

№ 4 (13)
ДЕКАБРЬ
2011

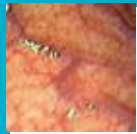
ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

ТЕМЫ НОМЕРА:



**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
РАЗВИТИЯ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ**



**ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ АТРОФИИ
СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА**



**ПРАВИЛА ПОЛУЧЕНИЯ
МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЦИТОЛОГИИ**



**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА
ЛАКТАЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Содержание

Клиническая лекция. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые знания — новые возможности 1

Новое в лабораторной диагностике. Лабораторные маркеры атрофии слизистой оболочки желудка 17

Берем пробы правильно: правила получения материала для цитологии 21

Лабораторная диагностика в гастроэнтерологии. Лабораторная диагностика лактазной недостаточности..... 26



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

Уважаемые читатели!

Уже второй год подряд мы имеем возможность поздравить вас с наступающим Новым годом со страниц нашего журнала.

Надеемся, что за эти 2 года вы привыкли получать наш журнал и находить в нем для себя что-то новое и полезное. В наступающем 2012 году мы планируем продолжить практику ежеквартальных выпусков журнала, сделать их актуальными и интересными. Ближайший выпуск I квартала 2012 года мы планируем сделать тематическим: он будет посвящен заболеваниям, передающимся с укусами клещей.

В канун 2012 года мы хотели бы пожелать нашим читателям здоровья, успехов, уверенности. И пусть никакие предсказания мировых катаклизмов из ацтекских календарей вас не пугают — Сибирь спокойно переживет любые невзгоды. Спасибо, что в прошедшем 2011 году были с нами!

Итак, с наступающим 2012 годом — годом черного водяного дракона по восточному стилю!

Сеть медицинских центров

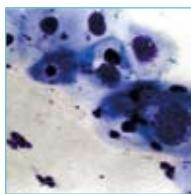


Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики» — корпоративное издание ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики».

Наш адрес: г. Барнаул, ул. А. Петрова, 247. **Тел./факс:** 3852 289060. **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: 800 экз.



МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ: НОВЫЕ ЗНАНИЯ — НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Киселев В. И., Муйжнек Е. Л.

Дисплазии шейки матки, или цервикальные интраэпителиальные неоплазии (CIN), являются самой частой формой морфологического предрака шейки матки. Дисплазия шейки матки (ДШМ) — это атипия эпителия шейки матки с нарушением «слоистости», но без вовлечения в процесс поверхностного слоя и стромы. Для эпителиальных дисплазий характерно нарушение созревания и дифференцировки клеток плоского многослойного эпителия, покрывающего шейку матки. Выделяют три основные формы дисплазий: простую, или легкую (CIN I), среднюю (CIN II) и тяжелую (CIN III).

В группу риска по ДШМ входят женщины, отмечающие в анамнезе:

- 1) раннее начало половой жизни (до 16 лет) — в этом возрасте многослойный эпителий истончен и легко раним, что может привести к ранней травматизации и развитию патологического процесса;
- 2) частую смену сексуальных партнеров;
- 3) воспалительные и венерические заболевания;
- 4) травматизацию во время абортов, родов, выскабливаний;
- 5) пристрастие к курению;

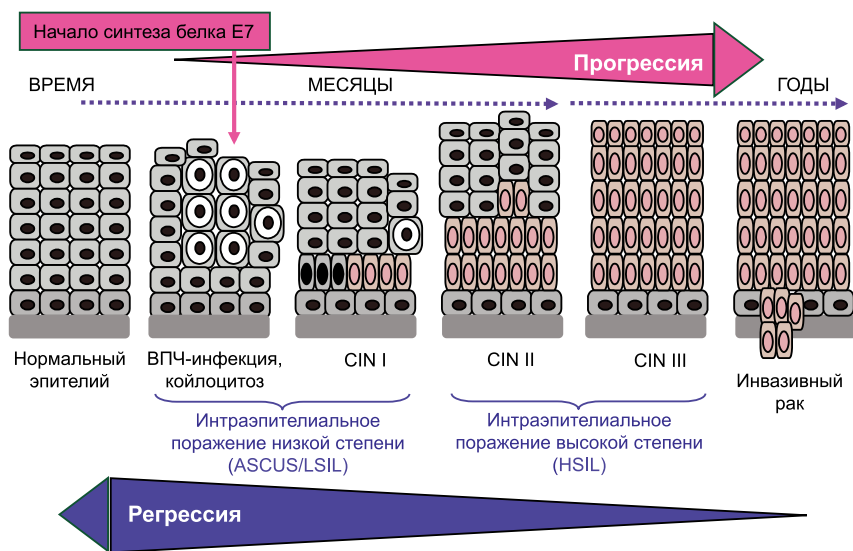


Рис. 1. Прогрессия цервикальных интраэпителиальных поражений

б) наличие хронических инфекционных и вирусных (в частности, вируса герпеса второго типа) заболеваний генитального тракта.

К патогенетическим факторам ДШМ относят наличие воспалительных процессов, нарушение баланса половых гормонов и перенесенные травмы шейки матки.

Однако главным фактором патогенеза ДШМ считается инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ). ДНК ВПЧ высокой степени онкогенного риска (преимущественно 16 и 18 типов) обна-

ного риска (при нормальной цитологии) в течение двух лет развивается сквамозная интраэпителиальная неоплазия.

Переход ДШМ в онкологический процесс занимает годы и даже десятилетия. Поэтому своевременное выявление и устранение ДШМ является основным способом профилактики ее грозных осложнений.

Несмотря на огромное разнообразие клинических форм проявления папилломавирусной инфекции, различают два основных варианта, или две стадии, ее развития:

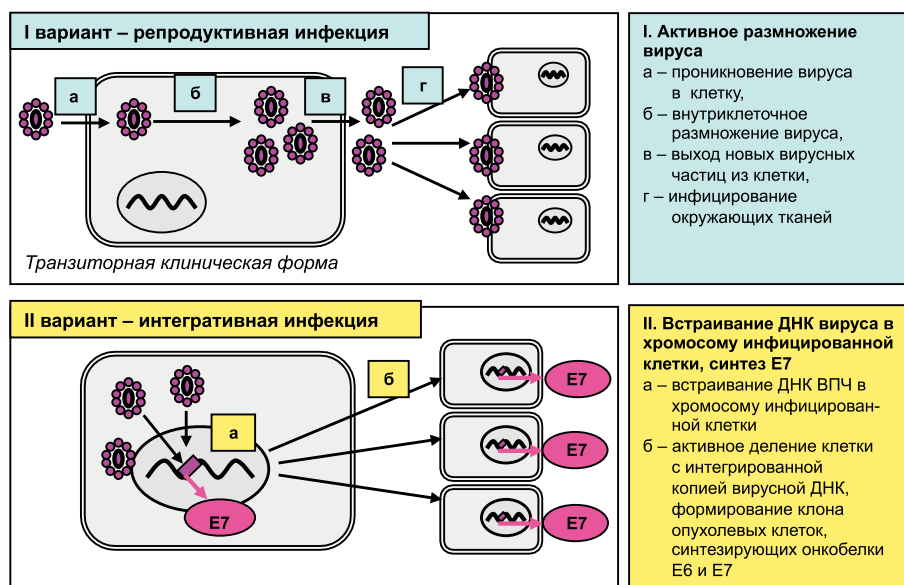


Рис. 2. Два варианта развития папилломавирусной инфекции

руживают в 50-80% образцов умеренной и тяжелой дисплазии плоского эпителия шейки матки (цервикальных интраэпителиальных поражений высокой степени) [18].

Носительство ВПЧ не является пожизненным. По данным ВОЗ (2001), при отсутствии отягощающих факторов в течение трех лет плоскоклеточные внутриэпителиальные поражения низкой степени тяжести, содержащие ВПЧ, подвергаются регрессии в 50-60% наблюдений. В то же время у 15-28% женщин с наличием ДНК ВПЧ высокого онкоген-

I стадия — репродуктивной инфекции, при которой ДНК ВПЧ находится в инфицированной клетке в свободном (эписомальном) состоянии;

II стадия — интегративной инфекции, при которой ДНК вируса встраивается в геном инфицированных клеток, утрачивая таким образом свою индивидуальность.

I стадия является обратимой. При ее благополучном исходе у многих ВПЧ-инфицированных наступает ремиссия. В отличие от нее II стадия является первым шагом к опухолевому перерождению ви-

рус-инфицированной клетки и очень часто заканчивается развитием цервикальной карциномы.

Примечательно, что в случае, если у больного с остроконечными кондиломами (доброкачественными образованиями) в ходе лабораторных анализов определяется ВПЧ 16 типа (ВПЧ высокого онкогенного риска), его ДНК в вирус-инфицированных клетках находится в эписомальной форме, в то время как в образцах цервикального рака вирусная ДНК оказывается интегрированной в клеточный геном.

В результате включения вирусной ДНК в геном клетки-хозяина происходят глобальные изменения клеточного метаболизма, основным из которых является частичная потеря вирусного генетического материала, но с обязательным сохранением онкогенов Е6 и Е7 и их последующей гиперэкспрессией.

На стадии активной репродукции вируса экспрессия онкогенов Е6 и Е7 регулируется белковым продуктом гена Е2 — репрессором их транскрипции. Поэтому пока вирус находится в клетке в эписомальном состоянии, протекают доброкачественные процессы разрастания инфицированных тканей. Интеграция вируса в геном хозяина сопровождается делецией гена Е2.

Повышенная продукция вирусных онкогенов Е6 и Е7 через модуляцию активности широкого спектра внутриклеточных сигнальных белков приводит к активации патологической пролиферации (и, соответственно, снижению апоптоза), усилению клеточного деления, неоангиогенеза и инвазии, т.е. основных биологических событий, опосредующих канцерогенез. Плюс к этому, индуцируются процессы хромосомной нестабильности (нарушения геномной целостности). В ДНК хозяина возникают генетические мутации и эпигенетические модификации (аномальное метилирование — см. ниже), результатом которых является усиленная опухолевая трансформация

вирус-инфицированных клеток. С течением времени в результате последовательной селекции клеточных клонов, содержащих интегрированную вирусную ДНК и обладающих повышенной малигнизующей активностью, формируется злокачественная опухоль.

Таким образом, экспрессия онкогенов Е6 и Е7 вирус-инфицированными эпителиальными клетками шейки матки — это фактически инициация их опухолевой трансформации.

Функции онкобелков Е6 и Е7

Довольно хорошо изучены молекулярные механизмы, посредством которых онкобелки Е6 и Е7 реализуют свою малигнизующую активность.

Во-первых, вирусные онкобелки Е6 и Е7 отрицательно влияют на ход клеточного цикла, индуцируя переход дифференцированных вирус-инфицированных клеток в S-фазу клеточного цикла (в нормальных условиях, т.е. в отсутствие инфицирующего агента, такие клетки должны неминуемо подвергнуться апоптотической гибели). Контроль за ходом клеточного цикла и дифференцировкой осуществляется белками Е6 и Е7 посредством их взаимодействия и последующей инактивации таких ключевых регуляторов пролиферации как опухоль-супрессорный белок р53 и белок ретинобластомы рRB.

Вторым ключевым «проканцерогенным» свойством ВПЧ-онкобелков Е6 и Е7 является их выраженное иммуносупрессивное действие, в результате которого вирус-инфицированные клетки «ускользают» от иммунологического надзора хозяина и не подвергаются элиминации.

Третьим важным «проканцерогенным» свойством экспрессируемых вирус-инфицированными клетками онкобелков Е6 и Е7 является их способность сообщать этим клеткам генетическую нестабильность. Подобная генетическая нестабильность является результатом

присущей данным онкобелкам мутагенной активности. Возникающие мутации и аномальные эпигенетические модификации приводят к изменению уровня экспрессии соответствующих регуляторных белков — участников туморогенных сигнальных каскадов, а также к снижению активности ДНК-репаративных внутриклеточных систем.

Итак, вирусные онкобелки являются ключевыми факторами развития патологических пролиферативных процессов в ВПЧ-инфицированных клетках.

Их постоянный синтез необходим для поддержания опухолевого фенотипа инфицированных клеток, а их ингибирование приводит к регрессии ВПЧ-обусловленного заболевания.

В опытах *in vivo* на трансгенных мышках показано, что продолжительная экспрессия онкогена E7 ВПЧ 16 типа лежит в основе развития персистирующих CIN высокой степени и цервикального рака, а подавление экспрессии E7 приводит к полной регрессии таких цервикальных дисплазий [12].

Согласно современным представлениям, онкобелок E7, экспрессирующийся высокоонкогенными типами ВПЧ, считается общепризнанным специфическим опухолевым маркером (маркером неопластических процессов) в тканях шейки матки. Его повышенная экспрессия, определяемая иммуногистохимическими методами, регистрируется практически во всех (98,3%) биопсийных образцах рака шейки матки [22], в то время как в нормальных эпителиальных клетках цервикальной зоны онкобелок E7 не синтезируется. Примечательно, что у пациенток с папилломавирусной инфекцией отмечается выраженный скачок экспрессии онкобелка E7 (определяемого в мазке из цервикального канала) при переходе от стадии интраэпителиальной неоплазии низкой степени к интраэпителиальной неоплазии высокой степени [11].

Диагностика РШМ

Общепризнано, что диагностика заболеваний на ранних стадиях позволяет существенно снизить смертность от рака шейки матки (РШМ). Снижение смертности наблюдается в странах с хорошо налаженной системой диагностики. Однако наряду со снижением смертности от РШМ ежегодно регистрируется все большее количество заболевших этим видом рака [13], что говорит о необходимости дальнейшего усовершенствования методов его диагностики.

Долгое время основным методом определения дисплазии эпителия шейки матки оставался цитологический метод, предложенный Папаниколау [19]. Данный метод плохо поддавался стандартизации и в результате давал большой процент ложноотрицательных реакций: 30% дисплазий оставались невыявленными [21]. Впоследствии появились более совершенные, молекулярные, методы диагностики, в частности метод ПЦР (полимеразной цепной реакции). Однако есть мнение, что методы, детектирующие в пробах вирусную ДНК, в частности ПЦР, не позволяют достоверно выявлять лиц с повышенным риском развития РШМ, т.к. обнаруживают ДНК ВПЧ в большом количестве цитологически нормальных проб [26]. Это объясняется тем, что 50-90% (по разным данным) сексуально активного населения были инфицированы тем или иным типом ВПЧ в какой-либо период своей жизни, а 30% женского населения являются постоянными носителями ВПЧ [27]. Как мы отмечали выше, инфицирование ВПЧ в 80% случаев заканчивается спонтанной элиминацией и не сопровождается встраиванием вирусной ДНК в геном человека, в то время как для развития злокачественного процесса встраивание генома ВПЧ является необходимым условием [28].

Показано, что у большинства носителей ВПЧ никаких видоизменений в цервикальном канале не происходит, для развития неоплазий необходимо встра-

ивание вирусной ДНК в геном эпителиальной клетки, что сопровождается усилением экспрессии ранних вирусных онкобелков Е6 и Е7 [17]. Установлено, что в линиях клеток со встроенной ДНК ВПЧ в большей степени содержится онкобелок Е7 [24]. Продолжительная усиленная продукция этих белков часто сопутствует переходу дисплазии в инвазивный цервикальный рак. Определение содержания этих белков в цервикальных пробах поможет оценить риск заболеваемости РШМ и избежать ложноположительных результатов, обусловленных кратковременным и/или прошлым присутствием ВПЧ в организме человека.

Новый метод диагностики РШМ

В связи со всем вышеизложенным была разработана диагностическая система для определения онкобелков Е7 вируса папилломы человека 16 и 18 типов в цервикальных пробах методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

В настоящее время метод ИФА завоевал большую популярность во многих клинических лабораториях мира благодаря хорошей воспроизводимости, низкой стоимости, быстрой исполнению, чувствительности и универсальности. Многие инфекции, сывороточные белки и рецепторы определяются сейчас рутинно именно с помощью этого метода. Большинство лабораторий имеют необходимый инструментарий и обученный персонал для его использования. Наиболее часто используется вариант «сэндвич» ИФА, для которого необходима пара антител, способная связывать искомым агент одновременно, не мешая друг другу. При этом первое антитело, сорбированное на дно лунок иммунологического планшета, избирательно связывает нужный белок или инфекционный агент из анализируемого раствора. Детектировать наличие такого связывания можно при помощи второго антитела, конъюгированного с ферментной меткой.



Изделие медицинского назначения

**«Е7-ВПЧ-16/18 - ДИАГНОСТ»
НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ
ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ВЫЯВЛЕНИЯ ОНКОБЕЛКА Е7
ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА
16 И 18 ТИПОВ!**



Рис. 3. Регистрационное удостоверение тест-системы для иммуноферментного выявления онкобелка Е7 ВПЧ 16 и 18 типов

Исследование цервикальных образцов с помощью разработанной тест-системы «Е7-ВПЧ-16/18-Диагност» основано на одностадийном иммуоферментном «сэндвич»-методе. В состав реагентов данного набора входят высокоаффинные антитела, полученные в результате иммунизации рекомбинантными белками Е7 ВПЧ 16 и 18 типов, узнающие, по данным иммуноблоттинга, соответствующие белки Е7. (Полученные антитела против Е7 ВПЧ 16 и 18 типов не связывают белки Е7 ВПЧ 6 и 11 типов низкого онкогенного риска.) Разработанная диагностическая тест-система позволяет детектировать рекомбинантные белки Е7 ВПЧ 16 и 18 типов с чувствительностью порядка 1 нг/мл по каждому из белков.

Предварительные исследования по оценке эффективности использования указанной тест-системы показали, что выявление онкобелка Е7 ВПЧ 16 и 18 типов в цервикальных пробах женщин с вероятностью до 70% свидетельствует о развитии неопластических процессов в шейке матки и может быть неоценимым компонентом в комплексе скрининговых мероприятий при обследовании женщин с цервикальной патологией [1].

Таким образом, в идеале, у всех пациенток с фоновыми заболеваниями шейки матки должно быть проведено не только исследование Pap-мазков, но и определение онкобелка Е7 ВПЧ 16 и 18 типов в цервикальном материале.

Выявление в цервикальных пробах с помощью указанной тест-системы онкобелка Е7 позволяет практикующему врачу существенно повысить достоверность при постановке диагноза ВПЧ-зависимых неопластических образований шейки матки.

Изучение показателей Е7 в цервикальном материале служит критерием в оценке характера (степени злокачественности) патологического процесса шейки матки. Обнаруженный онкобелок Е7 ВПЧ 16 и 18 типов означает, что на субклеточном уровне уже запущены

процессы клеточной трансформации (малигнизации). Это подразумевает более активную лечебно-диагностическую тактику со стороны врача в отношении данной больной.

Влияние эстрогенов на развитие РШМ

Мы рассмотрели ключевой механизм патогенеза ДШМ, обусловленный инфицированием цервикальных тканей ВПЧ, интеграцией ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска в геном клетки хозяина и последующей гиперэкспрессией вирусных онкогенных белков Е6 и Е7. Однако, помимо вирусных онкобелков Е6 и Е7, важнейшее влияние на развитие ВПЧ-обусловленных канцерогенных процессов шейки матки оказывает гормональный, точнее, эстроген-зависимый фактор.

Известно, что основной пул эндогенного эстрогена утилизируется посредством локализованной в печени монооксигеназной системы цитохромов Р-450, катализирующей образование его гидрокси-производных, что облегчает их растворимость и последующее выведение из организма через почки и желчевыводящие пути. Ферментативная система цитохромов Р-450 обеспечивает конверсию эстрадиола в два основных метаболита: 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1) и 2-гидроксиэстрон (2-ОНЕ1).

16 α -ОНЕ1 относится к категории «агрессивных» гормонов, вызывающих длительный канцерогенный эффект [23]. Показано, что этот эффект обусловлен образованием прочных ковалентных связей 16 α -ОНЕ1 с ядерными эстрогеновыми рецепторами [25]. 2-ОНЕ1 обладает умеренными эстрогенными функциями и, в отличие от 16 α -ОНЕ1, напротив, нормализует клеточный рост. При повышении уровня 2-ОНЕ1 наблюдается тенденция к гибели опухолевых клеток (in vitro) и профилактике их дальнейшего образования (in vivo).

Изучение функций этих двух метаболитов позволило выявить однознач-

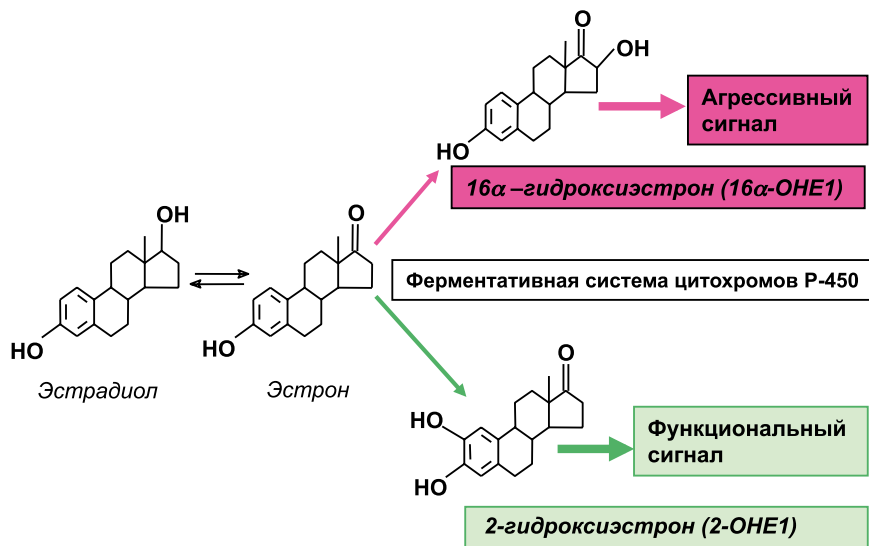


Рис. 4. Метаболизм эстрадиола

ную связь между уровнем 16α-OHE1 и риском развития опухолей в эстроген-зависимых тканях и заключить, что соотношение 2-OHE1 к 16α-OHE1 является одновременно универсальным биомаркером и надежным диагностическим критерием при определении риска и прогноза развития эстроген-зависимых опухолей.

Было замечено, что тканевые изменения в цервикальном канале, вызванные ВПЧ, локализованы главным образом в эстроген-чувствительных зонах. Впоследствии была установлена ключевая роль в цервикальном канцерогенезе эстрогеновых рецепторов α (ERα) [8]. В начале 90-х гг. группе ученых из лаборатории Н.Л. Bradlow [3] на клеточной модели кератиноцитов генитального тракта человека, инфицированных ВПЧ-16, удалось показать, что активная репродукция ВПЧ способна индуцировать образование в вирус-инфицированных клетках агрессивного метаболита 16α-гидроксиэстрона (16α-OHE1).

Вирус-инфицированные клетки приобретали способность образовывать колонии на мягком агаре, что указывало на их повышенную пролиферативную активность. При этом клеточная культура, содержащая вирус, обеспечивала конвер-

% 16α-гидроксилирования на 100 мкг белка

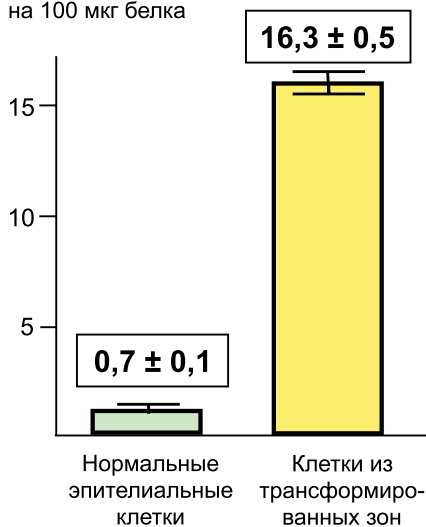


Рис. 5. Уровень конверсии эстрадиола в 16α-гидроксиэстрон в эпителиальных клетках шейки матки

сию эстрадиола в 16α-гидроксиэстрон. Несмотря на высокую пролиферативную активность, при микроскопическом исследовании данные клетки не имели опухолевого фенотипа. Однако добавление в культуральную среду экзогенного 16α-OHE1 превращало их в типично раковые. В то же время нормальные эпителиальные клетки шейки матки были не способ-

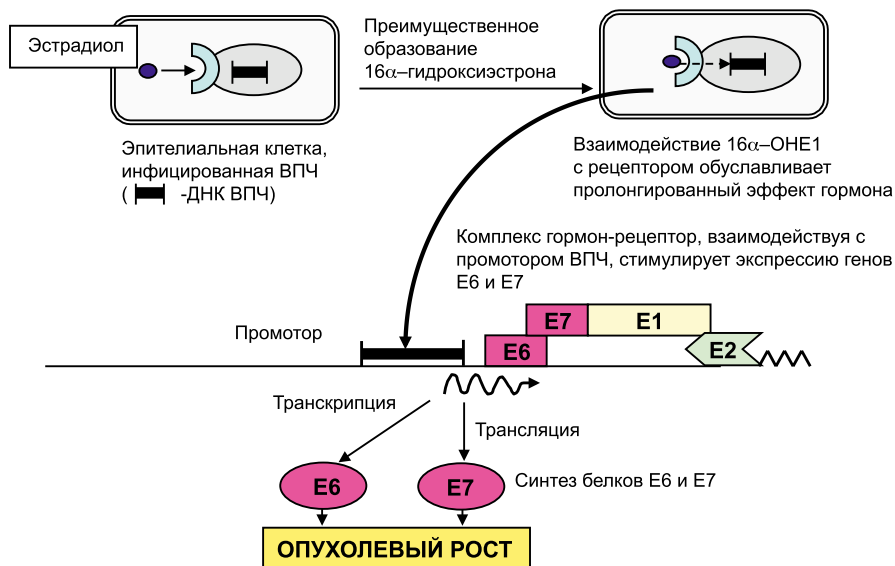


Рис. 6. Роль эстрогенов в канцерогенезе эпителиальных клеток шейки матки, инфицированных ВПЧ

ны обеспечивать превращение эстрадиола в 16α-гидроксиэстрон. Следовательно, активная репродукция ВПЧ в инфицированных клетках индуцирует образование «агрессивного» эстрогена — 16α-гидроксиэстрогена.

Таким образом, формируется порочный круг, при котором вирус через образование «агрессивной» формы эстрогенов создает благоприятные условия для развития опухоли, стимулируя синтез онкобелка E7. В свою очередь, онкобелок E7, с одной стороны, активирует механизмы патологической пролиферации клеток, а с другой — блокирует противовирусную иммунологическую защиту.

Суммируя вышесказанное, можно заключить, что инфицирование эпителиальных клеток ВПЧ является необходимым, но недостаточным фактором для их малигнизации.

Для формирования необратимой неоплазии необходимы:

- 1) индукция метаболических механизмов конверсии эстрадиола в 16α-ОНЕ1, играющего ключевую роль в раковом перерождении ВПЧ-инфицированных клеток;
- 2) активная экспрессия онкогенов E6

и E7 вируса, стимулируемая взаимодействием комплекса гормон-рецептор с промотором ДНК ВПЧ;

- 3) индукция множественных повреждений хромосомной ДНК в инфицированной клетке, завершающая процесс опухолевой трансформации.

Новые подходы к лечению дисплазий шейки матки

В связи с появлением вирусной концепции цервикального канцерогенеза принципиально изменились и подходы к лечению диспластических процессов шейки матки. В настоящее время хирургические методы (по причине высокого процента рецидивов после их применения) стали играть второстепенную роль.

На первое место вышла этиопатогенетическая терапия, имеющая два основных направления:

- 1) воздействие на этиологический фактор — ВПЧ;
- 2) блокирование основных механизмов канцерогенеза.

К сожалению, лекарственных средств, избирательно воздействующих на ВПЧ, в настоящее время не существует.

ует. Наиболее часто для лечения папилломавирусной инфекции используются препараты интерферона (IFN) — белка, вырабатываемого клетками иммунной системы в ответ на стимуляцию вирусными антигенами. Однако в большинстве случаев даже длительная IFN-терапия не приводит к клиническому улучшению. Показано, что устойчивость к действию IFN ВПЧ-инфицированных цервикальных клеток определяется повышенным уровнем экспрессии онкобелка E7, внутриклеточно инактивирующего фактор регуляции IFN, который включает транскрипцию генов, кодирующих синтез противовирусных белков.

На протяжении многих лет ведутся поиски природных и синтетических противоопухолевых соединений, способных остановить развитие предраковых состояний шейки матки. Наконец эти поиски увенчались успехом. **Было идентифицировано химическое соединение с антиканцерогенными свойствами — индол-3-карбинол (I3C)**, фитонутриент, содержащийся в овощах семейства крестоцветных. Многочисленные данные литературы указывают на то, что длительный прием этого соединения предупреждает развитие опухолей кишечника, легких, органов женской репродуктивной системы [5].

I3C усиливает противоопухолевый эффект многих лекарственных препаратов, снижает мутагенную активность канцерогенов.

Большая часть исследований, посвященных I3C, касается его противоопухолевой активности в т.н. эстроген-зависимых органах и тканях (молочные железы, эндометрий и шейка матки), для которых характерно циклическое изменение уровня клеточной пролиферативной активности.

Рак шейки матки (РШМ), ассоциированный с ВПЧ, также исследовался как потенциальная мишень для терапии I3C. Первые многообещающие результаты были получены в 1999 г. группой

американских исследователей на модели трансгенных мышей, содержащих в геноме интегрированную форму ВПЧ-16. Ранее было установлено, что содержание этих мышей на диете, в состав которой входит 17- β -эстрадиол, приводит к развитию у них РШМ. В эксперименте участвовали две группы животных, одна из которых получала в течение 60 дней I3C в физиологических дозах. Было показано, что на фоне профилактического приема I3C только у 2 мышей из 24 развился РШМ, тогда как в контрольной группе через 6 мес. от начала эксперимента РШМ имели 19 животных из 25, а остальные 6 — выраженную дисплазию цервикального эпителия [15].

В дальнейших исследованиях удалось достоверно подтвердить многообразие противоопухолевых активностей индол-3-карбинола (препарат Индинол®, «БиоФарма») в ВПЧ-трансформированных клетках цервикального эпителия (рис. 7).



Рис. 7. Терапевтическая активность Индинола® при папилломавирусной инфекции

Было показано, что *in vitro* и *in vivo* I3C:

- 1) снимает эстрадиол-зависимую индукцию онкогена E7, резко снижая таким образом уровень экспрессии онкобелка E7 и препятствуя гормон-зависимой пролиферации инфицированных клеток (рис. 8);
- 2) нормализует метаболизм эстрадиола в клетках, инфицированных ВПЧ, препятствуя образованию канцерогенного метаболита

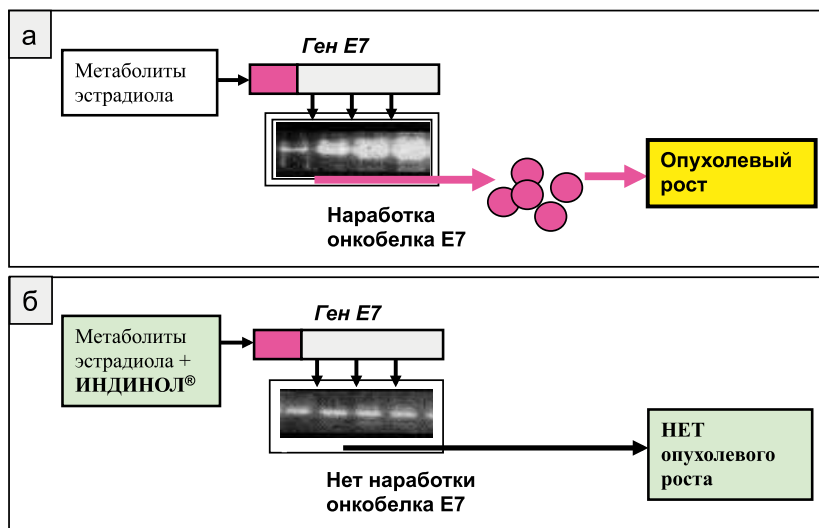


Рис. 8. Ингибирование экспрессии онкогена E7 ВПЧ в присутствии ИНДИНОЛА®

16α-OHE1, стимулирующего экспрессию онкогенов ВПЧ (рис. 9);

- 3) **индуцирует апоптотические процессы ВПЧ-инфицированных клеток**, вызывая избирательную гибель клеток с опухолевыми свойствами [7].

Противоопухолевая активность ИЗС как средства профилактики и лечения РШМ была подтверждена и в недавних плацебо-контролируемых клинических исследованиях [4]. У пациенток с CIN II и III степени, ежедневно принимавших 200-400 мг ИЗС (опытная группа), наблю-

далась полная регрессия дисплазии в 47% случаев, тогда как в контрольной группе не было зафиксировано ни одного случая регрессии. В последние годы появились работы, свидетельствующие о том, что вещества природного происхождения, в том числе обсуждаемый нами индол-3-карбинол, а также флавоноид эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG) способны оказывать патогенетическое профилактическое действие на развитие предраковых и раковых состояний шейки матки и на субмолекулярном уровне, путем направленной регуляции активности опу-

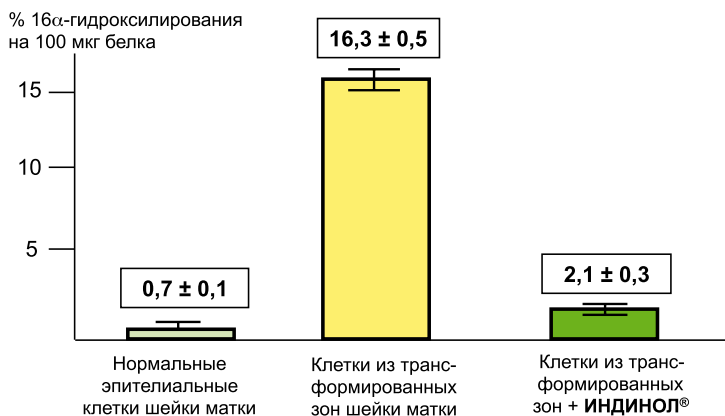


Рис. 9. Влияние Индинола® на уровень 16α-гидроксиэстрадиона в эпителиальных клетках шейки матки

холь-супрессорных генов, отвечающих за противоопухолевую защиту организма. В первую очередь, это касается регуляции со стороны указанных природных соединений обратимых генетических аномалий, т.н. эпигенетических модификаций.

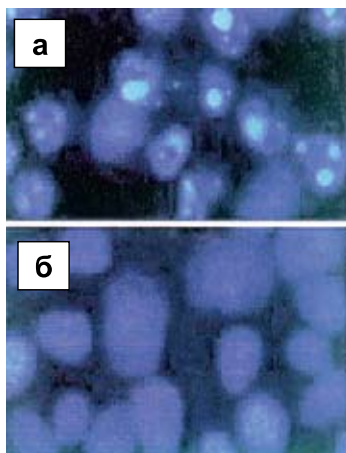


Рис. 10. Индукция апоптоза ВПЧ-инфицированных клеток в присутствии ИНДИНОЛа® (а — в клетках видна конденсация хроматина, свидетельствующая о клеточной гибели, б — контроль)

Известно, что набор генов одного индивидуума содержит абсолютно идентичную информацию. Однако клетки различных органов и тканей, имея полученный по наследству одинаковый набор хромосом, в процессе развития и функционирования экспрессируют различные гены. Такое многообразие способов выражения генетической информации достигается, в том числе, с помощью эпигенетической регуляции.

Можно сказать, что эпигенетическая регуляция — это эволюционный механизм, посредством которого обеспечиваются изменения в спектре экспрессии генов, возникающие в процессе развития клеток и тканей организма и не связанные с изменениями в структуре ДНК. Замечено, что изменения в спектре экспрессирующихся генов наблюдаются также по мере старения организма и при различных патологических состояниях, что является одной из главных причин

необратимости некоторых из них, в первую очередь опухолевых заболеваний.

Ключевым механизмом эпигенетической регуляции является метилирование ДНК. Оно заключается в ковалентном присоединении метильной группы по С5-положению цитозина в составе динуклеотида CpG (цитозин-фосфор-гуанозин). Динуклеотидные сочетания CpG могут быть локализованы как в регуляторных (промоторных) участках генов, так и на всем остальном протяжении молекул ДНК. Примерно 50% генов млекопитающих в составе своих промоторов содержат динуклеотид CpG. Если CpG находится в неметилированном состоянии, наблюдается активная экспрессия соответствующего гена. Присоединение метильной группы к цитозину CpG, напротив, подавляет экспрессию генов и переводит их в статус «молчащих».

Показано, что гиперэкспрессия онкобелка E7 ВПЧ 16 типа активирует процессы метилирования генов противоопухолевой защиты [6].

Метилирование цитозинов в составе пары CpG осуществляется при помощи специального фермента ДНК-метилтрансферазы (DNMT), а точнее, семейства из трех изоферментов — DNMT1, DNMT3a, DNMT3b.

К настоящему моменту накоплена обширная информация, не только подтверждающая роль аномального ДНК-метилирования в возникновении и прогрессии злокачественных опухолей человека, но и свидетельствующая о том, что при этом специфично повышается активность ДНК-метилтрансферазы 1 (DNMT1). На животных моделях (линия мышей с пониженной активностью DNMT1) была убедительно продемонстрирована корреляция между уровнем активности DNMT и степенью злокачественности исследуемых опухолевых тканей.

Таким образом, повышенный уровень DNMT-опосредованного ДНК-метилирования однозначно связывается с

повышенной опухолеобразующей (малигнизирующей) активностью клеток млекопитающих.

Напротив, ингибирование DNMT (особенно изоформы DNMT1) блокирует гиперметилирование вновь синтезированных ДНК-цепей, в результате чего происходит снижение общего уровня метилирования генома и ре-экспрессия «молчащих» генов [9].

Из всего вышесказанного следует, что, **в отличие от истинных мутаций, процесс гиперметилирования генов, который можно рассматривать как «функциональную делецию», является обратимым.**

В связи с этим в последнее время активно разрабатывается новое перспективное направление противоопухолевой терапии, основанное на применении специфических ингибиторов ДНК-метилтрансфераз. Первоначальные успехи, достигнутые при тестировании искусственно синтезированных ингибиторов ДНК-метилтрансфераз (аналогов нуклеотидов), все больше сменяются скептическим к ним отношением по причине высокой токсичности данных соединений и большого количества возникающих при их использовании отрицательных побочных эффектов. Поэтому в настоящее время внимание исследователей сосредотачивается на получении нетоксичных и высокоэффективных природных ингибиторов ДНК-метилтрансфераз.

Количественно определенный в клиническом образце уровень ДНК-гиперметилирования (промоторного метилирования опухоль-супрессорных генов) в настоящее время весьма перспективным биомаркером. Во-первых, в отличие от мутаций, процесс метилирования всегда происходит в строго определенных участках ДНК (т.н. «СpG-островках») и может быть обнаружен при использовании высокочувствительного и доступного метода ПЦР или обладающего высокой разрешающей способностью метода бисульфитного геномного секве-

нирования. Второй важный момент заключается в том, что ДНК-гиперметилирование встречается практически во всех видах злокачественных опухолей, при этом каждый вид рака имеет свою, характерную только для него, картину ключевых метилированных генов, например ген Hppel-Lindau — для рака почки, ген MLH1 — для рака прямой кишки, ген APC — для рака пищевода, ген GSTP1 — для рака простаты и т.д. Наконец, третье принципиальное преимущество данного подхода состоит в том, что процессы ДНК-метилирования протекают на ранних стадиях канцерогенеза.

Однако, с точки зрения дальнейшего развития и внедрения в клиническую практику метода диагностики онкологических заболеваний с помощью определения уровня ДНК-метилирования генов-маркеров, наиболее оптимальной и перспективной представляется оценка степени метилирования не одного, а группы ключевых генов, контролирующих процессы канцерогенеза. Ведь большинство опухолей не являются моногенными, и, следовательно, анализ метилирования одного гена не может дать полной информации о всей палитре изменений, происходящих в ткани-мишени. В этом случае успешно преодолеваются ограничения, имеющие место при анализе единичного гена, а именно: недостаточная чувствительность и низкая специфичность метода, невозможность дифференцировки злокачественных новообразований от доброкачественных и опухолей, имеющих другое органное происхождение, а также невозможность оценки риска развития опухолевого заболевания.

В настоящее время идет процесс накопления сведений о спектрах метилированных генов при различных локализациях рака.

В 2006 г. группой авторов из НИИ молекулярной медицины ММА им. И. М. Сеченова была опубликована работа, посвященная изучению про-

цессов аномального метилирования при различных патологических состояниях шейки матки [2]. В ней изучалось метилирование панели опухоль-супрессорных генов в образцах ткани шейки матки, взятой у женщин без гинекологической патологии (35 образцов), в биоптатах больных с дисплазией III степени и в смежных с дисплазией морфологически неизменных цервикальных тканях (всего 42 пары образцов). В результате оказалось, что, на фоне небольшого уровня метилирования генов-супрессоров в контрольной группе, при диспластических процессах в тканях шейки матки (в том числе в образцах ткани, смежной с дисплазией и цитологически характеризующейся как нормальная) был выявлен высокий уровень метилирования трех из шести исследуемых генов (рис. 11).

тивность ДНК-метилтрансферазы. При этом соответствующим образом менялись кинетические параметры процесса ингибирования. В результате происходило деметилирование CpG-динуклеотидов и реактивация метилированных «молчащих» (транскрипционно неактивных) генов, вовлеченных в процессы канцерогенеза, а именно, гена супрессора опухолевого роста p16, гена ретиноидных рецепторов (RAR), гена метилгуанин-метилтрансферазы (MGMT) и гена hMLH1, ответственного за репарацию ДНК (рис. 11, 12).

Двумя годами позже другие авторы описали молекулярный механизм этого процесса [14]. Оказалось, что, в отличие от других катехинов зеленого чая, EGCG-опосредованное ингибирование ДНК-метилтрансферазы, осуществляемое по не-

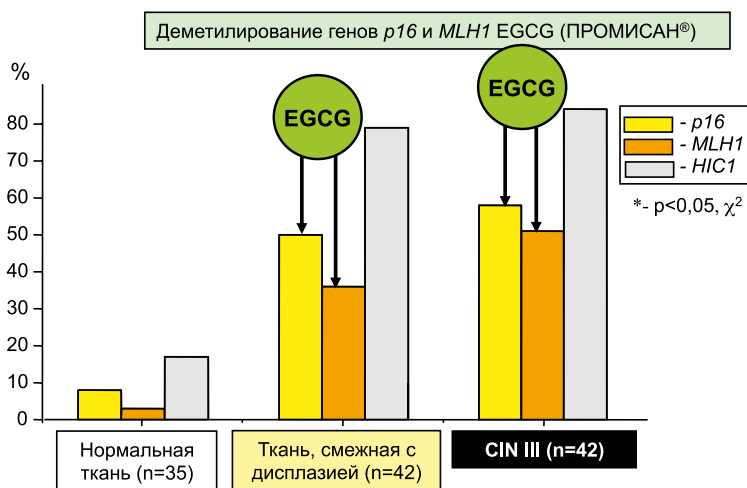


Рис. 11. Аномальное метилирование (%) опухоль-супрессорных генов в предраковых состояниях шейки матки

В 2003 г. была опубликована сенсационная статья, в которой было установлено, что флавоноид эпигаллокатехин-3-галлат является эффективным ингибитором фермента ДНК-метилтрансферазы [10]. На различных линиях опухолевых клеток человека было показано, что EGCG (5-50 мкМ) дозо-зависимым образом эффективно подавлял ак-

конкурентному механизму, происходило независимо от процесса метилирования самого катехина (известно, что промежуточные метилированные продукты полифенолов сами по себе могут быть ингибиторами процесса ДНК-метилирования), а исключительно благодаря прямому взаимодействию фермента с EGCG. При этом данный процесс на порядок усиливался в

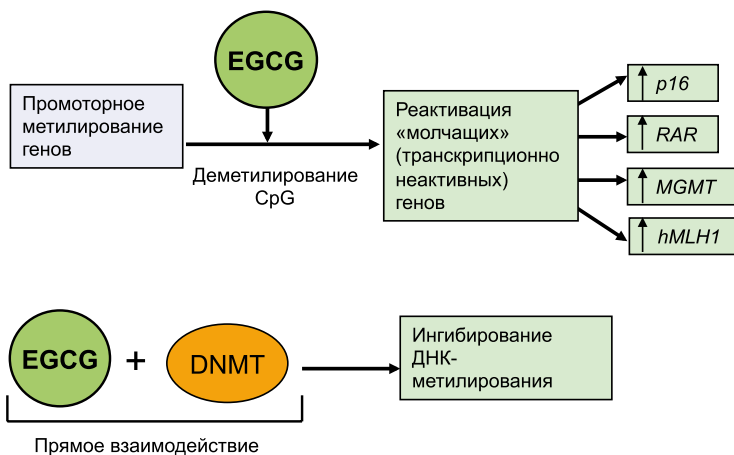


Рис. 12. EGCG — ингибитор DNMT (ДНК-метилтрансферазы)

присутствии миллимолярных концентраций катиона Mg^{2+} .

Такая же концентрация EGCG в тканях и, следовательно, те же биологические эффекты, связанные с ингибированием ДНК-метилтрансферазы, достигаются при приеме терапевтических доз препарата Промисан®.

Следовательно, препарат Промисан® можно рассматривать в качестве эффективного фармакологического средства регуляции (восстановления) эпигенетических нарушений, ответственных за усиление малигнизующих свойств клеток на ранних стадиях канцерогенеза.

Еще одним важнейшим опухоль-супрессорным белком, регулирующим пролиферацию цервикальных клеток, является фосфатаза PTEN. Фосфатаза PTEN — это биологический антипод фосфатидил-инозитол-3-киназы (PI3K). PTEN дефосфорилирует сигнальные D3-фосфоинозитиды и прерывает таким образом пролиферативный PI3K-зависимый внутриклеточный каскад. В настоящее время появляется все больше фактов, указывающих на ключевую роль PTEN в гормон-зависимом канцерогенезе и неопластической трансформации. Соответственно, все больше сторонников получает точка зрения, что данный

опухоль-супрессорный белок можно рассматривать как достоверный маркер происходящих в репродуктивных тканях процессов ранней малигнизации.

В недавней работе Qi M. и соавт. [20] на животных моделях нетрансгенных и трансгенных (K14HPV16) мышей, а также на тканевых человеческих образцах, полученных от пациентов с диагнозами «кондиломатоз», «CIN I», «CIN II», «CIN III» и «инвазивный рак шейки матки», иммуногистохимическим методом исследовали уровень экспрессии фосфатазы PTEN в процессе малигнизации цервикальных тканей и прогрессии рака шейки матки. Было обнаружено выраженное снижение экспрессии PTEN в ряду CIN I — CIN II — CIN III как для мышей, так и для человека. При кондиломатозе экспрессия PTEN почти втрое превышала соответствующий показатель при CIN I, а для человека, наоборот, была меньше (рис. 13).

В следующей серии экспериментов методом иммуногистохимического окрашивания изучалось влияние индол-3-карбинола на уровень экспрессии PTEN на нетрансгенных и трансгенных (K14HPV16) мышцах, не получавших ИЗС (контрольная группа) и получавших ИЗС (2000 ppm) с пищей (опытная группа) в течение 25 недель. Индуктором развития

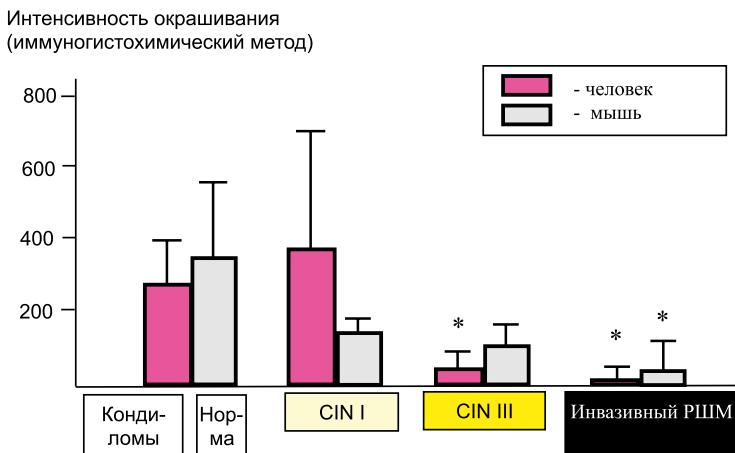


Рис. 13. Уменьшение экспрессии фосфатазы PTEN в процессе малигнизации цервикальных клеток (Qi M, Anderson AE, Chen DZ et al, Indole-3-carbinol prevents PTEN loss in cervical cancer in vivo, Mol Medicine, 2005 Jan-Dec; 11(1-12): 59-63)

цервикального рака (трансгенные мыши K14HPV16) был вводимый животным эстрадиол. Оказалось, что как у трансгенных, так и у нетрансгенных экспериментальных животных ИЗ стимулировал экспрессию опухоль-супрессорной фосфатазы PTEN, что, по мнению авторов, определило выраженный противоопухолевый эффект в отношении рака шейки матки, наблюдавшийся у мышей, получавших с пищей индол-3-карбинол.

Другими авторами было показано, что в присутствии различных концентраций индол-3-карбинола (25-125 мкМ) в гормончувствительных опухолевых клетках молочной железы линии T-47D наблюдалась дозо-зависимая индукция экспрессии фосфатазы PTEN, положительно коррелировавшая с ИЗ-зависимым снижением метастатического потенциала опухолевых клеток 16 (рис. 14).

Таким образом, ИЗ так же, как и EGCG, способен повышать экспрессию

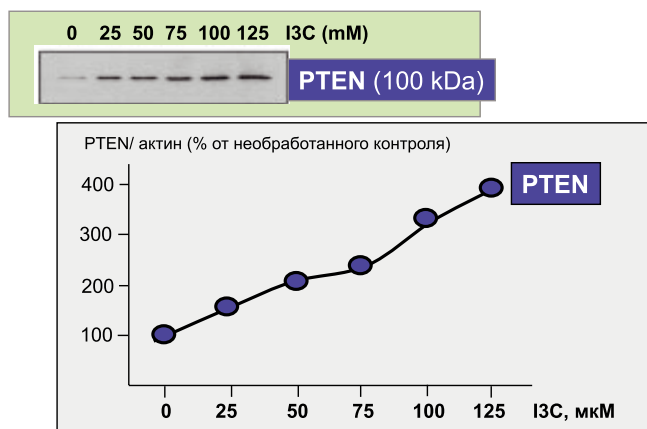


Рис. 14. Индукция экспрессии фосфатазы PTEN в присутствии различных (25-125 мкМ) концентраций индол-3-карбинола (I3C) в гормончувствительных опухолевых клетках молочной железы линии T-47D (Meng Q, Goldberg ID, Rosen EM and Fan S (2000) Inhibitory effects of Indole-3-carbinol on invasion and migration in human breast cancer cells; Breast Cancer Res and Treat, 63,147-152)

инактивированных опухоль-супрессорных генов в цервикальных клетках.

Очевидно, что комбинация этих двух соединений, представленная в препарате Промисан®, окажется более эффективной, чем каждое из них в отдельности, в отношении профилактики предраковых и раковых заболеваний шейки матки, поскольку в этом случае будет осуществляться не только направленное воздействие на патогенетические механизмы развития папилломавирусной инфекции, но и таргетная активация экспрессии опухоль-супрессорных генов, обеспечивающих противоопухолевую защиту организма.



Рис. 15. ПРОМИСАН® — средство патогенетической профилактики предопухолевых и опухолевых заболеваний репродуктивных органов

Применение Индинола и Промисана на разных стадиях папилломавирусной инфекции

С нашей точки зрения, общую схему патогенетической профилактики предрака и рака шейки матки с помощью вышеуказанных препаратов можно представить следующим образом. При доброкачественных пролиферативных заболеваниях шейки матки, обусловленных ВПЧ, когда ключевыми факторами патогенеза являются экспрессируемый вирусинфицированными клетками онкобелок E7 и повышенный уровень «агрессивного» метаболита эстрогенов — 16 α -гидроксиэстрона, в качестве средства патогенетической терапии и одновременно первичной патогенетической профилактики CIN и РШМ (в комплексе с иммуномодуляторами) целесообразно применять препарат Индинол®. Однако в том случае, если у пациентки уже диагностируются начальные стадии цервикальной дисплазии (CIN I) и, следовательно, актуализируется проблема предупреждения рака шейки матки, препаратом выбора (т.е. фармакологическим средством вторичной онкологической профилактики) должен стать препарат Промисан®.

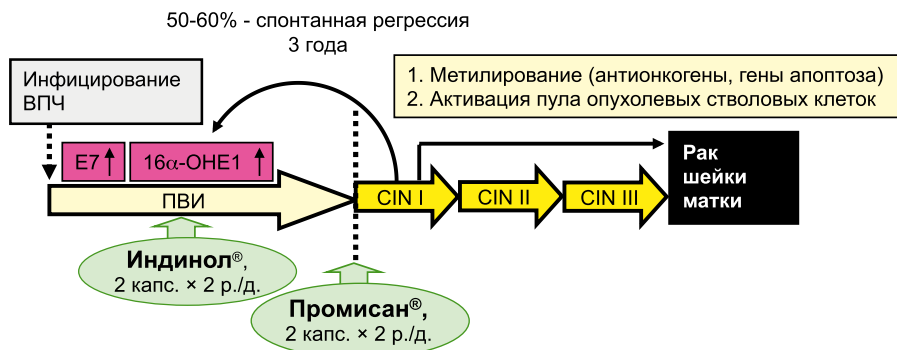


Рис. 16. Патогенетическая профилактика предрака и рака шейки матки

Список литературы имеется в редакции



ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ АТРОФИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Селиванов Е. В.

Мы давно привыкли, что основным диагностическим инструментом при патологии верхнего отдела желудочно-кишечного тракта является фиброгастродуоденоскопия (ФГДС). Безусловно, ФГДС является ценным диагностическим инструментом, незаменимым при диагностике объемных процессов (опухоли, полипы и т. п.), особенно при необходимости взятия биопсии. С другой стороны, ФГДС имеет ряд существенных недостатков в виде высокой инвазивности и стоимости, ограниченности обзора и объема биоптата, сложности мониторинга лечения. Эти недостатки становятся особенно заметны, когда речь идет о массивных поражениях слизистой желудка, например, при атрофическом гастрите.

Атрофический гастрит, несмотря на споры о том, является ли он самостоятельным заболеванием, или же исходом других гастритов, характеризуется, в первую очередь, гибелью основных клеток и значительным уменьшением толщины слизистой оболочки желудка (СОЖ). Начало атрофического процесса происходит в тех отделах желудка, где сосредоточены париетальные клетки — теле и дне. Поражение этих клеток приводит к резкому снижению секреции соляной кислоты, пепсиногенов, гастромукопротеина — основных участников процесса пищеварения. Гастромукопротеин отвечает еще и за всасывание в желудке витамина B_{12} . В результате снижения его количества в желудке снижается всасывание витамина B_{12} и развивается B_{12} -дефицитная анемия.

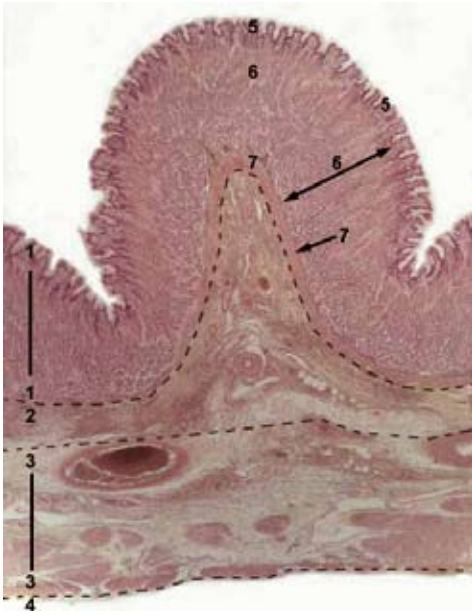
Хронический атрофический гастрит относят к основным предраковым заболеваниям желудка. Большую роль в качестве пускового агента в настоящее время отводят бактерии *Helicobacter pylori*, хотя ее роль не может считаться полностью доказанной. Тот факт, что атрофия слизистой продолжается и после полной эрадикации геликобактера, привел к выводу, который поддерживает большинство исследователей: *H. pylori* действует скорее в качестве промотора, чем инициатора желудочного канцерогенеза.

Модель канцерогенеза при РЖ была предложена Р. Correa. Схематично ее можно изобразить следующим образом: инвазия *H. pylori* — атрофия СОЖ — кишечная метаплазия — эпителиальная дисплазия — РЖ¹.

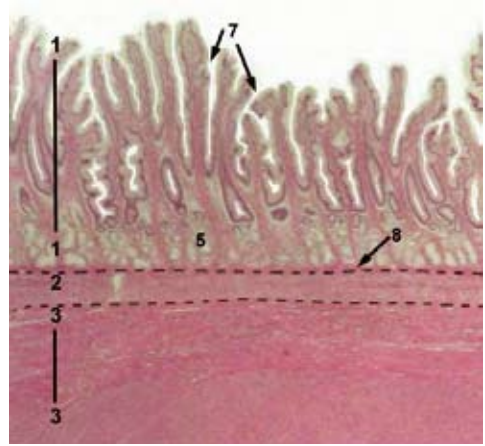
Необходимо отметить, что при проведении ФГДС практически отсутствуют какие-либо критерии тяжести атрофического процесса, а взятый биопсийный материал далеко не всегда отражает объем атрофии. Поэтому естественным желанием гастроэнтерологов стали разработка и внедрение менее инвазивных и более точных методов диагностики.

Атрофический процесс является следствием гибели основных типов секреторирующих клеток в слизистой оболочке. Логичным было бы использовать вещества, секретируемые этими клетками, для оценки объема атрофии.

¹ Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process // *Cancer Res.* — 1992. — 52. — P. 6735-6740.



Дно желудка, окраска гематоксилин-эозином: 1 — слизистая оболочка, 2 — подслизистая оболочка, 3 — мышечная оболочка, 4 — серозная оболочка, 5 — эпителий, 6 — собственная пластинка слизистой оболочки, 7 — мышечная пластинка слизистой оболочки.



Пилорическая часть желудка, окраска гематоксилин-эозином: 1 — слизистая оболочка, 2 — подслизистая оболочка, 3 — мышечная оболочка, 5 — собственная пластинка слизистой (содержит железы), 7 — ямки в слизистой оболочке, 8 — мышечная пластинка слизистой оболочки.

Рис. 1. Строение слизистой оболочки дна и пилорической части желудка

Атрофия может затрагивать все отделы желудка или каждый из них в отдельности. В этой связи патоморфологи выделяют «диффузный» (фундальный, антральный или тотальный), а также «мультифокальный» атрофический гастрит. Физиологические и клинические проявления атрофии в разных отделах желудка могут быть совершенно разными. Слизистая оболочка фундального отдела желудка, как его основная функциональная составляющая часть, представлена тремя основными популяциями клеток: добавочными — слизеобразующими, вырабатывающими муцин, париетальными, секретирующими соляную кислоту и главными — продуцирующими пепсины. Атрофический процесс может захватывать как все железы, так и избирательно поражать те или иные клетки.

Из перечисленных типов клеток наиболее важными оказались клетки СОЖ, продуцирующие пепсиногены. Оказа-

лось что, во-первых, часть пепсиногенов попадает в кровь в количествах, пропорциональных их секреции в желудок, а во-вторых, имеется четкое разделение типов пепсиногенов, секретируемых разными типами клеток и разными зонами продукции.

В организме человека синтезируется 2 типа пепсиногена: Пепсиноген 1 (имеет 7 фракций) и пепсиноген 2 (имеет 2 фракции). **Пепсиноген 1** вырабатывается главными клетками желез дна и тела желудка. **Пепсиноген 2** продуцируется муцинообразующими клетками всех отделов желудка

Оба пепсиногена, I и II, выделяются в просвет желудка и попадают в кровь. Пепсиноген I присутствует в слизистой оболочке желудка, в сыворотке крови и в моче. Пепсиноген II в норме имеется слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки, в сыворотке крови, в семенной жидкости. Концентрация

Интерпретация результатов комплексного исследования пепсиногенов (по А.Р. Молчановой, 2008)

Результаты определения			Диагноз	Прогноз	Рекомендации
PG1, мкг/л	PG2, мкг/л	PG1/PG2			
30-130*	4-22*	3-20*	Слизистая оболочка желудка в норме		Проводить повторные исследования пепсиногенов один раз в год
<30	<4 или N	<3	Атрофический гастрит тела желудка	Риск развития пернициозной анемии. Риск развития рака желудка	Провести фиброгастроскопию с биопсией и исследование на наличие инфекции <i>H. pylori</i> (если есть — эрадикация). Определить концентрации витамина B ₁₂ , кальция, Провести исследование на наличие инфекции <i>H. pylori</i> (если есть — эрадикация). Лечение гастрита. Повторное исследование пепсиногенов через полгода. Снижение их уровней до нормальных значений — признак заживления язвы
<30	<4	>3	Атрофический гастрит антрального отдела и тела желудка		
≤	N или >22	N или <3	Неатрофический гастрит. Болезнь Менетрие	Риск развития язвы 12-перстной кишки или желудка	
N	>22	N или <3	Гастрит любой этиологии***	Риск развития язвы желудка	Провести анализ на <i>H. pylori</i> , (если есть — эрадикация). Через полгода после лечения гастрита повторить исследование пепсиногенов

Примечания: * интервал нормальных значений; ** при атрофических изменениях СОЖ снижена выработка внутреннего фактора Кастла, что приводит к мальабсорбции витамина B₁₂ и высокому уровню гомоцистеина в тканях и крови, возможно также развитие мальабсорбции кальция и железа; *** чаще всего связан с инфекцией *H. pylori*

пепсиногенов в сыворотке крови зависит от объема их продукции слизистой оболочкой желудка. В норме отношение концентраций пепсиногена I и пепсиногена II в сыворотке или плазме крови более 3,0.

Измерение уровней пепсиногенов уже давно вошло в практику врачей в Европе и США. Эта методика доступна и у нас. Более того, для региона Западной Сибири уже сформированы референсные значения (нормы) для пепсиногена I и 2, а также отработана их интерпретация (таблица 1).

Для здоровых жителей Западной Сибири (были обследованы жители Новосибирска, Барнаула, Кемерово, Томска и Рубцовска) установлены следующие нормы: пепсиноген 1 — 30-130 мкг/л, пепсиноген 2 — 4-22 мкг/л, соотношение PG1/PG2 — > 3.

Отдельно стоит рассмотреть вопрос специфичности и чувствительности определения пепсиногенов. При анализе доступных источников мы видим значительные колебания оценок: от осторожных замечаний клиницистов о том, что чувствительность и специфичность дан-

ного метода относительно невелика (84,6 и 73,5% соответственно)¹, до восторженных (93 и 91% соответственно) у производителей наборов. Видимо, многое зависит от качества наборов и точности работы лаборатории. Нужно отметить, что указанные оценки чувствительности и специфичности были даны в конце XX века и за прошедшее время качество как самих тест-систем, так и работы лаборатории существенно возросло.

В качестве маркера поражения СОЖ рассматривается и еще один белковый маркер поражения слизистой оболочки желудка — гастрин.

Гастрин образуется в G-клетках антральной части желудка и, кроме того, в небольшом количестве синтезируется в слизистой оболочке тонкой кишки. Гастрин существует в организме в виде нескольких основных форм, которые в зависимости от количества аминокислотных остатков носят названия гастрин-17, гастрин-13, гастрин 34 и т. п. Принято считать, что наибольшие концентрации в крови определяются у гастрин-17 (секреция преимущественно клетками СОЖ) и гастрин 34 (секреция преимущественно в тонкой кишке).

Физиологическим стимулятором освобождения гастрин является пища, также выделение гастрин наблюдается:

1. при действии рефлекторных факторов (растяжение желудка поступающей пищей);
2. при действии нервных стимулов;
3. при действии некоторых химических факторов (например, раствора хлористого кальция).

Имеются суточные колебания концентрации гастрин в крови: минимальные концентрации отмечаются между 3 и 7 часами утра, наиболее высокие уровни — в течение дня. Базальный уровень гастрин значительно и достоверно увеличивается с возрастом. У здоровых лиц прием пищи, особенно белковой, увели-

чивает концентрацию гастрин в крови на 50-150% (максимальный уровень гормона в крови достигается при этом через 15-40 минут). Секрецию гастрин стимулирует также снижение концентрации соляной кислоты.

Период полураспада гастрин — около 8 минут. Из крови он выводится почками, где после фильтрации и реабсорбции расщепляется. В норме кислота ингибирует секрецию гастрин — при стимуляции в условиях, когда в желудке содержится достаточное количество кислоты, гастрин не секретируется. Не всегда гиперпродукция гастрин сопровождается гиперсекрецией кислоты желудком. Гипергастринемия без гиперсекреции соляной кислоты встречается при таких заболеваниях, как пернициозная анемия, атрофические гастриты, витилиго. Интерпретация повышенных уровней требует наличия информации о секреции кислоты желудком. Все это очень усложняет клиническую интерпретацию полученных результатов. На наш взгляд, введение этого дорогого теста, часто требующего проведения нагрузочных проб, для точной диагностики в широкой практике нецелесообразно. Сегодня на рынке присутствует много предложений обследований комплекса тестов, так называемой гастропанели, включающей исследования пепсиногенов 1 и 2, гастрин-17 и антител к H. pylori. Однако широкое применение таких тестов затруднено из-за высокой стоимости и сложности интерпретации результатов измерения гастрин-17.

Таким образом, определение пепсиногенов 1, 2 и их соотношения имеет важную роль в малоинвазивной оценке атрофии СОЖ и диагностики атрофического гастрита. Внедрение этих методов в широкую практику позволит проводить раннюю точную диагностику, осуществлять мониторинг терапии и улучшать качество жизни наших пациентов.

¹ Аруин Л. И., Григорьев П. Я., Исаков В. А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. Амстердам, 1993. 362 с.



ПРАВИЛА ПОЛУЧЕНИЯ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЦИТОЛОГИИ

*Проект методических указаний рассмотрен и одобрен
Центральным исполнительным советом Ассоциации клинических цитологов России.*

Общие положения

- Клеточный материал наносят сухим инструментом тонким слоем в продольном направлении (или готовят отпечатки с ткани) на чисто вымытые, обезжиренные 96% спиртом и натертые досуха предметные стекла или помещают в среду накопления («жидкостная» цитология).
- Емкости для доставки материала — пробирки, чашки Петри и т.д. — должны быть чистыми, после обработки в сухожаровом шкафу. Подсушивание цитологических мазков проводят при комнатной температуре на воздухе.
- Если методика окрашивания (Папаниколау и др.) требует влажной фиксации мазка, то сразу после получения материала мазок обрабатывают аэрозолем для фиксации или капельным фиксатором или помещают на 10 минут в 96 % спирт, после чего препарат высушивают на воздухе.
- Направляемый на цитологическое исследование материал нельзя делить на части и рассыпать в разные лаборатории, т.к. характерные изменения могут быть в одной части материала и не быть в другой.

1. Получение эксфолиативного материала

Мазки из отделяемого для цитологического исследования готовятся из клеточных элементов, которые легко

слущиваются с поверхности слизистых оболочек и/или спонтанно попадают в различные выделения (выпоты, секреты, мокроту, патологические выделения из молочной железы, плевральный экссудат, мочу). Для приготовления препарата капля отделяемого (из молочной железы, свищей и др.) наносится на стекло и готовится мазок.

Мазки-отпечатки: к месту поражения прикладывается предметное стекло, на котором остается некоторое количество клеточных элементов и слизистого отделяемого:

- с места выделения (сосок молочной железы, выходное отверстие свища);
- со слизистой оболочки, изъязвленной поверхностью слизистых и кожных покровов;
- материал с пораженного участка можно брать также с помощью ватного тампона и наносить на предметное стекло в виде отпечатков.

Мазки-отпечатки из соскоба готовятся с помощью шпателя, края предметного стекла, скальпеля: соскобы делаются осторожно с легко доступных очагов поражения, обилие слизи и некротических масс в биологическом материале препятствуют правильному приготовлению мазка, поэтому гнойные корки и некротические массы должны быть удалены.

В настоящее время появились новые технологии приготовления цитологических препаратов («жидкостная» цитология), обеспечивающие высокую степень

концентрации клеток (Cellprint, Cytospin и т.д.). Использование «жидкостной» цитологии особенно рекомендуется при выполнении иммуноцитохимических исследований.

2. Получение пункционного материала

Пункцию проводит врач, как правило, под контролем ультразвукового исследования, реже — под контролем рентгеновского исследования. Для получения полноценного материала для цитологического исследования при проведении диагностической пункции необходимо соблюдать ряд правил:

- пункцию проводят с соблюдением правил асептики и антисептики;
- нельзя пунктировать опухоль при подозрении на меланому;
- перед проведением пункции опухоль тщательно пальпируют, определяют ее подвижность, связь с окружающими тканями и возможность оптимальной фиксации;
- игла и шприц для пункции должны быть абсолютно сухими;
- не следует проводить обследуемому анестезию пунктируемого образования (сама пункция не более болезненна, чем прокол иглой для анестезии, кроме того, применение новокаина может вызвать изменение клеточных элементов);
- мандреном, как правило не пользуются, так как используемые для диагностических пункций иглы имеют очень маленький диаметр и косой срез на конце, игла легко продвигается через ткани, расположенные над опухолью (кожу, подкожную клетчатку, мышцы), расслаивая их, закупорка иглы происходит очень редко. Однако при пункции богато васкуляризированных образований (щитовидная железа, сосудистые опухоли, кости и др.) необходимо использовать иглу с мандреном, последний извлекается после введе-

ния иглы в исследуемое образование;

- пункцию различных образований, в том числе опухолей производят тонкой иглой (наружный диаметр 0,6-0,7 мм), которая присоединяется к шприцу 20 мл.

Методика проведения пункции тонкой иглой

Опухоль фиксируют пальцами левой руки. Иглу без шприца (или с присоединенным шприцем с опущенным поршнем) вводят перпендикулярно через кожу в исследуемое образование. По достижении очага поражения осторожно пальпируют ткань вокруг введенной иглы, определяя правильность прокола; при небольшом подкожном узле можно несколько наклонить иглу, при этом опухоль на игле сместится, что ощущается пальцами и подтверждает правильное положение иглы. Не рекомендуется производить вращательные движения иглой, так как это наносит лишнюю травму и не приводит к получению более полноценного материала. После этого присоединяют шприц с опущенным поршнем (если он не был присоединен сразу) и делают 2-3 резких насыщающих движения, снимая шприц с иглы после каждого подъема поршня. По окончании взятия шприц необходимо снять, иглу извлекают без шприца, что позволяет сохранить материал; для цитологического исследования достаточно материала попавшего в просвет иглы.

Содержимое шприца выдувается на предметное стекло при помощи шприца, который наполняется воздухом и вновь соединяется с иглой. Содержимое размывается по стеклу другим стеклом или ребром иглы. Если при проколе опухоли появляется жидкость, то под иглу подставляют пробирку и собирают жидкость. Если жидкость не стекает, можно использовать шприц, осторожно оттягивая поршень и, набирая жидкость в шприц, после чего шприц снимают и жидкость слива-

ют в пробирку. После удаления жидкости иглу вводят в более плотную ткань пунктируемого образования и получают пунктат в просвете иглы.

3. Получение отпечатков с биопсийного и операционного материала

Цитологические препараты (отпечатки и соскобы) можно делать из материала, полученного при биопсии или хирургической операции:

- отпечатки выполняются путем прикладывания стекла к биопсированному кусочку или разрезу удаленной опухоли;
- разрез опухоли или лимфатического узла необходимо проводить сухим скальпелем, чтобы избежать разрушения клеток водой;
- если консистенция ткани плотная (костная, хрящевая) и не позволяет сделать отпечатки, производят соскоб с поверхности свежего разреза опухоли (путем легкого соскабливания предметным стеклом или скальпелем).
- при проведении эндоскопического обследования материал для цитологического исследования берут с помощью специальных приспособлений: аспираты промывных вод — с помощью отсасывающего устройства, при бронхоскопии для приготовления мазков из бронхоальвеолярных лаважей используется технология цитоцентрифугирования (Cytospin); мазки-отпечатки из материала щипковых биопсий, браш-биоптаты, пунктаты и др.).

4. Правила доставки биологического материала в лабораторию

1. Флаконы с материалом и стекламзки должны иметь идентификацию (маркировку): на них должна быть четко нанесены код или фамилия больного, идентичные коду и фамилии в бланке направления

материала для цитологического исследования. Для приготовления цитологических препаратов предпочтительнее использовать предметные стекла со шлифованным краем, которые легко маркируются.

2. Цитологический материал доставляют в лабораторию в ближайшие сроки после его взятия. Особенно это относится к жидкостям, мокроте, содержимому кист и любому кровянистому материалу.
3. Для доставки необходимо иметь специализированные контейнеры для предметных стекол, пробирки, чашки Петри, емкости различного объема. Не допускается контакт нативного материала, в том числе подсушенного предметного стекла с бланком направления.
4. Полученный материал доставляют в лабораторию с бланком направления, в котором должны быть представлены паспортные данные обследуемого пациента, диагноз, проведенная терапия, точно должно быть указано место участка, откуда был взят материал, и способ его получения.
5. Сотрудник лаборатории, который принимает материал, должен проверить маркировку препаратов, пробирок и т.д., оформление направления, отметить характер и количество биоматериала, число присланных мазков

5. Правила приготовления препаратов (мазков) из биологического материала для цитологического исследования

Методика приготовления мазка

Необходимой предпосылкой для точной оценки морфологических особенностей клеток в мазке является правильно сделанный, качественно фиксированный, хорошо окрашенный и методологически корректно изученный

мазок, поступающий в лабораторию в сопровождении необходимых клинико-инструментальных и анамнестических данных. Невыполнение этих условий ведет к неправильному распределению клеток ткани, неполному выявлению их морфологических особенностей, «пропуску» важной диагностической информации на предметном стекле или отсутствию корректирующей клинической информации и, тем самым, к ошибочной оценке цитологической картины, а значит к неполноценному или ошибочному диагнозу. Если мазки были приготовлены вне лаборатории, то в соответствии с теми же требованиями оценивается их макроскопический вид. Сотрудники лаборатории должны постоянно обучать представителей клинических отделений, участвующих в приготовлении мазков. Правильно приготовленный мазок из нормальной или патологически измененной ткани должен отвечать следующим условиям:

1. Мазок должен начинаться на 1 см от узкого края предметного стекла и заканчиваться примерно в 1,5 см от другого края предметного; мазок не должен достигать длинного края стекла, между мазком и краем предметного стекла должно оставаться расстояние примерно 0,3 см.
2. Хороший мазок должен быть максимально тонким (максимально приближающимся к однослойному), равномерной толщины (не волнообразным) на всем протяжении.
3. Мазок из осадка жидкого материала (жидкость из серозной полости, смыв из различных органов, содержимое кистозной полости и т. п.) должен заканчиваться у одного из узких краев предметного стекла в виде следа, оставленного как бы тонкой щеткой.
4. Клетки в мазке должны быть равномерно распределены, все участки мазка должны хорошо просматриваться и не содержать «толстые

участки», содержащие непросматриваемые (плохо просматриваемые) скопления или комплексы клеток.

Правила фиксации мазка

Фиксация мазка проводится в соответствии с методикой, обусловленной биологическим материалом, взятым для цитологического исследования (влажная фиксация биологического материала или подсушивание его на воздухе). При влажной фиксации приготовленный мазок помещается в фиксирующую жидкость, затем подсушивается на воздухе. Недостаточная фиксация мазка ведет к некачественному окрашиванию клеток.

1. Правильная фиксация мазка обуславливает стойкость клеток по отношению к содержащейся в красках воде, которая в нефиксированном мазке изменяет строение клеточных элементов. При фиксации мазка происходит коагуляция белка, в результате чего клетки прикрепляются к предметному стеклу;
2. При фиксации цитологических препаратов должны использоваться специальные фиксаторы.
3. Рекомендуемые фиксаторы¹:
 - этиловый спирт;
 - фиксатор Май-Грюнвальда;
 - фиксатор Лейшмана.

Правила окрашивания мазка

Качественное окрашивание позволяет правильно идентифицировать клеточные элементы мазка и оценить их особенности при микроскопии. В адекватно окрашенном мазке структуры цитоплазмы, ядра, ядерного хроматина, ядрышек окрашены элективно.

1. При применении любой методики окрашивания мазка важно точно соблюдать последовательность процедур приготовления растворов и

¹ Одними из лучших фиксаторов являются метиловый спирт и смесь Никифорова, но входящие в них компоненты сильно токсичны и опасны для персонала. Поэтому в последнее время они исключены из рекомендуемых фиксаторов.

временные промежутки в течение процесса окрашивания.

2. Существующие в продаже партии красителя имеют различную интенсивность окраски. Это обязывает опытным путем установить оптимальные концентрации (разведение) и время окрашивания для каждого флакона красителя, которые устанавливаются при окрашивании серии препаратов растворами с различной концентрацией красителя, меняя длительность его воздействия. При приготовлении растворов необходимо учитывать рН воды: она должна быть нейтральной (рН 6,8-7,2), что обеспечивается использованием буферных растворов.
3. Рекомендуемые методы окрашивания цитологических мазков:
 - азур-эозиновый (по Романовскому, Лейшману, Май-Грюнвальду, Паппенгейму и др.);
 - гематоксилиновый;
 - гематоксилин-эозиновый;
 - метод Папаниколау.
4. Для уточнения диагноза рекомендуется использование цитохими-

ческих и иммуноцитохимических методов анализа в соответствии с принятыми методиками.

Эффективность использования методических указаний

Цитологические исследования являются достаточно массовым видом лабораторных диагностических исследований. В 2001 г. клинико-диагностическими лабораториями учреждений здравоохранения России было выполнено 41867,9 тыс. цитологических исследований. Клиническая цена достоверности результата каждого цитологического исследования чрезвычайно высока, принимая во внимание медицинские и этические последствия неправильного диагноза того или иного поражения, в особенности при подозрении на злокачественное новообразование. Повсеместное правильное выполнения процедур взятия образцов и подготовки мазков биологического материала должно существенно повысить точность морфологической оценки цитологических препаратов и, соответственно, диагностики опухолей и неопухолевых поражений.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛАКТАЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Звягинцев Е. Н., Селиванов Е. В.

Одной из проблем современной гастроэнтерологии является «непереносимость молока». Правда, в современной медицине нет такого термина, это, скорее бытовое понятие. Если исключить из этой проблемы истинные пищевые аллергии на белковые компоненты молока, о чем мы расскажем в отдельной статье, то в современном понимании непереносимость молока — это лактазная недостаточность (ЛН). Она формируется из-за неспособности организма усваивать основной углевод молока — лактозу.

Лактоза, или молочный сахар — дисахарид, состоящий из остатков галактозы и глюкозы (4-О-β-D-галактопиранозил-D-глюкоза). Углеводы молока на 99% представлены лактозой. В пищеварительном тракте лактоза под действием фермента лактазы расщепляется на глюкозу и галактозу с последующим всасыванием этих моносахаров.

Лактаза продуцируется энтероцитами тонкого кишечника. Продукция лактазы энтероцитами может снижаться по двум основным причинам:

1. снижение продукции неповрежденными энтероцитами из-за генетических дефектов или физиологической незрелости ферментных систем у детей первого года жизни — **первичная ЛН**;
2. снижение продукции за счет повреждения энтероцитов при воспалительном или ином (пищевые аллергии, опухоли) процессе — **вторичная ЛН**.

Более подробное описание форм ЛН приведено в таблице 1.

Независимо от причины дефицита лактазы, в кишечнике скапливается много нерасщепленной лактозы, которая вызывает поступление воды в полость кишечника по осмотическому механизму (часто с участием деятельности микроорганизмов, усваивающих лактозу), в результате чего развивается диарея, метеоризм, тошнота, рвота, боли в животе. Симптомы ЛН всегда связаны с употреблением в пищу продуктов, содержащих лактозу. Проявления ЛН существенно снижают качество жизни взрослых пациентов и вызывают выраженное беспокойство детей до года, что заставляет обращаться с жалобами к гастроэнтерологам.

Перед врачом на приеме стоят две задачи: установление факта ЛН и установление причины ЛН.

Основная роль здесь отводится **лабораторным исследованиям**.

В копрограмме большого ЛН можно обнаружить признаки нарушения всасывания углеводов: рН менее 5,5, увеличение содержания крахмала и клетчатки. Для установления факта ЛН широко применяются следующие тесты:

- **Определение углеводов в кале методом Бенедикта** позволяет косвенно судить о наличии недостаточности дисахаридазы либо нарушении всасывания сахаров. Тест Бенедикта основан на способности восстанавливающих сахаров (глюкозы, галактозы, лактозы, мальтозы, фруктозы)

Характеристика различных форм ЛН

Тип ЛН	Разновидность	Описание	Этиология
Первичная	Врожденная ЛН (алактазия новорожденных)	Наблюдается с рождения, протекает тяжело, активность лактазы полностью отсутствует. Наследование аутосомно-рецессивное. Требуется обязательной безлактозной диеты. Встречается редко.	Генетически детерминированные нарушения синтеза лактазы. Генотипы СС полиморфизмов -13910Т>С и -22018Т>С гена МСМ6 приводят к неспособности усвоения лактозы.
	Врожденная ЛН с поздним началом (у взрослых)	Позднее начало, более мягкое течение ЛН, возникает после периода грудного вскармливания, полностью формируется после 5-6 лет, иногда к 20-21 годам. Встречается часто. Около половины женщин с этим вариантом ЛН способны к усвоению лактозы во время беременности.	Носители генотипа СТ полиморфизма -13910Т>С гена МСМ6 (гетерозиготы) склонны к развитию вторичной ЛН. У гетерозигот СТ полиморфизма -22018Т>С гена МСМ6 ЛН встречается редко.
	Транзиторная ЛН недоношенных	Встречается у недоношенных детей, имеет преходящий характер. Поступление лактозы иногда сопровождается развитием метаболического ацидоза.	Физиологическая незрелость ферментных систем у недоношенных новорожденных (в 28 недель активность лактазы — около 40% от должной).
Вторичная	Инфекции ЖКТ	Любые инфекционные энтериты бактериальной и вирусной природы.	Вторичная мальабсорбция лактозы, возникающая при различных диффузных поражениях тонкой кишки. В результате атрофических процессов в слизистой оболочке происходит снижение синтеза не только лактазы, но и других кишечных дисахаридаз (сахаразы, трегалазы).
	Заболевания ЖКТ	Лимфома тонкой кишки, болезнь Крона и Уиппла, целиакия, дисбиозы кишечника, состояния после резекции тонкой кишки, синдром раздраженной кишки.	

восстанавливать ионы Cu^{2+} до Cu^+ (сахароза таким свойством не обладает). В обычных условиях содержание восстанавливающих сахаров в кале мало, его повышение свидетельствует о нарушении расщепления и/или всасывания углеводов. Метод Бенедикта пригоден для скрининга ЛН, а также контроля правильности подбора диеты.

— **Тест всасывания D-ксилозы** заключается в определении концентрации D-ксилозы в моче и сыворотке после приема внутрь 20 г D-ксилозы. Уменьшение выделения D-ксилозы с мочой менее 5 г за 5 часов или

снижение ее концентрации в крови менее 2 ммоль/л через 90 мин. после приема свидетельствуют о нарушении всасывания углеводов.

— **Дыхательный тест** используется в качестве косвенного метода диагностики ЛН. Суть теста заключается в измерении концентрации водорода в выдыхаемом воздухе (например, анализатором водорода ЛактофаН2) после приема 50 г (по другим источникам, 0,5-1 г/кг, всего до 12-25 г) лактозы. При ЛН непереварившаяся лактоза утилизируется анаэробной флорой толстой кишки с выделением водорода. Если

концентрация водорода превышает 20 ppm (0,002%), тест считают позитивным. Частота ложноположительных результатов дыхательного теста с лактозой достигает 20%.

— **Гликемический профиль после нагрузки лактозой** ранее использовался в качестве косвенного метода диагностики ЛН, хотя результаты не всегда могли быть однозначно интерпретированы из-за зависимости скорости всасывания углеводов от скорости опорожнения желудка и выработки инсулина. Для проведения теста пациент принимает натощак раствор лактозы в дозе 2 г/кг (но не более 50 г) в 400 мл воды, после чего через 20 и 40 минут после приема определяется концентрация глюкозы в плазме. Если концентрация глюкозы после приема лактозы возрастает менее чем на 1,1 ммоль/л по сравнению с исходной, можно думать о лактазной недостаточности.

— **Более специфичный вариант предыдущего нагрузочного теста** основан на приеме 50 г лактозы в 400 мл воды и определении через 40 минут галактозы в моче.

Инструментальный метод исследования — определение активности ферментов (дисахаридаз, в т.ч. лактазы) щеточной каемки энтероцитов — является «золотым стандартом» диагностики дисахаридазной недостаточности. В качестве материала для исследования используются биоптаты слизистой тонкой кишки или смывы, получаемые при эндоскопии. Метод позволяет точно идентифицировать дефектный фермент и выявить степень его дефицита. Этот метод также позволяет дифференцировать первичную и вторичную ЛН — при вторичной ЛН в биоптатах обнаруживаются признаки воспаления.

После того, как факт дефицита лактазы установлен, необходимо выявить причины его возникновения. Несмот-

ря на то, что первичная врожденная ЛН встречается довольно редко, до 10% населения планеты, ее легче всего диагностировать в современных лабораториях, имеющих оборудование для ПЦР.

Возникновение первичной врожденной ЛН (алактазии новорожденных) и первичной врожденной ЛН с поздним началом (у взрослых) связано с генетически детерминированным нарушением синтеза лактазы. Процесс утилизации лактозы зависит от активности фермента лактазы, или β -D-галактозидгидролазы, синтез которой кодируется единственным геном, локализованным на 2-й хромосоме. Первичная ЛН наследуется по аутосомно-рецессивному механизму.

В настоящее время доказано, что важным регуляторным элементом гена лактазы является область гена MCM6 (minichromosome maintenance complex component 6), и показана ассоциация полиморфизмов -13910 T>C и -22018 T>C с лактазной недостаточностью.

Гомозиготы CC обоих аллелей не способны к усвоению лактозы, **гомозиготы TT** легко усваивают лактозу и хорошо переносят молочные продукты; **гетерозиготы TC** имеют вариабельную активность лактазы, у них чаще развивается вторичная лактазная недостаточность.

Генетическое тестирование — исследование полиморфизмов -13910T>C и -22018T>C гена MCM6 — позволяет точно поставить диагноз первичной ЛН и провести дифференциальную диагностику со вторичной ЛН.

Переносимость молока появилась с распространением гена толерантности к лактозе. Считается, что этот ген возник в Северной Европе около 5000 гг. до н. э., где до сих пор встречается чаще всего (до 95% популяции переносят лактозу). Хорошая переносимость лактозы дала носителям этого гена преимущества в борьбе за выживание и позволила широко распространиться.

Среди регионов с высокой распространенностью генетического дефицита

лактазы — Северная Америка (индейцы), Африка, Юго-Восточная Азия, Китай, где частота дефекта фермента достигает 70-100%. Дефицит лактазы — редкое явление в Голландии (1%), Швеции (2%), скандинавских странах (до 5%, при этом в Финляндии — 18%); в Центральной и Южной Европе частота ЛН выше: 15-20% в Австрии, 15% в Германии, во Франции от 17% в северных регионах до 65% на юге; в Италии около 50% на севере и юге, до 19% в центральных областях. В популяции русских, проживающих на территории РФ, частота дефицита лактазы, по разным данным, 16-18%.

В старших возрастных группах частота ЛН выше, чем у младших возрастов.

ЛН взрослого типа возникает после окончания грудного вскармливания. Обычно снижение активности лактазы происходит к 3-5 годам и окончательно формируется в широком диапазоне возрастов, от 5-6 лет у японцев до 20-21 лет у финнов.

Лишь после исключения генетического механизма возникновения ЛН врач должен приступить к диагностике вторичной ЛН — выявление возбудителей инфекционных энтеритов, аутоиммунных поражений кишечника и опухолей (лимфома тонкой кишки). Кстати, не следует забывать о том, что вторичная ЛН нередко развивается на фоне длительно-го аллергического воспаления при аллер-

гии на любые пищевые продукты (и не только молочные).

Точная диагностика причины ЛН очень важна для проведения лечения.

При **первичной ЛН** в основе лечения пациента лежит снижение количества лактозы в пище вплоть до полного ее исключения. Параллельно с этим проводится терапия, направленная на коррекцию дисбактериоза кишечника, и другое симптоматическое лечение.

При **вторичной ЛН** основное внимание должно быть уделено лечению основного заболевания, а снижение количества лактозы в диете является временным мероприятием, которое проводится до восстановления слизистой оболочки тонкой кишки.

Основные критерии эффективности лечения ЛН:

- Клинические признаки: нормализация стула, уменьшение и исчезновение метеоризма и болей в животе.
- У детей: соответствующие возрасту темпы прибавки в весе, нормальные показатели физического и моторного развития.
- Снижение и нормализация экскреции углеводов (лактозы) с калом — нормализация теста Бенедикта

Мы надеемся, что применив изложенную информацию на практике, мы вместе сможем сделать жизнь пациентов с ЛН комфортной.

В настоящее время наша лаборатория выполняет ряд перечисленных в обзоре тестов: тест Бенедикта в кале, копрограмму и исследование обоих полиморфизмов гена MCM6 (-13910 T>C и -22018 T>C), ассоциированных с нарушениями обмена лактозы, методом ПЦР в реальном времени.

Приглашаем к сотрудничеству!

С НОВОМ
ГОДОМ!



2012

сеть медицинских центров



www.dnklab.ru