактор:** Е. Н. Звягинцев. **Печать и допечатная подготовка:** типография Printexpress, г. Барнаул, ул. Кирова, 47, тел./факс 3852 363626.

Тираж: 500 экз.



БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВАГИНОЗ И БАКТЕРИЯ *ATOROVIVUM VAGINAE*: новые данные о возбудителях старого заболевания

Селиванов Е. В., Кубышкина Т. Ю.

В различной печати — от маленьких тезисов до толстых научных журналов — не раз обсуждалась проблема бактериального вагиноза. Казалось бы, всё уже известно, но почти каждый год изучение бактериального вагиноза (БВ) приносит всё новые и новые открытия, и до сих пор нет точного ответа на некоторые вопросы.

Почему происходят изменения в микрофлоре влагалища? Какой патоген является основным? Есть ли такой вообще? Какие микроорганизмы из всего спектра выявляемых при бактериальном вагинозе патогенетически (этиологически) значимы, а какие лишь сопровождают уже сложившиеся изменения?

Хотя сегодня наступает определённая ясность в понимании причин изменений в микрофлоре, ответы на все вопросы ещё не получены. Одна из причин — эстрогенная недостаточность, развивающаяся у женщин по тем или иным причинам. Поскольку при беседах с врачами оказывается, что далеко не все ещё осведомлены о лежащей в основе бактериального вагиноза эстрогенной недостаточности, несколько строк посвятим этой проблеме.

Влагалищная микрофлора строго индивидуальна, и может даже в нормальном состоянии подвергаться изменениям в различные фазы менструального цикла. Кроме того, понятие «нормы» может быть различным для разных возрастных или этнических групп.

Эпителий влагалища выполняет защитную функцию, обеспечивает его устойчивость к воздействию патогенных агентов. С одной стороны, это достигается местными иммунными факторами (секреторный иммуноглобулин А, фагоциты и т.п.), с другой — клетки эпителия, содержащие в большом количестве гликоген, слущиваются и подвергаются цитолизу, гликоген высвобождается, обеспечивая питательный субстрат для нормальной микрофлоры — лактобактерий. Гликоген также способствует регенерации тканей, является важным углеводным компонентом организма, принимающим участие в выработке иммунных тел. Количество гликогена в клетках вагинального эпителия колеблется у одной и той же женщины на протяжении жизни, и *напрямую зависит от продукции эстрогенов яичниками*. Недостаточность эстрогенов приводит к обеднению клеток гликогеном и подавлению роста нормальной микрофлоры.

Что же касается патогенов, то здесь всё не так однозначно. С одной стороны, микроорганизмы бактериального вагиноза многочисленны и в подавляющем большинстве являются анаэробами, культивировать которые классическими бактериологическими методами достаточно сложно. С другой стороны, разнообразие возбудителей слишком велико при практически одинаковой клинической картине.

Первым кандидатом в возбудители БВ была *Gardnerella vaginalis*, и по сей день остающаяся одной из вероятных причин БВ. Позже появились и другие подозреваемые:

- *Bacteroides*;
- *Peptostreptococcus*;
- *Atopobium vaginae*;
- *Prevotella*;
- *Porphyromonas*;
- *Veilonella*.

В одной из очередных попыток пролить свет на вопрос «кто при БВ всех главнее?» австралийские ученые в довольно убедительных исследованиях показали, что наличие *G. vaginalis* и *A. vaginae* является высокочувствительным признаком бактериального вагиноза — 96% и 99% соответственно. Однако *A. vaginae* оказался более специфичным (77%) микроорганизмом для бактериального вагиноза по сравнению с *G. vaginalis* (35%). У женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом в 100% случаев обнаруживалась *G. vaginalis*, а *A. vaginae* — в 75% случаев. *A. vaginae* достаточно редко определялась без *G. vaginalis*, а у тех пациенток, у которых обнаруживались оба микроорганизма, отмечалась более высокая частота рецидивов (83%) по сравнению с пациентками, инфицированными только *G. vaginalis* (38%, $p < 0,001$).

На основании полученных результатов авторы заключают, что инфекция, вызванная *A. vaginae*, является более специфичной для бактериального вагиноза, чем *G. vaginalis*. Более высокая частота рецидивов у женщин, у которых выделялись оба микроорганизма, свидетельствует о том, что *A. vaginae* вносит значимый вклад в развитие бактериального вагиноза.

Эти работы не остались незамеченными, в многочисленных исследованиях эти результаты были повторены и подтверждены, так что сегодня значимость *A. vaginae* при бактериальном вагинозе уже не вызывает сомнений. Гораздо более интересный для практики факт вскрылся позже, в исследовании других ученых.

Оказалось, что после лечения метронидазолом пациенток с ранее выявленным *A. vaginae* развивался рецидив БВ. Последующие исследования показали, что *A. vaginae* генетически устойчив к метронидазолу. А ведь именно метронидазол занимает ключевое место в лечении БВ. Это ставит факт выявления *A. vaginae* на совершенно другую ступень клинической значимости: одно дело просто выявить микроорганизм, характерный для БВ, другое дело, когда от результатов исследования зависит тактика медикаментозного лечения.

Учитывая высокую клиническую значимость выявления этого микроорганизма, наша лаборатория с 2010 года проводит выявление *A. vaginae* в клиническом материале.

Несколько слов о возбудителе

Атопобиум (*Atopobium vaginae*) принадлежит к семейству *Coriobacteriaceae* и представляет собой грамположительную анаэробную палочку, выделяющую при метаболизме различные органические кислоты (молочную, уксусную, муравьиную, масляную, которая и дает специфический запах при БВ). Впервые был описан в 1999 году Rodriguez и др., обнаружившими его в вагинальном тампоне, причем для выявления были применены молекулярно-биологические методы, а не классическая бактериология.

Важным фактором в понимании роли *A. vaginae* при БВ является его патогенность и для мужчин. В исследованиях показана возможность временного или стойко-

го носительства *A. vaginae* мужчинами, также описаны поражения наружных половых органов в виде хронического баланопостита, что важно в понимании возможности инфицирования *A. vaginae* половых партнеров.

К сожалению, *A. vaginae* не имеет специфических микроскопических признаков, как у *G. vaginalis* и *Mobiluncus spp.*, и выглядит под микроскопом как обычная грамположительная палочка, которые довольно часто встречаются у здоровых женщин. Также возникают трудности с его определением с помощью культурального исследования. Поэтому основным методом диагностики вагинального атопобиума является полимеразная цепная реакция.

Лечение состояний и заболеваний, связанных с *A. vaginae*, заключается в местном или в системном применении препаратов разных лекарственных групп, в зависимости от формы заболевания и некоторых других состояний и факторов.

Таким образом, по современным представлениям, роль *A. vaginae* в развитии и течении БВ такова:

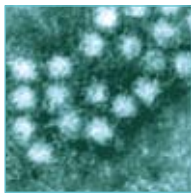
1. *A. vaginae* является патогенетически значимым микроорганизмом при БВ.
2. *A. vaginae* является причиной подавляющего случаев рецидивов БВ при адекватной эстроген-заместительной терапии.
3. *A. vaginae* устойчив к метронидазолу и требует применения антибиотиков или иных препаратов, подавляющих его рост.
4. *A. vaginae* патогенен и для мужчин, может вызывать баланопоститы; по-видимому, может передаваться половым партнёрам.

Наша лаборатория предлагает ряд клинических и молекулярно-биологических методик для диагностики бактериального вагиноза:

- Комплекс «Мазок гинекологический на степень чистоты», исследуется материал из трёх точек: уретры, влагалища, цервикального канала;
- выявление антител к гарднерелле IgG/IgA;
- выявление гарднереллы методом иммунофлуоресценции;
- ПЦР-выявление микроорганизмов: *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus curtisii*, *Bacteroides spp.*, лактобактерии количественно;
- Комплекс «ПЦР при бактериальном

вагинозе», включающий выявление *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides spp.*, *Mobiluncus curtisii*, биваров *Ureaplasma*, лактобактерии количественно;

- Комплексные ПЦР-методики группы Фемофлор: «Оценка нормальной микрофлоры влагалища», «Выявление условно-патогенной флоры влагалища», «Расширенный бактериологический профиль микрофлоры влагалища», включающие в себя, помимо обнаружения различных микроорганизмов, определение общей микробной обсеменённости и количество лактобактерий с расчётом относительного показателя нормобиоты.



ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК ВИРУСА ГЕПАТИТА TTV: мифы и реалии

Селиванов Е. В., Звягинцев Е. Н.

История вирусного гепатита TTV началась в 1997 году, когда японский ученый Т. Nishizawa опубликовал статью об открытии нового вируса у пациента с признаками гепатита (высокий уровень трансаминаз и клиника гепатита), но не имеющего маркеров каких-либо других гепатитов. Открытие было сделано исключительно благодаря внедрению молекулярно-биологических технологий, и в частности ПЦР. Исследователям удалось выделить ДНК вируса, находившегося в крови пациента в довольно высоких концентрациях — 10^5 копий/мл. Как образно выразился Н. J. Alter, комментируя успехи молекулярно-биологических исследований, в современной вирусологии «телега стоит впереди лошади»: ученым удалось выделить ДНК вируса, но сам вирус (как впрочем и ВИЧ и вирус гепатита С) культивировать до сих пор не удалось. И дальше с вновь открытым вирусом TTV возникало больше вопросов, чем ответов.

Начнем с самого простого — названия вируса. Авторы различных работ в этом вопросе делятся на два лагеря — одни утверждают, что название произошло от инициалов пациента, у которого был описан вирус — Т. Т., другие утверждают, что это аббревиатура выражений transfusion-transmitted virus и torque teno virus (TTV).

Как бы там ни было с названием, вирус описан и обнаруживается у людей современными методами. Установлено, что вирус гепатита TTV не имеет собственной оболочки и относится к так называемым безоболочечным вирусам

(к таким вирусам относится много известных вирусов — риновирус, вирус гепатита А, парвовирус В19 и др.), структура ДНК схожа с парвовирусом, содержит однонитевую спиральную круговую ДНК (около 3800 нуклеотидов), и, по-видимому, является членом нового семейства вирусов гепатита — Circinoviridae. Первоначально было описано 6 генотипов вируса и показано, что наиболее гепатотропными являются генотипы 1a и 2a. В последних сообщениях упоминается уже 29 генотипов вируса.

Поскольку первый описанный случай был связан с гепатитом, естественно, что всё внимание ученых было приковано к связи вируса TTV с гепатитами. И действительно, такая связь обнаружилась (табл. 1).

Более того, Н. Okamoto et al., 1998, измерили концентрацию ДНК вируса в крови и в биоптатах печени. Эта цифра оказалась равной или в ряде случаев в ткани печени ДНК вируса было больше.

Ученые пошли дальше. Если гепатит TTV является характерным парентеральным вирусом, то для него должны существовать и пути передачи, группы поражения и т. п., схожие с другими парентеральными гепатитами. Были изучены группы пациентов, наиболее часто поражающихся такими вирусами: больные гемофилией (частые переливания крови) и наркоманы с внутривенным путем введения наркотиков. Уровень инфицирования здесь сильно колебался: от 40 % у наркоманов до 68 % у гемофиликов.

Обращала на себя внимание и статистика сочетания с другими гепатитами.

Выявление ДНК вируса гепатита ТТV
у различных групп больных с поражением печени

Автор	Гепатит «ни А ни G»	Фульминант-ный гепатит	Цирроз печени	Гепатоцеллюлярная карцинома
H. Okamoto et al., 1998	46%	47%	48%	39%
N.V. Naoumov et al., 1998	25%	19%		
M. Charlton et al., 1998		27%	15%	
Учайкин, 2000	18,6%			

Наиболее часто (до 65,8%) гепатит ТТV сочетается с гепатитом С, причем чаще с острым, чем с хроническим. Важно, что в подавляющем числе наблюдений коинфекция вируса гепатита ТТV не изменяла течение гепатита С. *Таким образом, прогностического значения выявление ДНК ТТV при гепатите С не имеет.*

Но еще большее удивление, давшее повод к многочисленным сомнениям, вызвали исследования доноров крови. В зависимости исследователя цифры варьировали от 1-1,9% (по американским и английским данным) до 10-12% (по сообщениям английских и японских учёных). При попытке сопоставления данных выяснилось, что различные группы ученых использовали для ПЦР-теста различные праймеры, и часто сыворотка, положительная при реакции с одной группой праймеров, была отрицательной в другом тесте. Кроме того, обследование доноров, у которых выявлялся вирус ТТV в высоких концентрациях, не показало никаких отклонений от нормы, отсутствовали какие-либо признаки поражения печени. Был разработан метод определения антител к ТТV в реакции иммунопреципитации. Оказалось, что только 17-20% лиц, имеющих в крови ДНК ТТV, вырабатывают антитела к вирусу. В то же время 29% лиц, имеющих антитела, не имели ДНК вируса в крови.

ТТV является контагиозным вирусом. В эксперименте при введении в кровь шимпанзе зараженной крови удалось вызвать экспериментальный ТТV-гепатит. Первоначально вирус был

определен как гемотрансмиссивный, т. е. передающийся исключительно с кровью, однако выявление широкого бессимптомного носительства у здоровых людей, никогда не получавших трансфузий крови, и у детей поставило под сомнение исключительность парентерального пути передачи инфекции. Установлено, что вирус экскретируется с желчью, выделяется из желудочно-кишечного тракта и передается фекально-оральным путем. С другой стороны, относительно низкая встречаемость ТТV-инфекции в группах риска свидетельствует, что половой и инъекционный пути передачи не являются основными.

Гистологические и ультратонкие гистологические исследования показали, что в печени людей с моноинфекцией вирусом ТТV, имеются явные патологические изменения. Исследования показали, что пораженные клетки содержат частицы вируса ТТV.

Таким образом, с одной стороны, многочисленные проведенные исследования показывают причастность вируса ТТV к поражению печени, с другой стороны, этот вирус слишком часто выявляется у здоровых людей. По-видимому, «истина где-то рядом». Видимо, довольно неопасный сам по себе вирус ТТV в определенных условиях может выступать агрессивным патогенным или сверхпатогенным (при наличии некой «пусковой» инфекции). Чем не «условно-патогенный вирус»?

Теперь несколько слов о вопросе «надо или не надо определять определять

вирус гепатита TTV в клинической практике». Самое главное, что мы хотели бы донести до читателей, что в основе любой диагностики, в т. ч. и гепатита TTV, на первом месте должна стоять клиника. Нецелесообразно выполнять множество тестов у пациентов, не предъявляющих характерных жалоб. Одно дело — обследовать пациента с уже имеющимся гепатитом неясной этиологии, и другое — выявить вирус гепатита TTV у клинически здорового человека, не предъявляющего жалоб.

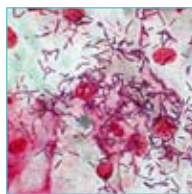
С одной стороны, диагноза «гепатит TTV» в современных классификациях и стандартах не существует, поэтому довольно спорно, правомерна ли постановка такого диагноза. Следовательно,

выявление или невыявление ДНК вируса гепатита TTV ничего не дает, поскольку лечить такого пациента всё равно нечем, да и права такого врач не имеет. Тактика ведения в данном случае будет как при гепатите неясной этиологии. С другой стороны, если есть гепатит, необходимо искать этиологическую причину, да и вирус TTV, безусловно, нужно отслеживать. Как знать, может быть, через пару-тройку лет его патогенез TTV-инфекции будет более изучен и она будет внесена в МКБ, тем более, что появился целый ряд исследований, демонстрирующих возможную этиологическую роль вируса TTV в возникновении поражений кроветворной системы — костного мозга и т. п.

Кратко подведем итоги:

1. Вирус гепатита TTV — недавно описанный вирус, преимущественно выявляющийся у пациентов с поражением печени.
2. Вирус гепатита TTV выявляется только методами ПЦР-диагностики. Показанием к назначению ПЦР-исследования является поражение печени неустановленной этиологии.
3. Вирус гепатита TTV часто выявляется у клинически здоровых людей. Однако нет исследований, подтверждающих, что носительство такого вируса в течение 10-15 лет безвредно для здоровья вирусоносителя, как нет данных, подтверждающих такую опасность.
4. В современной классификации болезней диагноз «вирусный гепатит TTV» отсутствует.
5. Вирус гепатита TTV часто сочетается с вирусами гепатита С и В, однако, по имеющимся на настоящий момент данным, существенного значения на течение этих гепатитов не оказывает.

Наша лаборатория выполняет выявление вируса гепатита TTV методом полимеразной цепной реакции.



ВЗЯТИЕ ОТДЕЛЯЕМОГО ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ ДЛЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Селиванов Е. В., Шикова Т. Е.

Из гнилых овощей вкусный борщ не сварить
Народная мудрость.

Как ни удивительно, но столь простая манипуляция, как взятие отделяемого из влагалища и шейки матки у женщин, вызывает со стороны лабораторий большое количество нареканий к врачам-клиницистам, как, впрочем, и наоборот. Поэтому мы сочли необходимым подробно остановиться на этой теме в серии статей в разных рубриках. В этой статье мы хотим повторить прописные истины — как правильно взять материал на предметное стекло для онкоцитологии и исследований на микрофлору урогенитального тракта.

Подготовка пациентки

Чтобы полученный результат удовлетворил врача и соответствовал клинике, необходимо соблюдать несколько немногочисленных, но строгих правил,

1. Берите мазки не ранее чем на 5 день менструального цикла, и не позднее 5 дней до начала месячных, т. е. с 5 по 22 дни цикла.
2. Необходимо предупредить пациентку, что взятие мазка не должно выполняться ранее 24 часов с момента полового сношения. Нередки случаи, когда препараты представляют собой сплошное поле сперматозоидов, что сильно затрудняет описание и смазывает цитологическую картину.
3. Берите мазки не ранее, чем через сутки после спринцевания, введения лечебных свечей, кремов и тампонов, в т. ч. геля для УЗИ. Некоторые авторы рекомендуют интервал 48-72 часа.
4. Чётко и разборчиво маркируйте мазки и точки, из которых берется материал. Нередки случаи, когда лаборатории приходится устанавливать по типу эпителия, из какого отдела урогенитального тракта взят мазок. Мы считаем это недопустимым.
5. Берите мазки **только до мануального обследования пациентки.**
6. Мазки из уретры берутся не ранее, чем через 3 часа после мочеиспускания. Предупредите пациентку, чтобы до взятия мазка она не мочилась.
7. Применение противомикробных средств должно быть прекращено за 5-7 дней до взятия материала.

Взятие материала

Проводится гинекологом из влагалища, канала шейки матки и уретры с помощью цитощетки, шпателью Эйра, ложечки Фолькмана, желобковатого зонда, ватного или дакронового тампона, петли.

Из влагалища

Материал для исследования следует брать до мануального исследования, после введения зеркала и подъемника из заднего свода влагалища или с патологически измененных участков слизистой оболочки. При обычном количестве выделений допускается (а многими и рекомендуется) взятие материала с боковой стенки влагалища. Однако эта рекомендация достаточно спорна, поэтому мы рекомендуем брать материал из заднего свода влагалища.

С шейки матки для общего мазка

Материал для исследования берут после обнажения шейки матки в зеркалах: тщательно обрабатывают влагалищную часть тампоном, смоченным изотоническим раствором хлорида натрия, после чего тонкий ватный тампон осторожно вводят в шейечный канал, не касаясь стенок влагалища во избежание контаминации влагалищной микрофлорой.

С шейки матки для онкоцитологии

Материал берется из двух отделов: с наружного зева (эктоцервикса) и цервикального канала (эндоцервикса) **без предварительной обработки шейки матки тампоном с физиологическим раствором**. Пользуются шпателем типа Эйра или любым другим, лучше специальной цитощеткой. Вращательными движениями при легком надавливании получают соскоб со всей поверхности шейки матки и цервикального канала одновременно. Шпателем или щеткой проводят по стеклу — получают две полосы: материал с шейки матки и цервикального канала. При наличии патологии шейки матки берут соскоб непосредственно с участка поражения. При лейкоплакии, эрозии, подозрении на рак необходимо приготовить не менее 2-3 мазков. В этих случаях удобнее брать мазок под контролем кольпоскопа.

Помните, нельзя намазывать материал толстым слоем — в микроскопе видны только тонкие мазки. Участки с сильным «намазыванием» исключаются из исследования, т.к. невозможно качественно определить, что за тип клеток в получившемся мазке. С другой стороны, не наносите мазок с усилием, в этом случае клетки разрушаются, и в препарате не обнаруживается ничего, кроме обломков клеток.

Из уретры

Область уретры протирают сухим стерильным тампоном. Уретру массируют со стороны влагалища, прижимая ее со стороны лобковой кости. Ложечку Фолькмана или желобковатый зонд вводят вглубь уретры на 1,5-2 см и легким поскобливанием передних и боковых стенок получают отделяемое.

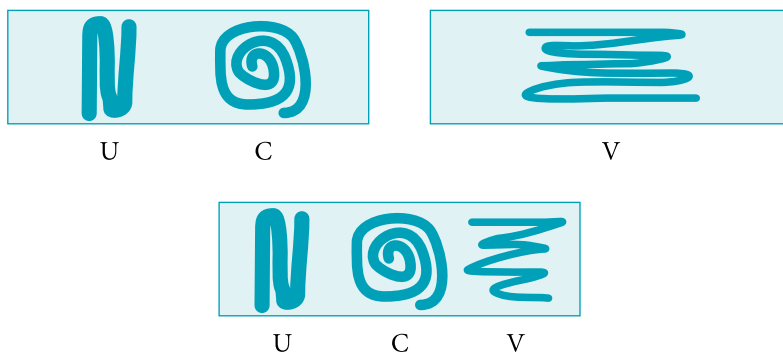
Приготовление мазков

Мазки готовят, равномерно распределяя материал на стекле мягкими движениями, избегая грубого втирания. Это позволяет клеткам располагаться слоями, не повреждает их и сохраняет истинное распределение и количественное соотношение компонентов исследуемого материала, позволяет наблюдать внутриклеточное расположение бактерий.

Предметные стекла должны быть чистыми, обезжиренными, без царапин. *Мазки наносятся только на одну сторону стекла.*

Материал из уретры распределяют на одной половине предметного стекла в виде поперечных(ой) полос(ы), а *из шейки матки* — в виде круга на второй половине стекла. Часть лабораторий требует делать два одинаковых мазка (один из них используется для окраски метиленовым синим, второй — для окраски по Граму). В нашей лаборато-

рии все мазки красятся по Граму, поэтому допускается наличие трех мазков от одной пациентки на 1 стекле. *Материал из влагалища* распределяют продольными штрихами на предметном стекле.



Образцы приготовления мазков. U — уретра, C — цервикальный канал, V — влагалище.

Для получения адекватных результатов выдерживайте технику нанесения мазков из различных отделов урогенитального тракта. Некоторые методики окраски (например для ПАП-теста (окраска по Папаниколау)) требуют фиксации препарата врачом, берущим материал, в 96° спирте в течение 3 минут.

После высушивания при комнатной температуре мазки могут транспортироваться в лабораторию. Перед транспортировкой стекла помещаются в отдельную емкость (контейнер или мешочек) и сопровождаются направлением

Возможные причины получения неполноценного материала и последующего отказа

1. Небрежность при выполнении различных ступеней приготовления мазка.
2. Шейка плохо выведена на зеркалах.
3. Не соблюдены условия получения материала (см. выше).
4. Недостаточное усилие при надавливании на слизистую оболочку при получении материала, как результат — отсутствие клеточного материала.
5. Материал из зоны трансформации и цервикального канала получен не со всей поверхности
6. Материал плохо распределен на мазке.
7. Слишком толстый или слишком тонкий мазок.
8. Мазки представлены преимущественно элементами крови или воспаления.
9. Загрязнение мазков спермицидными и антибактериальными кремами, смазкой с презервативов, гелем для УЗИ.
10. Мазки, взятые во время менструации, представленные большим числом клеток эндометрия, крови.
11. Разрушение (бой) стекол при транспортировке.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ЭСТРОГЕНОВ В МОЧЕ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Общеизвестно, что клетки ряда тканей репродуктивной системы женщин являются эстроген-чувствительными, т. е. их метаболизм и активность роста регулируется эстрадиолом.

Для того, чтобы в эстроген-чувствительных тканях поддерживалось постоянное деление клеток (пролиферативная клеточная активность), существуют специальные метаболические процессы, превращающие эстрадиол в биологически более активные его производные (метаболиты).

Основной пул эндогенного эстрогена разрушается в клетках печени благодаря системе цитохромов P-450, катализирующей образование его гидрокси-производных, что облегчает их растворимость и последующее выведение из организма с мочой или желчью.

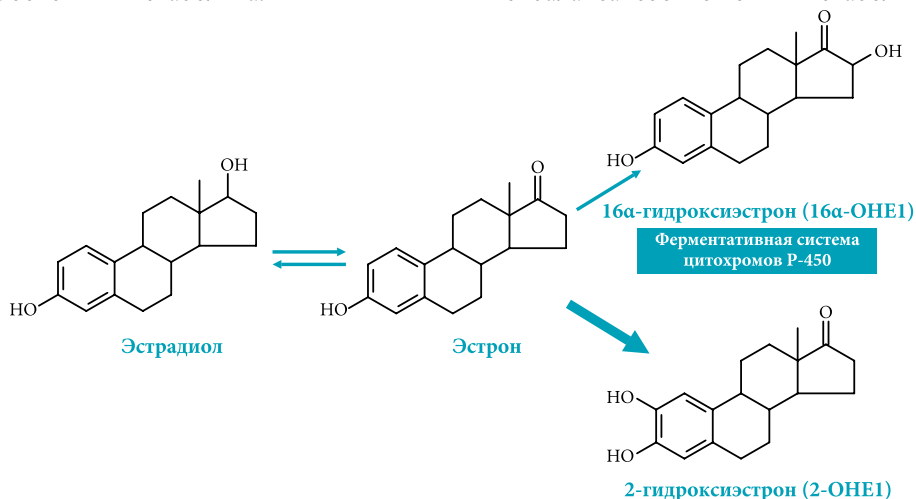
Эстрадиол дает на цитохромах P-450 два основных метаболита:

- 16α-гидроксиэстрон;
- 2-гидроксиэстрон.

16α-гидроксиэстрон (16α-OHE1) относится к категории «агрессивных» гормонов, вызывающих длительный канцерогенный эффект. Показано, что этот эффект обусловлен образованием прочных ковалентных связей 16α-гидроксиэстрона (16α-OHE1) с ядерными эстрогеновыми рецепторами. Обладает в 4 раза большей биологической активностью, чем свободные фракции эстрогенов.

2-гидроксиэстрон (2-OHE1) — метаболит, обладающий слабым эстрогеновым действием (примерно 48 % активности эстрадиола — основного эстрогена), и не оказывающий пролиферативного действия, а, напротив, нормализующий клеточный рост.

Доказано, что длительное нарушение баланса соотношения метаболитов



эстрогенов (2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1) в сторону повышения синтеза агрессивного метаболита 16α-ОНЕ1 является причиной развития дисплазии шейки матки, эндометриоза (аденомиоза), лейомиомы, фиброзно-кистозной болезни, а также фактором риска развития рака шейки матки и рака молочной железы.

Установленная коррелирующая связь между соотношением уровня метаболитов эстрогенов и патологической пролиферацией позволяет считать соотношение 2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1 менее двух биомаркером развития патологической клеточной пролиферации в эстроген-чувствительных тканях и надежным диагностическим критерием при определении риска и прогноза развития эстроген-зависимых опухолей

В то же время, при повышении уровня 2-ОНЕ1 наблюдается тенденция к гибели опухолевых клеток и профилактики их дальнейшего образования.

В настоящее время соотношение метаболитов эстрогенов 2-ОНЕ1 к 16α-ОНЕ1 можно считать одновременно и универсальным биомаркером, и надёжным диагностическим критерием при определении риска и прогноза развития эстроген-зависимых опухолей.

Показания к проведению исследования на концентрацию и соотношение метаболитов эстрадиола:

1. *Женщинам после 45 лет* (пременопауза и менопауза). В этот период организм при общем дефиците эстрогенов перестраивается на синтез метаболитов эстрадиола, обладающих более сильным действием. Одним из таких метаболитов является

16α-ОНЕ1, который способен действовать в очень низких концентрациях.

2. *Женщинам с гормональными нарушениями*. Гормональные нарушения оказывают влияние на риск и прогноз зависимых от эстрогенов состояний здоровья.

3. *Женщинам, принимающим гормональную терапию, включая эстрогензаместительную* — для оценки пути метаболизма эстрогенов.

4. *Женщинам, инфицированным ВПЧ*. 16α-ОНЕ1 играет важную роль в малигнизации пролиферативного процесса, приводя к развитию рака шейки матки. Вирус модифицирует клеточный метаболизм таким образом, что клетка приобретает способность превращать эстрадиол преимущественно в 16α-ОНЕ1, который является прямым активатором экспрессии гена E7, ответственного за опухолевую трансформацию клеток.

Сегодня имеется возможность фармакологического лечения сдвига метаболизма эстрадиола в сторону образования «неагрессивного» 2-ОНЕ1. Для этого используется препарат индинол, смещающий равновесие метаболитов эстрадиола в сторону преимущественного образования «неагрессивного» 2-ОНЕ1, и тем самым устраняющего метаболический фон развития заболевания.

Более подробную информацию можно найти в статье: **В. П. Сметник, В. Н. Коновалова. Метаболизм эстрогенов и рак молочной железы у женщин: диагностическая значимость определения гидроксид-метаболитов эстрогенов в моче. // Российский вестник акушера-гинеколога. 2006. Том 6. № 6. С. 17-22.**

Наша лаборатория изучает спрос со стороны клиницистов в отношении данного исследования. Свои мнения и пожелания о внедрении данной методики просим направлять на электронный адрес otvet@dnklab.com.

Исследуемый материал — суточная моча, обязательно точное измерение объема перед отправкой пробы в лабораторию.

Ввиду новизны методики реагенты выпускаются единственным производителем, стоимость их высока, поэтому цена исследования составит ориентировочно 1400 рублей.

Влияние лекарств на результаты лабораторных тестов

Лабораторный показатель	Повышение	Снижение
Гликозилированный гемоглобин	Салицилаты — аспирин, ПАСК Индопамин Пропранолол Гипотиазид	
АлАТ/АсАТ	Азитромицин и кларитромицин Аминогликозиды — гентамицин, тобрамицин и т. п. Пенициллины Клиндамицин Клотримазол Левамизол Фторхинолоны Каптоприл / капотен Нифедипин / верапамил Омепразол Бромкриптин Этакриновая кислота / триметоприм	
Альбумин	Прогестерон	Эстрогены Ибупрофен Оральные контрацептивы Преднизолон Изониазид
Глюкоза	Бета-адреномиметики Кофеин Кортикостероиды Диуретики Допамин Эстрогены Оральные контрацептивы Индометацин Никотиновая кислота Фенотиазины	Бета-адреноблокаторы Антигистаминные препараты Каптоприл Этанол Ингибиторы MAO Верошпирон
Железо	Оральные контрацептивы Хлорамфеникол Этанол	Аллопуринол Аспирин Анаболические стероиды Дефероксамин (десферал) Любые комплексообразователи (цитрат, ЭДТА, тиосульфат и т. п.)



С ДНЁМ ЗАЩИТНИКА ОТЕЧЕСТВА!

Уважаемые читатели и читательницы нашего журнала! Все мы, медицинские работники, являемся военнообязанными, поэтому разрешите от всей души поздравить Вас с наступающим праздником — Днем защитника Отечества, и пожелать мирного чистого неба. Пусть наши врачебные навыки никогда не понадобятся нам на полях войны. Здоровья, счастья Вам и Вашим семьям!



Сеть медицинских центров

