

МИНИСТЕРСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ  
ГРАЖДАНСКОЙ ОБОРОНЫ, ЧРЕЗВЫЧАЙНЫМ СИТУАЦИЯМ  
И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ СТИХИЙНЫХ БЕДСТВИЙ

---

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины  
имени А.М. Никифорова»

УТВЕРЖДАЮ  
Главный врач МЧС России  
член-корреспондент РАН  
Заслуженный врач РФ  
д.м.н. профессор



С.С. Алексанин

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО  
СИНДРОМА У ПОСТРАДАВШИХ В РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЯХ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**

*Руководство*

Санкт-Петербург  
2020

**Клинико-лабораторный алгоритм диагностики метаболического синдрома у пострадавших в радиационных авариях с использованием новых медицинских технологий:** руководство / Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России. СПб. : ООО «НПО ПБ АС», 2020. 64 с.

Авторы: Алексанин С.С., Астафьев О.М., Бычкова Н.В., Дрыгина Л.Б., Зыбина Н.Н., Неронова Е.Г., Пятибрат А.О., Родионов Г.Г., Рыбников В.Ю., Савельева М.В., Санников М.В., Тихомирова О.В., Шантырь И.И., Яковлева М.В.

Настоящие методические рекомендации подготовлены в рамках НИР «Особенности клинико-лабораторного алгоритма диагностики метаболического синдрома у пострадавших в радиационных авариях в отдаленном периоде с использованием новых медицинских технологий» (п. 31 раздела II Плана научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ МЧС России на 2019 год и на плановый период 2020 и 2021 годов, утвержденного приказом МЧС России от 02.04.2019 № 195 с изменениями от 26.09.2019 № 511).

В рекомендациях представлены современные данные по распространенности метаболического синдрома в мировом аспекте, проведен эпидемиологический анализ состояния здоровья у лиц, подвергшихся радиационному воздействию на ЧАЭС в отдаленном периоде, показана актуальность изучения механизмов формирования метаболических изменений у данной категории больных. Подробно рассмотрены современные высокотехнологичные методы клинической лабораторной диагностики для оценки инкреторных факторов жировой ткани, оксидативного стресса, микроэлементов, пристеночной микробиоты кишечника, генодиагностики особенностей обмена веществ – компонентов метаболического синдрома.

Представленный клинико-лабораторный алгоритм диагностики метаболического синдрома может быть использован в качестве дополнительного диагностического метода при оказании медицинской помощи пострадавшим от радиационного воздействия, а также в образовательном процессе при реализации программ высшего (аспирантура, ординатура) и дополнительного профессионального образования для повышения квалификации врачей-клинической лабораторной диагностики, терапевтов, врачей-профпатологов.

*Рецензенты:*

**Миннуллин И.П.** – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой скорой медицинской помощи и хирургии поврежденных ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Минздрава России, директор института сестринского дела;

**Эмануэль В.Л.** – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом медицинской техники и метрологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. Акад. И.П. Павлова» МЗ РФ.

## СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ.....	стр. 5
1	ЭПИДЕМИОЛОГИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА	11
1.1	Эпидемиология (распространенность) метаболического синдрома.....	11
1.2	Эпидемиологический анализ состояния здоровья и формирования метаболического синдрома у лиц, подвергшихся радиационному воздействию на Чернобыльской АЭС, в отдаленном периоде	14
2	НОВЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (описание методик)	23
2.1	Методика масс-спектрометрии и оценка компонентов метаболического синдрома (параметров оксидативного стресса, витаминов, жирных кислот, микроэлементов.....	23
2.2	Генодиагностика особенностей обмена веществ при метаболическом синдроме.....	30
2.3	Новые маркеры десинхроноза и их роль в формировании метаболического синдрома.....	33
2.4	Методика оценки популяций Т- и В-регуляторных клеток и их роль в формировании и поддержании метаболического синдрома.....	37
3	КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПОСТРАДАВШИХ В РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЯХ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ.....	41
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	51
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	58

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АД	– артериальное давление
ВЖД	– висцеральная жировая дисфункция
ВЦЭРМ	– Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
ГБ	– гипертоническая болезнь
ДАД	– диастолическое артериальное давление
ИАГ	– индекс апноэ/гипоапноэ
ИМТ	– индекс массы тела
ИР	– инсулинорезистентность
КЦЖК	– короткоцепочечные жирные кислоты
ЛПА	– ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС
МДА	– малоновый диальдегид
МС	– метаболический синдром
НАЖБП	– неалкогольная жировая болезнь печени
ОТ	– окружность талии
ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
САД	– систолическое артериальное давление
СД	– сахарный диабет
СОАС	– синдром обструктивного апноэ сна
ТГ	– триглицериды
ХС ЛПВП	– холестерин липопротеинов высокой плотности
hs СРБ	– высокочувствительный С-реактивный белок
РАI-1	– ингибитор активатора пепсиногена-1
ТМАО	– N-оксид триметиламин

## **ВВЕДЕНИЕ**

ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России (далее – ВЦЭРМ), созданный 12 сентября 1991 года как Всероссийский центр экологической медицины для оказания медицинской помощи пострадавшим в аварии на ЧАЭС и вошедший в 1997 году в структуру МЧС России, является головным в Российской Федерации учреждением по оказанию медицинской помощи ликвидаторам последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС и гражданам, пострадавшим в радиационных катастрофах (Постановление Совета Министров – Правительства РФ от 19.10.1993 № 2077-р.).

По данным на 01.10.2015 г. на учете Национального радиационно-эпидемиологического регистра состоит 710 697 человек, из числа пострадавших в аварии на ЧАЭС, в том числе - 197 123 ЛПА.

ЛПА непосредственно участвовали в мероприятиях по ликвидации последствий аварии на ЧАЭС (военнослужащие, сотрудники МВД России, пожарные, гражданский персонал, командированный в зону катастрофы) и являются основной группой риска среди лиц, подвергшихся радиационному воздействию. Каждый из них имеет 12-15 соматических заболеваний, течение которых отягощено метаболическими нарушениями, что и определило значимость данной работы.

В последние годы медицинская помощь ЛПА на ЧАЭС проводится в рамках Программ (2013-2016 гг.) и мероприятий (2016-2020 гг.) Союзного государства Россия-Беларусь с целевым финансирование только лечения, включающего оказание специализированной медицинской помощи, в том числе высокотехнологичной, и медицинской реабилитации в стационарах ВЦЭРМ. Проведение углубленного клинико-лабораторного обследования этими мероприятиями не предусмотрено и явилось целью данного исследования. Новые научные данные, полученные в ходе углубленного клинико-лабораторного обследования ЛПА на ЧАЭС о влиянии метаболических нарушений на формирование соматических заболеваний и их хронизацию крайне важны для организации лечебно-диагностической помощи ЛПА на ЧАЭС.

Актуальность работы обусловлена высоким уровнем развернутых проявлений метаболического синдрома, отягощающего течение соматической (терапевтической) патологии, прежде всего болезней системы кровообращения, болезней органов пищеварения, болезней эндокринной системы у ЛПА на Чернобыльской АЭС [1].

Для обеспечения достаточного уровня надежности диагностирования метаболических нарушений необходимы комплексные методы клинко-лабораторных обследований, которые включают оценку микроэлементов, витаминов, основных параметров обменных процессов; анализ популяции Т- и В-регуляторных клеток в периферической крови и состояние антиоксидантной системы; определение состояния микробиоценоза толстого кишечника; оценку выраженности микрососудистого поражения головного мозга; выявление нарушений когнитивных, эмоционально-волевых функций и нарушений циркадианных ритмов, оценку гормонального статуса и адаптационных резервов организма с использованием новых медицинских технологий, диагностические критерии которых предстояло определить.

Согласно современным представлениям, метаболические нарушения сопровождаются определенным набором патологических симптомов. Ранее G.M. Reaven (1988-1993 гг.) доказал не случайность и взаимообусловленность одновременного наличия нарушенной глюкозной толерантности, дислипидемии, повышения артериального давления и увеличения массы тела, в основе чего лежит нарушение взаимодействия инсулина с рецепторами на клеточной мембране. Биохимическим результатом этой ситуации становится существенное снижение продукции основного макроэрга – АТФ, что приводит к энергетическому голоданию различных органов и тканей, на фоне чего существенно снижается резистентность организма к действию патогенных и неблагоприятных факторов среды и деятельности.

Этот набор признаков называют метаболическим синдромом (МС), и считается доказанным, что он является предиктором большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы и нарушений обмена веществ. Поэтому в

настоящее время прилагаются серьезные усилия для разработки методов коррекции метаболического синдрома, и необходимо отметить, что реальных успехов в этом направлении достигнуто не много.

В развитии различных соматических заболеваний и хронизации патологических процессов различной природы важная роль принадлежит нарушениям обмена веществ, в первую очередь, углеводов и липидов, субстраты которых являются энергетической основой саногенетических процессов. Известно, что очень многие заболевания ассоциируются с повышением уровня глюкозы, холестерина и триглицеридов в крови, однако их метаболизм протекает крайне неэффективно, что, в конечном счете, приводит, с одной стороны, к активизации глюкозотоксических эффектов хронической гипергликемии, а с другой – развитию агрессивной дислипидемии, патологическому увеличению массы тела, формированию гипертензии и атеросклеротических процессов, в итоге, возникающий «метаболический хаос» приводит к сердечно-сосудистой катастрофе и к другим патологическим процессам (Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК), 2009).

Как правило, МС возникает намного раньше будущих болезней, и является обратимым состоянием. Однако при развернутой клинической картине заболеваний, МС усугубляет их течение. Поэтому клинико-лабораторная оценка факторов, влияющих на обмен веществ, является актуальной проблемой современной медицины.

В развитых странах, где большинство населения ведет малоподвижный образ жизни, 10-25% людей старше 30 лет страдают от данных нарушений. В старшей возрастной группе показатели возрастают до 40%. МС поражает преимущественно мужчин. Женщинам эта болезнь грозит во время и после менопаузы. Распространенность МС в нашей стране соответствует общемировым тенденциям. В России распространенность МС варьирует по разным оценкам от 20 до 35%, с возрастом число больных увеличивается.

Своевременное выявление пациентов с МС имеет большое значение, так как заболевание может быть обратимым, то есть при соответствующем лечении

и коррекции образа жизни, можно достичь исчезновения или снижения выраженности основных его проявлений, таких как атеросклероз и сахарный диабет (СД) 2 типа.

Диагноз «метаболический синдром» не вошел в Международную классификацию болезней 10-го пересмотра (ВОЗ, 1998), так как понятие МС и его критерии были опубликованы позднее.

Традиционно клиническими критериями метаболического синдрома являются:

- повышение уровня триглицеридов (ТГ);
- снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП);
- повышение артериального давления (АД);
- повышение уровня глюкозы плазмы.

Унифицированные критерии диагностики МС были предложены представителями международных ассоциаций IDF, NHLBI, АНА, WHF, IAS и IASO в ноябре 2009 г. [2]. Единая международная классификация, прежде всего, направлена на преодоление расхождений в оценке распространенности МС.

Международные критерии МС следующие:

Абдоминальное ожирение (окружность талии (ОТ) > 80 см у женщин и > 94 см у мужчин); уровень ТГ > 1,7 ммоль/л (150 мг/дл) или медикаментозная терапия гипертриглицеридемии; снижение концентрации липопротеинов высокой плотности (ЛПВП): < 1,0 ммоль/л (40 мг/дл) у мужчин, < 1,3 ммоль/л (50 мг/дл) у женщин или медикаментозная терапия дислипидемии; повышенный уровень АД: > 130/85 мм рт. ст. или прием антигипертензивной терапии пациентом с артериальной гипертензией в анамнезе; повышенный уровень гликемии натощак: > 5,6 ммоль/л (100 мг/дл) и > 7,8 ммоль/л через 2 часа после перорального глюкозотолерантного теста или прием сахароснижающей терапии. При наличии любых 3 из перечисленных выше критериев диагностируется МС.

Наиболее тесно связаны с МС абдоминальная форма ожирения, которая клинически проявляется увеличением ОТ.

В современной научной литературе описаны несколько патогенетических путей развития МС – через висцеральную жировую дисфункцию (ВЖД) и инсулинорезистентность (ИР). Механизм формирования МС через ВЖД более ранний и он будет сложнее поддаваться коррекции, чем МС, индуцированный потерей чувствительности тканей к инсулину. В связи с чем, важно дифференцировать природу возникновения МС.

Сегодня в качестве новой компоненты МС стали рассматривать неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП). НАЖБП тесно связана с ожирением и метаболическими факторами, входящими в МС. У большинства больных НАЖБП представлена в форме относительно доброкачественного стеатоза или дистрофии печени. Согласно рекомендациям Европейской ассоциации по изучению печени, у всех лиц со стеатозом необходимо исключить МС. Высокая частота развития НАЖБП при МС обусловлена общими патогенетическими механизмами, связанными с ИР.

В последние годы получены убедительные данные о том, что МС и сопутствующие ему заболевания, взаимосвязаны с десинхронозом метаболического и энергетического гомеостаза организма, возникающим при нарушении процесса «сон-бодрствование» и дефиците сна [3]. Ведущую роль в синхронизации ритма сон-бодрствование играет мелатонин. Для большинства людей характерно возрастное снижение мелатонина, что способствует формированию возрастного десинхроноза. Жировая ткань регулирует энергетический метаболизм. Адипоциты жировой ткани вырабатывают лептин, адипонектин и PAI-1 – адипонектины, которые способствуют инсулинозависимому поглощению глюкозы мышцами. При МС выявлено повышение лептина, PAI-1 и снижение адипонектина. PAI-1 подавляет активность плазминогена, таким образом, регулирует гемостаз. Имеются единичные работы, в которых продемонстрировано воздействие мелатонина на рецепторы адипоцитов. Вместе с тем, отсутствуют убедительные данные, позволяющие в клинической практике использовать маркеры десинхроноза для формирования групп риска развития МС.

Еще одним новым направлением исследований в области изучения механизмов формирования МС является исследование микробиоты кишечника [4]. В ряде работ показано, что от микробиоты кишечника зависит выраженность ИР и системного воспаления при МС. В развитии ИР и МС имеет значение соотношение профиля бактерий *Firmicutes/Bacteroides*. При снижении представительства в толстой кишке бактероидов, лакто- и бифидобактерий нарушается метаболизм холестерина, липидов, что взаимосвязано с МС. Эндотоксины, вырабатываемые при дисбиозе в кишечнике, способствуют развитию воспаления при НАЖБП.

Окислительный стресс может способствовать развитию дисбиоза кишечника при котором начинают активно размножаться условно-патогенные микроорганизмы при снижении численности бактероидов и бифидобактерий. Дисбиоз и окислительный стресс часто сопровождают НАЖБП.

Методика масс-спектрометрии, утвержденная в 2013 г. стала новым методом оценки пристеночной микробиоты кишечника по микробным маркерам в крови пациентов. Хроматографическими методами также можно провести оценку параметров окислительного стресса – конечных продуктов окисления белковых молекул и липидов (8-гидрокси-2-дезоксигуаназин и малоновый диальдегид в моче) и естественных антиоксидантов, содержащихся в пищевых продуктах (витаминов и ненасыщенных жирных кислот в крови).

Исследование этих факторов с помощью новых медицинских технологий позволит со временем модифицировать диагностические критерии МС и предоставит дополнительные клинические данные по пациентам. Использование новых медицинских технологий поможет в изучении патогенетических механизмов метаболического синдрома.

# 1. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

## 1.1. Эпидемиология (распространенность) метаболического синдрома

Метаболический синдром (МС) – это патологическое состояние характеризующееся наличием инсулинорезистентности, абдоминального ожирения, атерогенной дислипидемии и артериальной гипертензии (АГ).

Международные сообщества предлагают рассматривать МС как новое неинфекционное заболевание, которое определяет основную угрозу здоровью в современном мире. Причиной такого определения является нарастающая распространенность этого состояния, и связь МС с риском развития сахарного диабета и сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих лидирующее место среди причин инвалидизации и смертности. Подчеркивается, что для изменения ситуации необходимы глобальные государственные, социальные усилия, направленные на детальное изучение патогенеза и причин пандемии МС. Разработка ранних критериев диагностики является важнейшей медико-социальной задачей.

Изучение данной патологии началось в середине прошлого века, в начале 80-х годов многие авторы отмечали в своих работах взаимосвязь между АГ, гиперлипидемией, гиперинсулинемией и ожирением. Однако основоположником концепции метаболического синдрома считается профессор Стенфордского Университета Джеральд Ривен (Gerald Reaven), который в 1988 году впервые доказал, что сочетание артериальной гипертензии, нарушения толерантности к глюкозе, гиперинсулинемии, гипертриглицеридемии и снижение липопротеинов высокой плотности возникает в результате развития общего патогенетического механизма - снижения чувствительности тканей к инсулину. Комплекс этих нарушений был назван «синдромом X», клиническое значение которого обусловлено его ролью в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих лидирующее место среди причин инвалидизации и смертности.

В литературе преимущественно представлены популяционные данные по распространенности отдельных компонентов МС. Так согласно глобальной оценке распространенности ожирения, проведенной в 195 странах, распространенность ожирения с 1980 по 2015 г. увеличилась в 2 раза в 73 странах, причем рост распространенности ожирения у детей был выше, чем у взрослых. Показано, что в период 1990 – 2015 гг. смертность, связанная с увеличенным индексом массы тела (ИМТ), возросла на 28,3 %. Ежегодный прирост ИМТ в США в период 1988 – 2010 составил 0,37 %, а ежегодный прирост ОТ составил 0,37 % для мужчин и 0,27 % для женщин. В настоящее время проблема ожирения одинаково значима, как для развитых, так и для наиболее бедных стран. Распространенность избыточного веса и ожирения в Китае в период с 1992 по 2002 гг. возросла с 14,6 % до 21,8 % .

Распространенность диабета также имеет неуклонный темп роста. Согласно опубликованным в 2017 г данным 12,2 % взрослого населения США страдают диабетом. Частота СД растет с возрастом достигая 25,2 % среди населения старше 65 лет. Согласно данным IDF глобальная распространенность диабета на 2015 г. составляет 10,4 % (415 млн.) и достигнет 11,3 % (642 млн.) к 2040 г. Наивысшая распространенность диабета отмечается в Северной Америке (11,5 %).

В отношении МС не проводилось таких крупномасштабных исследований по распространенности, как для СД и ожирения, а количественные показатели значительно разнятся в зависимости от используемых критериев. В России его распространенность варьирует, по разным оценкам, от 20 до 35 %. Распространенность МС в Малайзии при использовании трех классификаций варьирует от 12,4 % до 32,2 %. Согласно другому эпидемиологическому исследованию распространенность МС составила 32,1 % [WHO], 34,3 % [NCEP АТР III], 37,1 5 [IDF] 42,5 % [IDF/АНА/NYLB1] в зависимости от используемых критериев. Распространенность МС в Китае по данным на 2017 г. составила около 15,5 %. Распространенность МС в США достигает 1/3 взрослого населения. Мета анализ широкомасштабных исследований показал, что в популяции

взрослого населения МС выявляется у 10-30 % населения в зависимости от используемых критериев диагностики МС. Несмотря на отсутствие глобальных исследований по метаболическому синдрому, расчетные данные дают основание полагать, что 25 % населения в мире соответствуют критериям МС в настоящее время.

Прогрессивный рост распространённости МС связывают с нерациональным образом жизни, снижением физической активности, неправильным и избыточным питанием с употреблением высококалорийной пищи с низким содержанием клетчатки. Все больше данных свидетельствуют о значительной роли дефицита сна и десинхроноза в развитии МС. Важным является не только количество употребленной пищи, но и время ее приема, так как синтез биологически активных веществ регулирующих обмен глюкозы и липидов имеет циркадианный ритм. Показано, что дефицит сна и снижение ночной секреции мелатонина ассоциировано с развитием МС. Не только дефицит сна, но и нарушения дыхания во сне (синдром обструктивного апноэ сна) являются значимыми для прогрессирования ожирения и развития МС. Известно, что СОАС тяжелой степени ассоциирован с выраженной редуцией глубокого дельта сна, во время которого синтезируются соматотропный гормон, важный для регуляции обменных процессов. Новыми являются представления о роли микробиоты в развитии МС. Показано, что здоровый микробиом способствует профилактике развития сердечно-сосудистых заболеваний, МС и СД. Активно ведутся исследования направленные на разработку методик диагностики нарушений и нормализации микробиома человека. В дополнение к этому исследуется значение многих лекарственных препаратов, витаминов и микроэлементов, которые могут влиять на развитие МС. Получены данные о положительной роли витамина Д в предотвращении развития МС.

Своевременное выявление пациентов с МС имеет большое значение, так как заболевание может быть обратимым, то есть при соответствующем лечении и коррекции образа жизни, можно достичь исчезновения или снижения выраженности основных его проявлений, таких как атеросклероз и сахарный

диабет. Профилактика и лечение МС должно основываться на современных представлениях о патогенезе, что требует разработки клинико-лабораторного алгоритма диагностики с учетом всех новейших технологий.

## **1.2. Эпидемиологический анализ состояния здоровья и формирования метаболического синдрома у лиц, подвергшихся радиационному воздействию на Чернобыльской АЭС, в отдаленном периоде**

Программа эпидемиологического исследования включала сравнительный анализ частоты выявленной в ходе обследования патологии, её структуры, сочетаемости заболеваний разных классов и заболеваний того же класса болезней.

Провели анализ результатов медицинского обследования 101 ЛПА из г. Санкт-Петербург, госпитализированных в клиники ВЦЭРМ в 2019 г. Средний возраст пациентов составил  $64,1 \pm 0,76$  лет, с колебаниями от 47 до 85 лет. Все ЛПА были разделены на две группы: с МС (1-ая группа) и без него (2-ая группа). Группы ЛПА представлены мужчинами и были сопоставимы по возрасту ( $p=0,05$ ), средний возраст  $64,4 \pm 1,1$  (1-ая группа) и  $62,2 \pm 1,3$  лет (2-ая группа), соответственно.

Анализ количества выявленных у ЛПА заболеваний показал, что общее их число колеблется от 2 до 17 заболеваний, приходящихся на каждого ЛПА из обследуемой группы. При этом наиболее частым вариантом явилось наличие у ЛПА от 7 до 9 зарегистрированных заболеваний (у 38,6 % ЛПА), от 2 до 6 заболеваний выявлено у 25,8 %, 10 заболеваний и более – у 35,6 % ЛПА.

При раздельном анализе по классам болезней установлено следующее:

- болезни системы кровообращения (БСК) выявлены у 88,1 % ЛПА;
- болезни органов пищеварения (БОП) - у 77,2 %;
- болезни эндокринной системы – у 67,3 %;
- болезни костно-мышечной системы – у 66,3 %;
- болезни мочеполовой системы – у 47,5 %;

- болезни органов дыхания (БОД), болезни органов чувств, болезни нервной системы, прочие заболевания – у 16,8 – 25,7 %.

За исключением БСК и БОП единственное заболевание у ЛПА относилось к следующим классам:

- болезни эндокринной и мочеполовой систем – в 61 % случаев;
- болезни костно-мышечной системы – в 71,6 % случаев;
- БОД – в 76 % случаев;
- болезни органов чувств, болезни нервной системы, «прочие заболевания» - в 80 – 94,1 % случаев.

Этот показатель для БСК составил 12,5 %, для БОП – 28,2 %. Всего же по этим классам болезней зафиксировано одновременное наличие до 6 заболеваний класса БСК и до 9 заболеваний класса БОП. При этом самым частым вариантом одновременного наличия у ЛПА БСК стало наличие у них 3 заболеваний (у 30,3 %), а для БОП – 1 случая заболевания (у 28,2 %).

Для изучения эпидемиологических характеристик формирования у ЛПА МС проведен сравнительный анализ частоты, структуры и сочетания выявленной патологии различных классов болезней у ЛПА 1-ой и 2-ой групп.

Установлено, что структура числа выявленных заболеваний как в целом, так и в группах 1 и 2 не имела статистически значимых различий, за исключением болезней эндокринной системы. Так, удельный вес лиц, имеющих одновременно 2 и более заболеваний эндокринной системы, у ЛПА без метаболического синдрома составил 6,7 %, в то время как у ЛПА с метаболическим синдромом этот показатель (63%) оказался почти в 10 раз больше ( $p=0,027$ ).

Сравнительный анализ частоты выявленных заболеваний у ЛПА 1 и 2 групп показал, что общая распространенность и распространенность болезней большинства ведущих классов болезней у ЛПА с МС больше в 1,1 – 1,2 раза, но эти различия не достигают статистической значимости ( $p>0,05$ ). Исключение составили болезни эндокринной системы, уровень которых у ЛПА с МС оказался в 2 раза больше ( $p < 0,05$ ) (Рис.1 а, б).

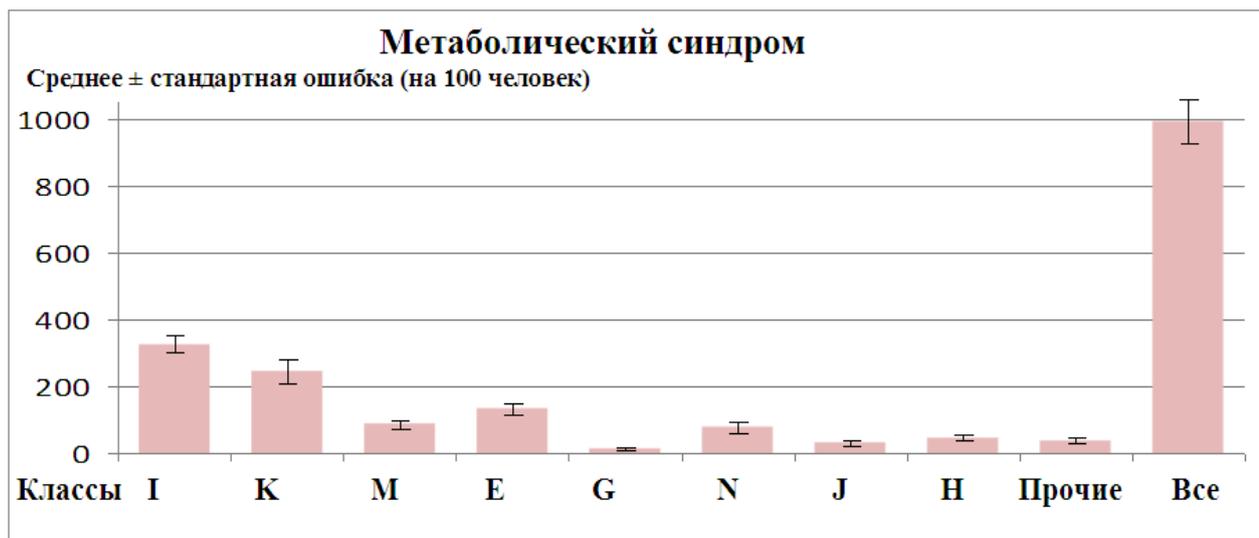
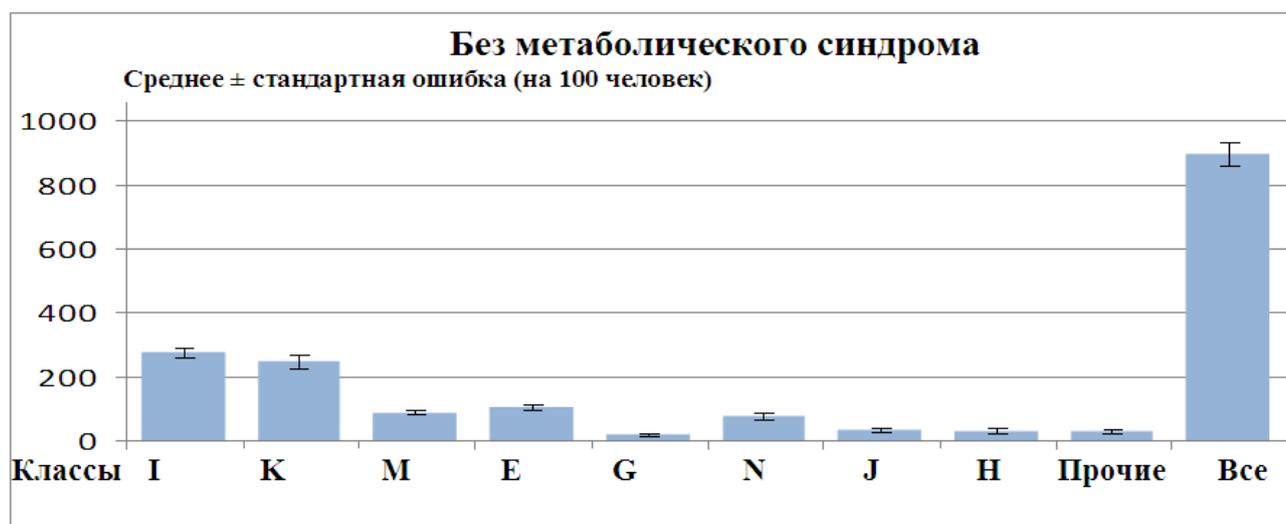


Рис. 1. а) Распространенность заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом на 100 чел.



Примечание: обозначение классов болезней см. в табл. 1.

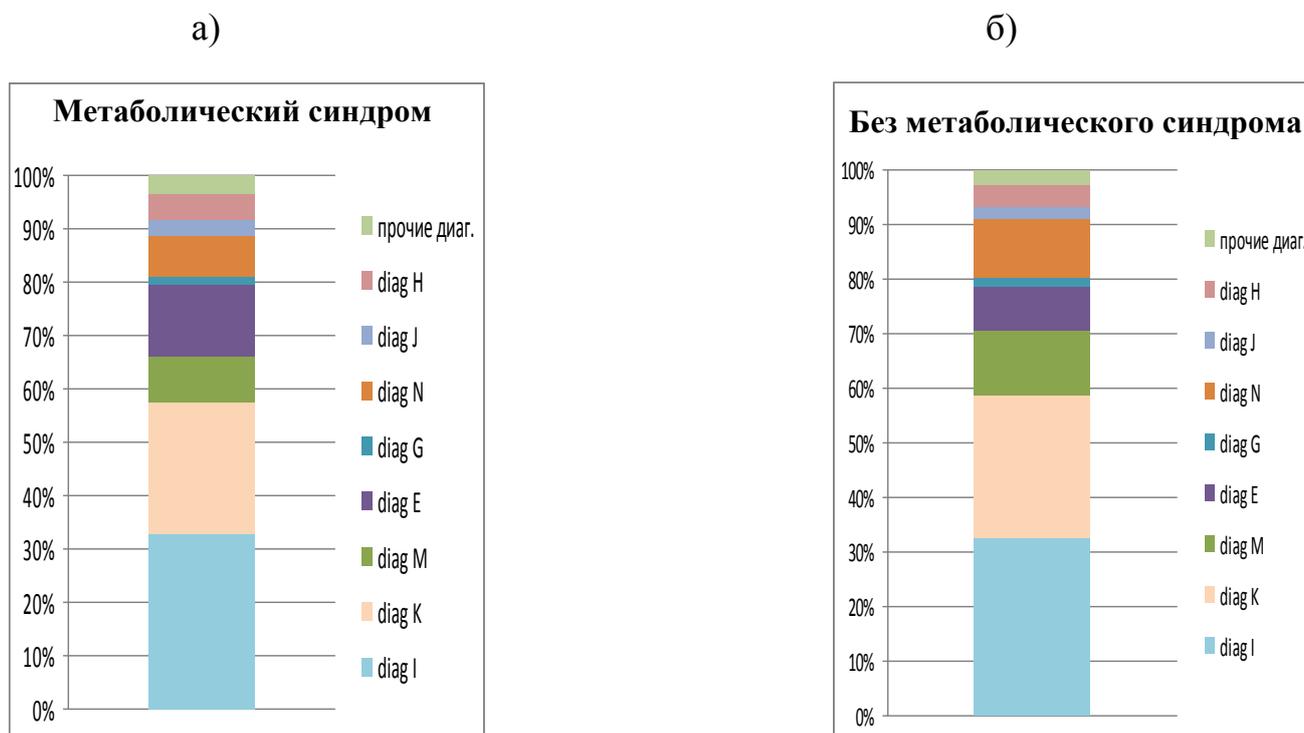
Рис. 1. б) Распространенность заболеваний у ЛПА без метаболического синдрома на 100 чел.

Таблица 1

## Обозначение классов болезней по МКБ-10 у ЛПА на ЧАЭС

Класс болезней	Код по МКБ-10
Болезни системы кровообращения	I 0-99
Болезни органов пищеварения	M 0-99
Болезни костно-мышечной системы	K 0-99
Болезни мочеполовой системы	G 0-99
болезни органов чувств	H 0-99
Болезни нервной системы	N 0-99
Психические расстройства	F 0-99
Болезни органов дыхания	J 0-99
Болезни эндокринной системы	E 0-99
Болезни кожи и подкожной клетчатки	L 0-99
Инфекционные и паразитарные болезни	A 0-B99
Новообразования	C 0-D49
Болезни крови	[D50,D99]
Травмы и отравления	[S 0,T99]
Врожденные аномалии	[Q 0,R99]
Внешние причины заболеваемости и смертности	[V 0,Y99]

Структуры выявленных заболеваний у ЛПА 1 и 2 групп не имели значимых различий ( $p > 0,05$ ). При этом первые два места в структуре обеих групп заняли соответственно БСК и БОП, на третьем месте у ЛПА с МС находятся болезни эндокринной системы, а в группе сравнения – болезни костно-мышечной системы (рис.2.).

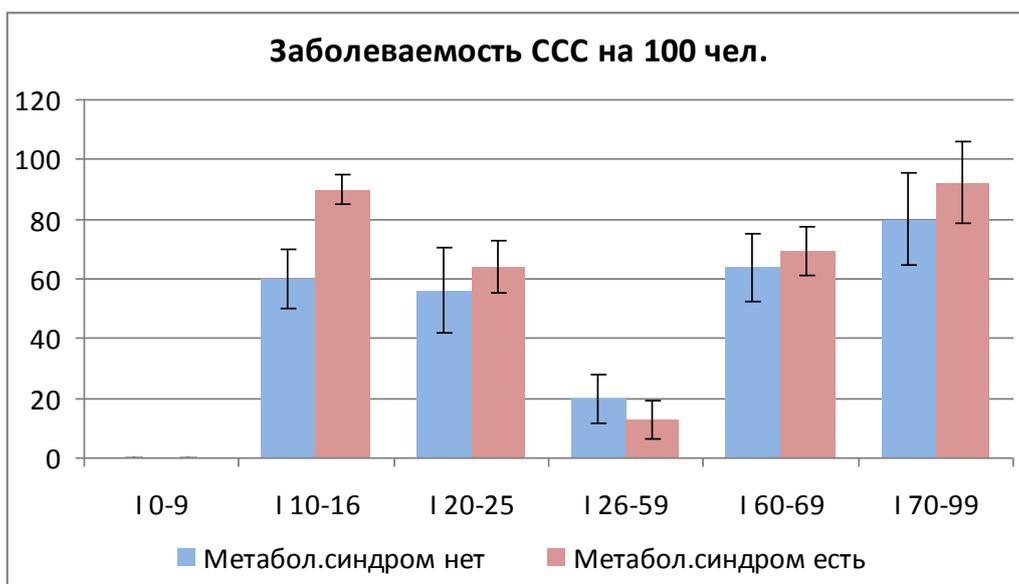


Примечание: обозначение классов болезней в соответствии с табл. 1.

Рис. 2. Структура выявленных заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом (а) и без метаболического синдрома (б) по классам болезней

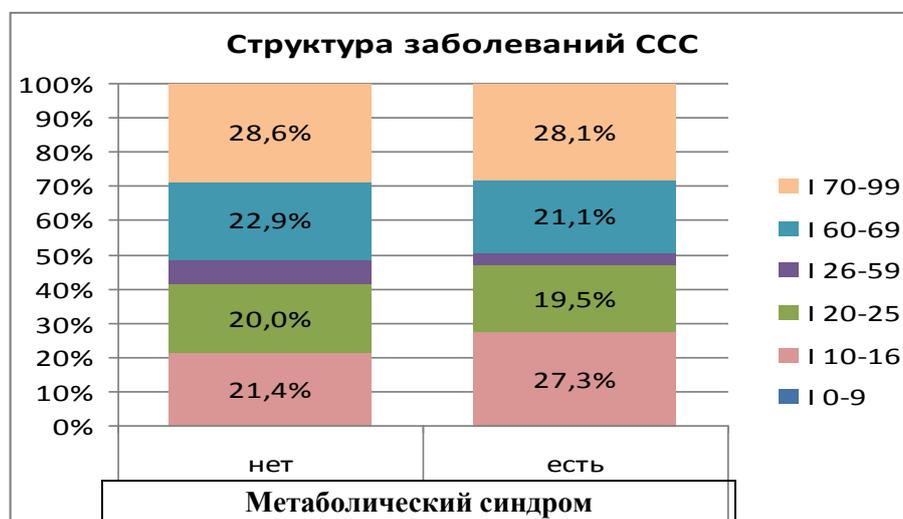
Поскольку среди индикаторов МС основным является абдоминальное ожирение (т.е. нарушение обмена), а дополнительными маркерами – артериальная гипертензия, нарушения углеводного и жирового обменов, то особое внимание при анализе было уделено БСК и болезням эндокринной системы.

Изучение частоты выявления болезней отдельных блоков БСК выявило достоверное в 1,5 раза ( $p = 0,01$ ) различие только показателей гипертонической болезни (ГБ) у ЛПА 1 и 2 групп (рис. 3). Частота выявления болезней других блоков этого класса статистически не различалась ( $p$  от 0,3 до 0,66). Структура этого класса болезней по блокам также не имеет статистически значимого ( $\chi^2=1,64$  при критическом значении равном 9,49) различия (рис. 4).



Примечание: I 0-9 - ревматические болезни сердца; I 10-16 – ГБ; I 20-25 – ИБС; I 26-59 – другие болезни сердца; I 60-69 – ЦВБ; I 70-99 – болезни кровеносных сосудов.

Рис. 3. Распространенность БСК по блокам болезней среди ЛПА с метаболическим синдромом и без синдрома (на 100 чел.)



Примечание: I 0-9 - ревматические болезни сердца; I 10-16 – ГБ; I 20-25 – ИБС; I 26-59 – другие болезни сердца; I 60-69 – ЦВБ; I 70-99 – болезни кровеносных сосудов.

Рис. 4. Структура БСК по блокам заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом и без синдрома

Сравнительный анализ класса болезней эндокринной системы позволил установить, что СД у ЛПА с метаболическим синдромом выявлен в 2,7 раза чаще ( $p=0,008$ ), чем в группе ЛПА без метаболического синдрома. Заболевания щитовидной железы и ожирение зафиксированы только у ЛПА с метаболическим синдромом (рис.5).

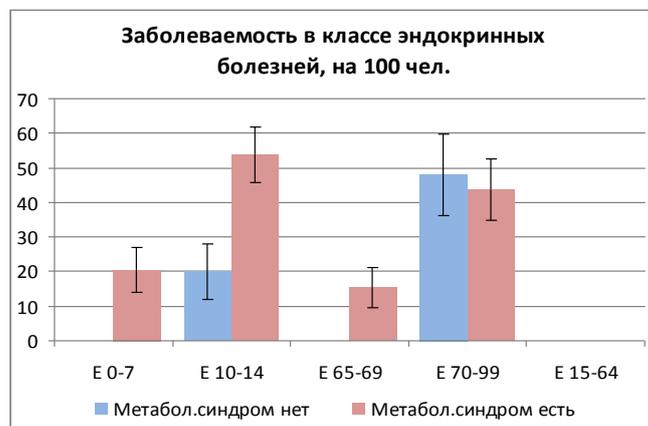


Рис. 5. Распространенность болезней эндокринной системы по блокам заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом и без синдрома

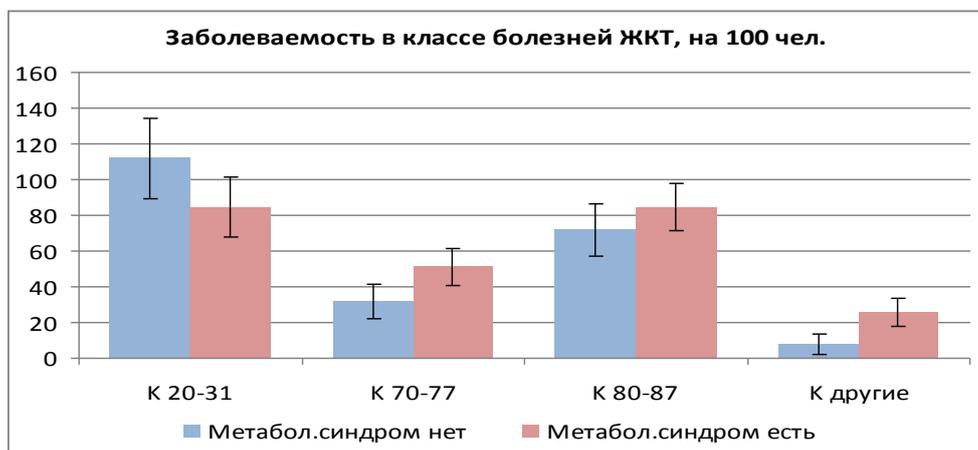
Структура класса болезней эндокринной системы двух сопоставляемых групп ЛПА имеет принципиальные различия ( $\chi^2=9,36$  при критическом значении – 7,81). Так, у ЛПА без метаболического синдрома все болезни этого класса представлены только нарушениями обмена веществ (70,6 %) и СД (29,4 %) и отсутствуют у ЛПА этой группы заболевания щитовидной железы и ожирение (рис. 6).



Рис. 6. Структура заболеваний эндокринной системы по блокам заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом и без синдрома

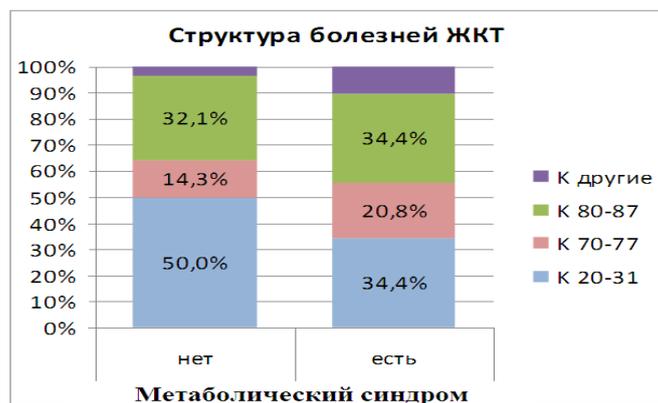
Анализ распространенности и структуры БОП по блокам заболеваний не выявил статистически значимых различий по этим параметрам ЛПА двух сопоставляемых групп:

- значение  $p$  по распространенности колебалось от 0,117 до 0,583 (рис. 7);
- $\chi^2=5,13$  при критическом значении 7,81 (рис. 8).



Примечание: К 20-31- болезни пищевода, желудка и 12-перстной кишки; К 70-77- болезни печени; К 80-87- болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы

Рис. 7. Распространенность БОП по блокам заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом (1-ая группа) и без синдрома (2-ая группа)



Примечание: обозначения блоков заболеваний см. на рис. 7.

Рис. 8. Структура БОП по блокам заболеваний у ЛПА с метаболическим синдромом и без синдрома

Анализ одновременного наличия у ЛПА двух сопоставляемых групп (с метаболическим синдромом и без синдрома) болезней 3 самых распространенных классов (БСК, БОП и эндокринной системы) показал, что их частота оказалась принципиально близкой у ЛПА с метаболическим синдромом и без него: 46,2 и 52 % ЛПА соответственно ( $p=0,42$ ). Также не выявлено статистически значимого различия среднего числа заболеваний этих классов на одного ЛПА с метаболическим синдромом и без него: по  $7,08\pm 0,46$  и  $5,72\pm 0,45$  заболеваний, соответственно при  $p=0,06$ .

В результате проведенного эпидемиологического исследования установлено, что общий показатель распространенности заболеваний, распространенность болезней отдельных классов болезней, а также структуры выявленной патологии у ЛПА с метаболическим синдромом и без метаболического синдрома статистически не различались. Исключения составили болезни эндокринной системы, которые у ЛПА с метаболическим синдромом выявлены в 2 раза чаще, как и СД; показатель ГБ при метаболическом синдроме был в 1,5 больше; у ЛПА без метаболического синдрома заболевания щитовидной железы и случаи ожирения не зарегистрированы.

Результаты эпидемиологического исследования свидетельствуют о целесообразности расширения спектра лабораторных исследований по выявлению нарушений углеводного и жирового обмена для наиболее ранней диагностики МС у лиц, подвергшихся радиационному воздействию, с целью повышения эффективности профилактических и ранних реабилитационных мероприятий.

## **2. НОВЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (описание методик)**

### **2.1. Методика масс-спектрометрии и оценка компонентов метаболического синдрома (параметров оксидативного стресса, витаминов, жирных кислот, микроэлементов)**

Методика масс-спектрометрии использовалась для исследования конечного продукта окисления липидов (малоновый диальдегид - МДА) и естественных антиоксидантов, содержащихся в пищевых продуктах:

- жирорастворимых витаминов (А, Е, 25-ОН-Д3);
- ненасыщенных жирных кислот.

Измерение концентрации МДА проводили в пробах плазмы крови [5]. Для этого использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием и оборудование: жидкостной хроматограф типа «1200 Series» фирмы «Agilent Technologies» с диодной матрицей (рис.1). Идентификацию аналита осуществляли по времени удерживания и спектру, регистрируемому с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 400-600 нм. Для обнаружения аналита проводили дериватизацию с использованием тиобарбитуровой кислоты. Подвижная фаза: ацетонитрил-вода, градиентный режим элюирования; диодно-матричный детектор. Колонка «Zorbax SB C18» фирмы «Agilent» (2,1×150 мм, 3,5 мкм) с соответствующей предколонкой. Температура колонки и детектора - 30°C,  $\lambda=532$  нм, скорость потока – 0,5 мл/мин, ввод пробы – 20 мкл, время анализа – 6 мин. Количественное определение проводили методом градуировочного графика.



Рис. 1. Высокоскоростной жидкостный хроматограф «1200» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным детектором.

Типичная хроматограмма образца плазмы крови при определении малонового диальдегида представлены на рис. 2.

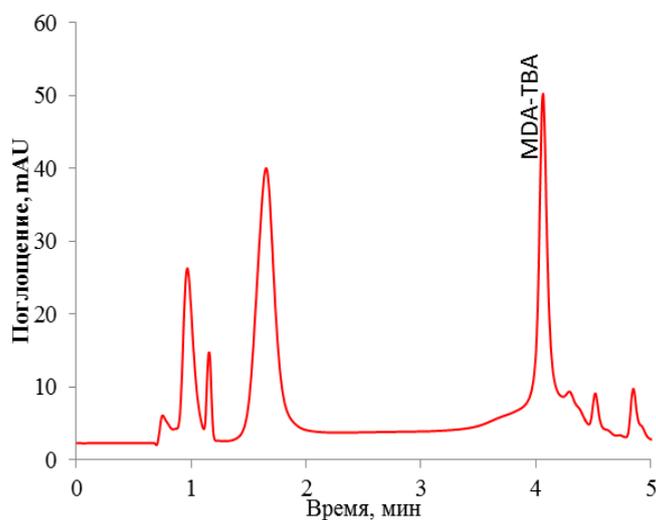


Рис. 2. Хроматограмма образца плазмы крови при определении малонового диальдегида. где - *MDA-TBA* – *триметиновый комплекс малонового альдегида и тиобарбитуровой кислоты.*

Измерение массовой концентрации жирорастворимых витаминов А, Е и 25 ОН-Д3 в пробах плазмы крови проводилось с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа «1200» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным детектором и масс-спектрометром с тройным квадруполем «Agilent 6400» (рис. 3), согласно разработанной нами методики [5].



Рис. 3. Высокоэффективный жидкостный хроматограф «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и масс-спектрометром с тройным квадруполем «Agilent 6400» (Agilent Technologies, США).

Идентификацию жирорастворимых витаминов (А, Е, 25-ОН-Д3) осуществляли по времени удерживания и спектру, регистрируемому с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 200-400 нм. Колонка «Zorbax Eclips Plus C18» 100 мм x 4,6 мм x 3,5 мкм с предколонкой «Zorbax Eclips Plus C18» 12,5 мм x 4,6 мм x 5 мкм. Скорость элюирования 0,4 мл/мин. Подвижная фаза А: вода + 0,1 % муравьиной кислоты, Подвижная фаза Б: метанол. Количественное определение проводили методом градуировочного графика.

Регистрировали хроматограммы по длинам волн, соответствующим максимальному поглощению для жирорастворимых витаминов А и Е (витамин А

- 318 нм, витамин Е – 292 нм), а также масс-хроматограммы, соответствующие переходу масс 401.3→383.3 для витамина 25-ОН-Д3.

В условиях автоматической регистрации и обработки данных определяли (в усл. ед.) площадь пиков жирорастворимых витаминов (А, Е, 25-ОН-Д3). Массовую концентрацию жирорастворимых витаминов (А, Е, 25-ОН-Д3) вычисляли по установленной ранее градуировочной зависимости. Типичные хроматограммы образцов плазмы крови при определении жирорастворимых витаминов А, Е и 25-ОН-Д3 представлены на рис. 4-6.

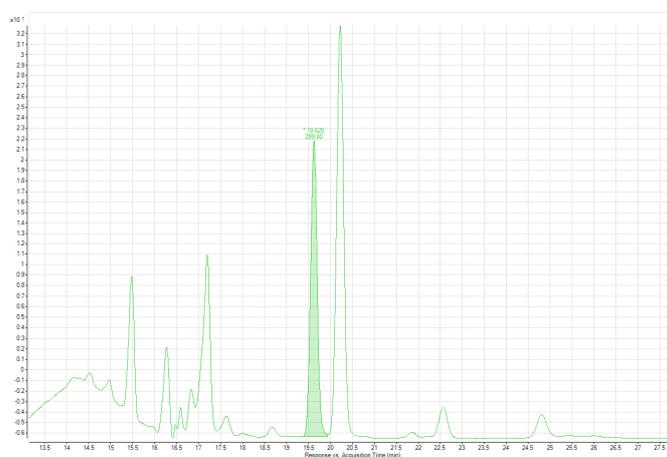


Рис. 4. Хроматограмма образца плазмы крови витамина А,  $\lambda = 318$  нм.

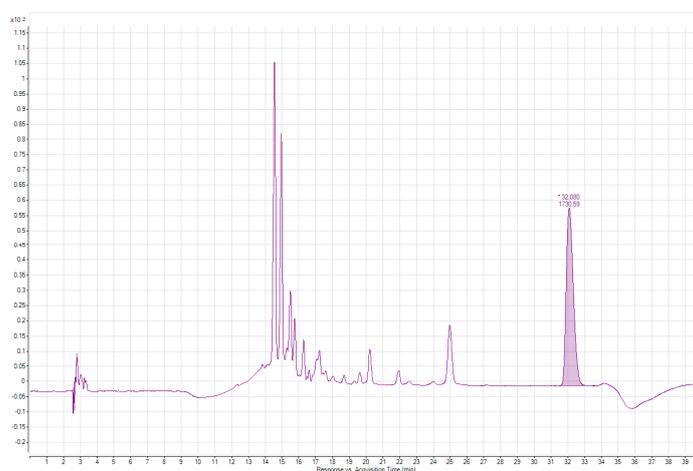


Рис. 5. Хроматограмма образца плазмы крови витамина Е,  $\lambda = 292$  нм.

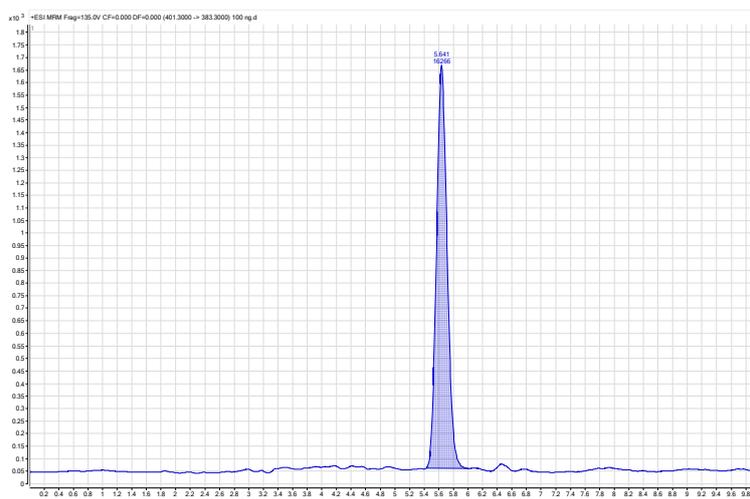


Рис. 6. Хроматограмма образца плазмы крови витамина 25-ОН-Д3, MRM 401.3→383.3.

Измерение массовой концентрации полиненасыщенных жирных кислот (омега-3, омега-6) в пробах плазмы крови проводилось методом хромато-масс-спектрометрии с помощью газового хроматографа «Agilent 7890» с масс-селективным детектором («Agilent Technologies», США) (рис. 7).



Рис. 7. Газовый хроматограф «Agilent 7890» с масс-селективным детектором («Agilent Technologies», США).

Определение концентрации полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) осуществляли по времени удерживания и характеристическим ионам, установленным при предварительной градуировке прибора, в режиме регистрации индивидуальных ионов (SIM). Хроматографическое разделение пробы осуществлялось на капиллярной колонке Select FAME («Agilent Technologies», США) длиной 100 м и внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель - гелий. Режим анализа – программированный, скорость нагрева термостата колонки 20 °С/мин в диапазоне 80 – 160°С. Выдержка при начальной температуре 1 мин. Скорость нагрева термостата колонки 1 °С/мин в диапазоне 160-198°С. Скорость нагрева термостата колонки 5°С/мин в диапазоне 198–250 °С, выдержка при конечной температуре 15 мин. Температура испарителя – 220°С, интерфейса – 250°С. Более подробно методика описана в разработанных нами Методических рекомендациях [5].

Для количественного определения концентрации определяемого вещества использовалось автоматическое интегрирование хроматограмм с помощью программного обеспечения фирмы «Agilent Technologies», США, MSD Chem Station.

Концентрация ПНЖК вычислялась по установленной ранее градуировочной зависимости. Калибровочные кривые охватывали весь диапазон концентраций ПНЖК, возможный в биологических пробах пациентов (арахидоновая кислота 30÷250 мкг/мл, линолевая кислота 250÷800 мкг/мл, α-линоленовая кислота 1÷50 мкг/мл, докозагексаеновая кислота 5÷50 мкг/мл, эйкозапентаеновая кислота 1÷150 мкг/мл, эруковая кислота 1÷100 мкг/мл, нервоновая кислота 5÷50 мкг/мл, цис-вакценовая кислота 5÷50 мкг/мл, эйкозеновая кислота 1÷75 мкг/мл.

Типичная хроматограмма ПНЖК в образце плазмы крови представлена на рис. 8.

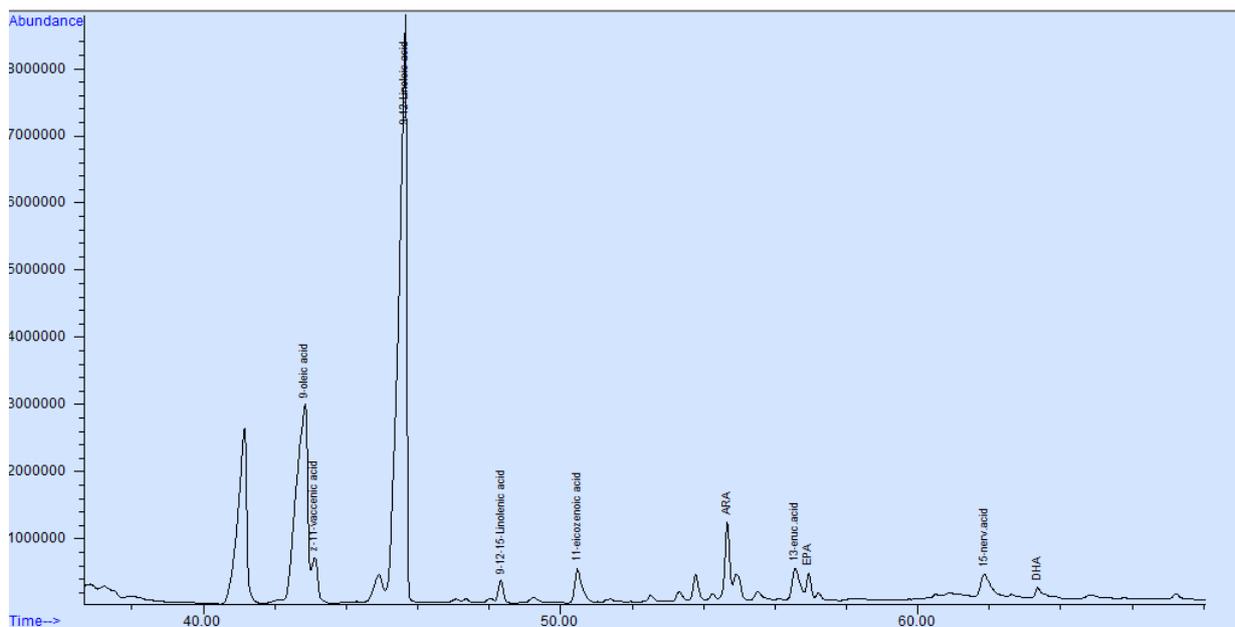


Рис.8. Хроматограмма ПНЖК в образце плазмы крови.

Анализ биоэлементного статуса проводился с помощью квадрупольного масс-спектрометра «Agilent 7900» производства «Agilent Technologies», США с аргоновой плазмой (рис. 9).

Определение содержания 35 химических элементов (титан (Ti), сурьма (Sb), серебро (Ag), алюминий (Al), мышьяк (As), бор (B), барий (Ba), бериллий (Be), кальций (Ca), кадмий (Cd), кобальт (Co), хром (Cr), цезий (Cs), медь (Cu), железо (Fe), ртуть (Hg), йод (I), калий (K), литий (Li), магний (Mg), марганец (Mn), молибден (Mo), натрий (Na), никель (Ni), фосфор (P), свинец (Pb), рубидий (Rb), селен (Se), стронций (Sr), таллий (Tl), ванадий (V), цинк (Zn), кремний (Si), германий (Ge), олово (Sn) в волосах проводили с помощью следующих методик [6 - 8].



Рис. 9. Рабочая зона для микроэлементного анализа готовых биопроб с помощью масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой «Agilent 7900» («Agilent Technologies», США).

## **2.2. Генодиагностика особенностей обмена веществ при метаболическом синдроме**

Анализ генетических особенностей (генотипирование) при обмене веществ проводится путем анализа однонуклеотидных полиморфизмов генов, продукты которых принимают участие в обмене веществ в организме. Генотипирование состоит из трех основных этапов – выделение ДНК, проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализ результатов.

Список необходимого оборудования:

1. ПЦР-бокс (2шт.)
2. Центрифуга для пробирок типа Eppendorf (2 шт.)
3. Вортекс 1 шт.
4. Твердотельный термостат 1 шт.

5. Отсасыватель медицинский 1 шт.
6. Комплект механических дозаторов 1 компл.
7. ДНК-амплификатор с функцией режима «реального времени».

Список реагентов для проведения исследований:

1. Набор для выделения ДНК из лейкоцитов цельной крови,
2. Набор реагентов «ОБМЕН ВЕЩЕСТВ» для выявления полиморфизмов PPARG2 - Pro12Ala, FABP2 - Ala54Thr, ADRB2 - Arg16Gly, ADRB2 - Gln27Glu, ADRB3 - Trp64Arg в геномной ДНК человека, выделенной из лейкоцитов цельной крови, методом ПЦР в режиме реального времени.

Методы:

Выделение ДНК производили из лейкоцитов цельной крови. Для этого кровь из локтевой вены собирали в вакутейнер с ЭДТА. В пробирку типа «эппендорф» объемом 1,5 мл отбирали 100 мкл крови для последующего выделения ДНК. Аликвоты крови хранили при  $-40^{\circ}\text{C}$  до момента выделения ДНК.

Выделение ДНК проводили с использованием наборов фирмы «ДНК-технологии» по прилагаемой методике:

1. В пробирку с подготовленным биоматериалом в объеме 100 мкл - внести по 600 мкл лизирующего раствора,
2. Встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3-5 сек.
3. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин. С помощью медицинского отсоса удалить надосадочную жидкость.
4. Добавить к осадку 300 мкл реактива «Проба-Рапид», закрыть крышки пробирок и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 5-10 сек.
5. Термостатировать пробирки при  $98^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин. в предварительно прогретом до  $98^{\circ}\text{C}$  термостате.
6. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 3 мин.

Надосадочную жидкость, содержащую выделенную ДНК использовали для проведения ПЦР-амплификации. В случае необходимости полученный препарат ДНК хранили до 7 суток при температуре  $2-8^{\circ}\text{C}$  или при температуре минус  $20^{\circ}\text{C}$  до одного месяца.

ПЦР и анализ результатов проводили с использованием тест-систем производства фирмы «Литех» по следующей методике:

1. Отобрать необходимое для исследования количество пробирок из расчета: по одной пробирки каждого полиморфизма для одного пациента и отрицательного контрольного образца и по 2 пробирки для положительных контрольных образцов, прилагаемых к тест-системе.

2. Полностью разморозить содержимое пробирок.

3. Добавить во все пробирки по 5 мкл исследуемых образцов. Подобным образом подготовить пробирку отрицательного контрольного образца, добавив 5 мкл разбавителя, прилагаемого к тест-системе, и 2 пробирки положительных контрольных образцов из комплекта используемого набора.

4. Пробирки закрыть и центрифугировать в течение 3-5 секунд при 1500–3000 об/мин.

5. Поместить пробирки в ДНК-амплификатор и провести реакцию в соответствии с протоколом. Протокол реакции зависит от типа использованного прибора. В нашем исследовании был использован прибор CFX-96. Для этого типа приборов следует использовать следующий вариант программы:

1	80 <sup>0</sup> C	2 мин.
2	94 <sup>0</sup> C	3 мин
3	94 <sup>0</sup> C	15 сек
4	64 <sup>0</sup> C	40 сек
Циклирование с пункта 3 - 5 раз		
5	94 <sup>0</sup> C	15 сек
6	64 <sup>0</sup> C	40 сек

Сканирование

Циклирование с пункта 5 - 35 раз

Результаты реакции учитываются по каналам флюоресценции FAM и HEX в приложении «дискриминация аллелей». Программа прибора автоматически интерпретирует результаты.

Пример диалогового окна получения результатов генотипирования по 5 исследованным генам для 4 пациентов и 3 контрольных образцов представлен на Рис. 10.

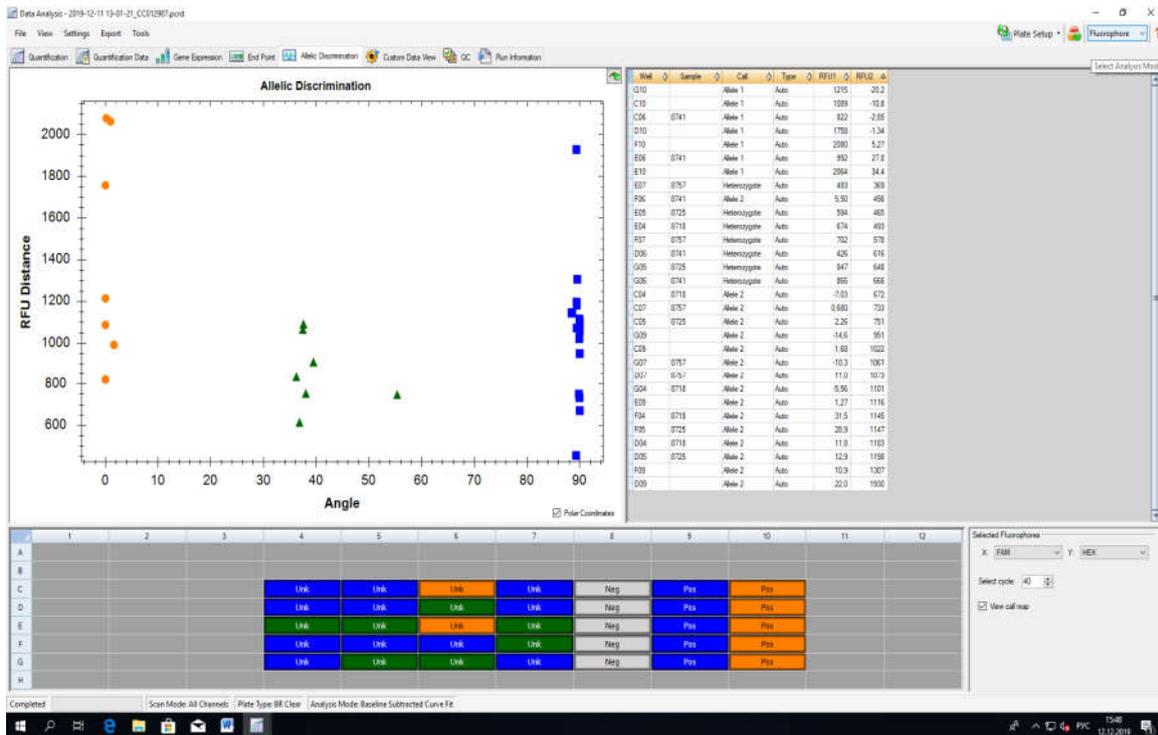


Рис. 10. Диалоговое окно анализа результатов генотипирования исследованных полиморфизмов, выполненное в режиме «Дискриминация аллелей».

### 2.3. Новые маркеры десинхроноза и их роль в формировании метаболического синдрома

Десинхроноз – это патологическое состояние организма, возникающее под действием экстремального фактора и характеризующееся десинхронизацией биоритмов. Основными причинами рассогласование между ритмическими процессами внутри организма и средовыми, задающими ритм факторами являются смена часовых поясов, сменная работа, глобальная освещенность в вечернее и ночное время, любые стрессовые ситуации. Дефицит сна и синтеза

мелатонина в ночное время могут вносить существенный вклад в рассогласование биоритмов, так как вырабатывающийся в темноте мелатонин выполняет функцию химического переносчика информации из циркадианного водителя ритма через мелатониновые рецепторы MT1 и MT2. Наличие MT1- и MT2-рецепторов в супрахиазматическом ядре, сосудах, адипоцитах, надпочечниках и поджелудочной железе определяет функции мелатонина в регуляции цикла «сон – бодрствование» и синхронизации наступления сна с изменением метаболических процессов. Поэтому столь важным является не только уменьшение количества потребляемых калорий, но и время приема пищи. Доказательством влияния десинхроноза на развитие МС является более высокая распространенность МС и сахарного диабета у лиц со сменным характером труда, а также данные о снижении ночной секреции мелатонина у лиц с МС и СД.

Неуклонный рост распространенности МС определяет важность разработки глобальных государственных программ, направленных на изменение образа жизни. Наряду с пропагандой увеличения физических нагрузок и изменения характера употребляемой пищи, не менее важными являются меры по регуляции цикла «сон-бодрствование» и определение значимости достаточного сна, начиная с детского возраста. Коррекция уже возникших изменений должна основываться на ранней диагностике десинхроноза, основанной на использовании биологических маркеров, разработка которых является приоритетной задачей.

Прослеживается четкая зависимость между выраженностью синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС), МС и риском развития сердечно-сосудистых заболеваний как в популяции в целом, так и у обследованных участников ЛПА на ЧАЭС. Учитывая значимость СОАС в развитии МС необходима клиническая оценка вероятности наличия СОАС.

Клинические проявления синдрома во сне следующие:

- избыточный вес;
- храп;
- повышенная двигательная активность во сне;

- утренние головные боли;
- дневная сонливость;
- импотенция;
- аритмии;
- повышенное артериальное давление (преимущественно диастолическое, больше в утренние часы).

Количественно тяжесть СОАС оценивают по индексу апноэ/гипопноэ (ИАГ) который рассчитывается как количество эпизодов апноэ и гипопноэ за час сна. Принято выделять легкую степень СОАС с ИАГ от 5 до 15, умеренную с ИАГ от 15 до 30 и тяжелую с ИАГ 30 и выше. Объективная оценка тяжести СОАС возможна только при использовании кардиореспираторного мониторинга или комплексной полисомнографии.

Хроническая инсомния с дефицитом ночного сна распространена среди обследованных ЛПА на ЧАЭС выше, чем в популяции и ассоциирована с риском МС и цереброваскулярных заболеваний. Диагностика инсомнии и ее коррекция является важным компонентом при лечении МС и профилактики развития сердечно-сосудистых заболеваний. Диагностика инсомнии не требует специальных обследований и проводится на основании опроса пациента (табл.2), для подтверждения диагноза требуется наличие всех А, В, С, D, Е критериев.

Лечение инсомнии включает как немедикаментозные подходы (когнитивно-поведенческую терапию), так и использование различных фарм. препаратов. Полученные нами данные о нарушении обмена мелатонина у ЛПА на ЧАЭС с МС позволяют рекомендовать его использование при коррекции МС. Являясь мощным хронобиотиком, мелатонин регулирует активность инсулиновых рецепторов в зависимости от приема пищи в течение дня. В регуляции уровня глюкозы и триглицеридов также участвуют гены циркадной системы Clock/Bmal , посредством повышения экспрессии которых мелатонин регулирует не только метаболизм глюкозы, а также активность клеток жировой ткани.

## Опросник и диагностические критерии инсомнии

А. Пациент или его родители, или наблюдатель отмечают одно или более из следующего:	В. Пациент или его родители, или наблюдатель отмечают одно или более из следующих проблем, обусловленных нарушением ночного сна:
1. трудности инициации сна;	1. усталость / недомогание;
2. трудности поддержания сна;	2. нарушение внимания, сосредоточения или запоминания;
3. пробуждение раньше желательного времени;	3. нарушение социального, семейного, производственного или учебного функционирования;
4. сопротивление укладыванию спать в установленное время;	4. расстройство настроения / раздражительность;
5. пациент с трудом засыпает без участия родителя или другого человека.	5. дневная сонливость;
	6. проблемы с поведением (гиперактивность, импульсивность, агрессия);
	7. снижение мотивации / энергичности / инициативности;
	8. подверженность ошибкам и несчастным случаям;
	9. беспокойство о своем сне и неудовлетворенность им.
С. Эти жалобы на сон / бодрствование не объясняются недостаточными возможностями (т.е. имеется недостаточное для сна время) или условиями (т.е. окружающая обстановка безопасна, затемненная, тихая и комфортная) для сна.	Д. Нарушение сна и связанные с ним дневные симптомы случаются не менее 3 раз в неделю.
	Е. Нарушение сна и связанные с ним дневные симптомы длятся не менее 3 месяцев.
	Ф. Проблемы сна / бодрствования лучшим образом не объясняются наличием другого расстройства сна.

Наряду с традиционной оценкой выраженности атерогенной дислипидемии и инсулинорезистентности перспективными могут считаться лабораторные маркеры, позволяющие оценить функцию адипоцитов, гормональный статус,

параметры молекулярно-генетических и бактериологических исследований, показатели десинхроноза и нарушений гемостаза.

#### **2.4. Методика оценки популяций Т- и В-регуляторных клеток и их роль в формировании и поддержании метаболического синдрома**

Среди всех популяций лимфоцитов – Т-, В- и NK-клеток – описаны супрессорные субпопуляции. Их функциями являются предотвращение развития аутоиммунных и аллергических заболеваний, обеспечение толерантности после трансплантации, предотвращение реакции трансплантат против хозяина. Избыточная активность регуляторных клеток может приводить к снижению противоопухолевого и противоинфекционного иммунитета. Супрессорная функция регуляторных клеток обусловлена, главным образом, способностью этих клеток к синтезу TGF- $\beta$  и IL-10 [9, 10]. Дополнительными супрессорными механизмами В-регуляторных клеток могут служить рецепторные взаимодействия через CD39, CD73, PD-L1 поверхностные молекулы [11].

Известно, что ожирение индуцирует хроническое воспаление низкой степени в разных тканях организма, что приводит к увеличению риска развития инсулинозависимого диабета и сердечнососудистых заболеваний [12]. Хроническое воспаление реализуется через активацию M1 популяции макрофагов [13]. M2 макрофаги, Т-хелперы 2 типа, В- и Т-регуляторные клетки супрессируют возникшее воспаление. Баланс этих популяций важен для поддержания гомеостаза [14, 15].

У пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями отмечается снижение количества и функции регуляторных клеток, как в тканях, так и в периферической крови. Например, при ожирении найдено двукратное снижение Т-регуляторных клеток в периферической крови по сравнению со здоровыми людьми [12]. Отмечена обратная корреляция между количеством Т-регуляторных клеток и индексом массы тела [16].

В экспериментальной работе на мышах [17] показано, что В-регуляторные клетки жировой ткани, в отличие от других органов, имеют возможность конститутивно синтезировать IL-10. Есть данные, что у пациентов с ожирением значительно снижается количество этих клеток в жировой ткани, а также падает продукция IL-10 [17].

Поскольку метаболические сдвиги при ожирении и связанное с ними воспаление являются системными процессами, необходимо изучить количество Т- и В-регуляторных клеток в периферической крови, сопоставить эти данные с параметрами жирового и углеводного обмена, а также с показателями, характеризующими уровень системного воспаления. Полученные результаты позволят сформировать группы пациентов с повышенным риском развития метаболического синдрома и сердечно-сосудистой патологии.

Оценка относительного количества Т- и В-регуляторных клеток периферической крови проводится методом проточной цитометрии. Забор крови у пациентов проводится натощак в утренние часы из кубитальной вены в вакутейнеры, содержащие ЭДТА, которые доставляются в лабораторию в течение двух часов.

Для оценки Т-регуляторных клеток аликвоты цельной крови окрашиваются коктейлем моноклональных антител к CD4-FITC, CD127-PE, CD25-PC5 (все моноклональные антитела Beckman Coulter) согласно инструкции фирмы-производителя. После удаления эритроцитов при помощи лизирующего раствора OptiLyse C (Beckman Coulter) пробы анализируются в многоцветном протоколе на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter) при многоэтапном гейтировании. На первом этапе определяются лимфоциты на основании морфологических параметров прямого и бокового светорассеяния FSdimSSdim, среди них выбирают зону анализа, которая включала Т-лимфоциты-хелперы, экспрессирующие поверхностный маркер CD4. Среди данной популяции клеток выявляются Т-регуляторные лимфоциты с фенотипом CD4+CD25+CD127+dim to neg, т.е. клетки с высокой экспрессией поверхностного маркера CD25 (низкоаффинный рецептор к ростовому фактору интерлейкину 2) и низкой

экспрессией либо ее отсутствием CD127 ( $\alpha$ -цепь рецептора к интерлейкину 7) (рис. 11А). Оценивается относительное количество Т-регуляторных клеток в процентах от общего количества Т-хелперов CD4+. Анализ абсолютных значений Т-регуляторных клеток осуществляется двухплатформенным методом, количество лейкоцитов и лимфоцитов получено из общего анализа крови данного пациента.

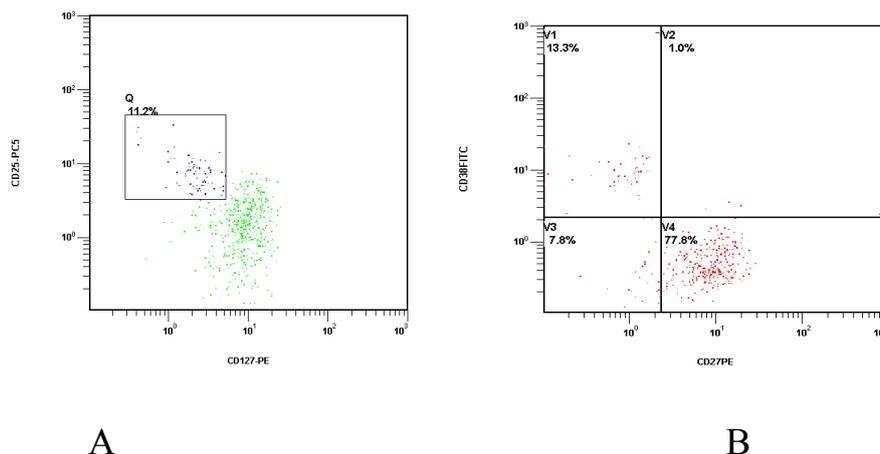


Рис.11. Популяции Т- (А) и В-регуляторных (В) клеток. В гейте Q клетки с фенотипом FSdimSSdimCD4+CD25+CD127+dim to neg. В гейте V1 клетки с фенотипом FSdimSSdimCD45+brightCD19+CD24+brightCD38+FITC, в гейте V4 клетки с фенотипом FSdimSSdimCD45+brightCD19+CD24+brightCD27+PE.

Для оценки В-регуляторных клеток алиquotы цельной крови окрашиваются коктейлем моноклональных антител к CD38-FITC, CD27-PE, CD19-ECD, CD24-PC5 и CD45-PC7 (все моноклональные антитела Beckman Coulter) согласно инструкции фирмы-производителя. После удаления эритроцитов при помощи лизирующего раствора OptiLyse C (Beckman Coulter) пробы анализируются в многоцветном протоколе на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter) при многоэтапном гейтировании. На первом этапе определяются лимфоциты на основании морфологических параметров прямого и бокового светорассеяния FSdimSSdim, а также экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45, среди них выбирается зона анализа, которая включала В-лимфоциты, экспрессирующие поверхностный маркер CD19, среди которых выявляются В-

лимфоциты с высокой экспрессией CD24. В-регуляторные клетки описаны недавно, в литературе разные авторы приводят разные фенотипы супрессорных В-клеток. Среди В-лимфоцитов с фенотипом FSdimSSdimCD45+brightCD19+CD24+bright мы оценивали 2 независимые популяции В-лимфоцитов с возможной регуляторной функцией – FSdimSSdimCD45+brightCD19+CD24+brightCD38+FITC и FSdimSSdimCD45+brightCD19+CD24+brightCD27+PE (рис. 1B). Оценивали относительное количество В-регуляторных клеток в процентах от общего количества В-лимфоцитов CD19+. Анализ абсолютных значений В-регуляторных клеток осуществляли двухплатформенным методом, количество лейкоцитов и лимфоцитов было получено из общего анализа крови данного пациента.

### **3. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПОСТРАДАВШИХ В РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЯХ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ**

Формирование группы ЛПА с метаболическим синдромом проводилось на основании Международных рекомендаций 2009 г.

Основную группу пациентов составили 122 ЛПА с цереброваскулярными заболеваниями, болезнями системы пищеварения и патологией эндокринной системы, из которых у 90 человек был выявлен МС. Сахарный диабет 2 типа был диагностирован у 58,0 % обследованных пациентов, дисциркуляторная энцефалопатия – у 41,0 %, артериальная гипертензия 2-3 стадии – у 77 %, ишемическая болезнь сердца – у 60 %. 15 человек, из числа обследованных, имели в анамнезе острые нарушения мозгового кровообращения, а 25 – инфаркт миокарда.

Контрольную группу составили 30 человек с МС, проходивших обследование и лечение во ВЦЭРМ, но не имевших контакта с радиацией.

Определение основных биохимических показателей выполнялось на биохимическом анализаторе UniCel DXC 600 Pro (Beckman Coulter, США). Определение концентрации ингибитора активатора плазминогена-1 (РАI-1), лептина, адипонектина и грелина в сыворотке крови проводили тест-системами «РАI-1 Antigen Elisa» (Technozym, Австрия), «Leptin Elisa» (Diagnostics Biochem Canada Inc., Канада), «Human Adiponectin Elisa» (Biovendor, Чехия) и «Human GHRL Elisa» (RayBiotech, США). Гормональные показатели определяли иммунохемилюминесцентным методом на анализаторах «Immylite XPi» (Siemens, Германия) и «ACCESS-2» (Beckman Coulter, США) в сыворотке крови и рассчитывались гормональные индексы (ДГЭАС/кортизол, тестостерон/эстрадиол). Исследование в плазме крови конечного продукта окисления липидов МДА и естественных антиоксидантов, содержащихся в пищевых продуктах(жирорастворимых витаминов А, Е, 25-ОН-Д3) проводилось

методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием на жидкостном хроматографе с диодной матрицей «1200 Series», «Agilent Technologies», США. Определение ненасыщенных жирных кислот проводили методом хромато-масс-спектрометрии с помощью газового хроматографа с масс-селективным детектором «Agilent 7890», «Agilent Technologies», США. Количественный анализ содержания биоэлементов в пробах волос ЛПА проводили на квадрупольном масс-спектрометре «Agilent 7900», Agilent Technologies, США.

При статистической обработке базы данных использовались программы статистического пакета Statistica v.6.1 (лицензия ВЦЭРМ до 31.12.2037) и ресурсы электронных таблиц Excel. Для сравнения медиан (Me) непрерывных показателей в двух группах наблюдения применяли ранговый критерий Манна-Уитни. Уровень значимости для всех критериев выбран равным 0,05. Результаты представлены в виде Me и межквартильного интервала 25-75% – q25; q75.

**Результаты и их анализ.** Характеристика основной группы пациентов в соответствии с критериями МС представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика групп ЛПА с отсутствием и наличием метаболического синдрома, Me [q25; q75]

Показатель (критерии МС)	МС		p
	нет (n=32)	есть (n=90)	
Возраст, лет	64,0 [57,0; 68,0]	66,0 [59,0; 70,0]	0,157
ИМТ (< 25)	24,9 [23,3; 28,1]	29,9 [27,7; 32,8]	0,000
Окружность талии, см (< 94 )	94,0 [83,0; 102,0]	108 [100; 117]	0,000
САД, мм рт. ст. (≥ 130)	132,0 [120,0; 140,]	142 [130; 150]	0,012
ДАД, мм рт. ст. (≥ 85)	80,0 [80,0; 90,0]	80 [80; 90]	0,332
ХС ЛПВП, ммоль/л (< 1,0)	1,46 [1,23; 1,68]	1,15 [1,0; 1,35]	0,000
Триглицериды, ммоль/л (> 1,7)	1,1 [0,7; 1,4]	1,49 [0,92; 2,88]	0,000
Холестерин общий, ммоль/л 3,3-5,7	4,9 [4,1; 5,6]	5,6 [5,2; 6,2]	0,001

*Примечание:* ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД - диастолическое артериальное давление, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о сопоставимости групп по возрасту и соответствию сформированной группы ЛПА критериям МС, ее существенном отличии от группы ЛПА без МС. У ЛПА с МС абдоминальное ожирение было в 100% случаев, средний показатель ОТ составляет 108 [100; 117] см, что косвенно указывает на наличие ИР.

У ЛПА с МС выявляются выраженные признаки дислипидемии с повышением уровня ТГ и холестерина и снижением ХС ЛПВП, так как именно эти признаки лежат в основе лабораторной диагностики МС.

Таблица 2

Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС с соматической патологией Me [q 25; q 75]

Показатель	МС		p
	нет (n=90)	есть (n=32)	
Глюкоза, 3,5-5,8 ммоль/л	5,2 [4,8; 5,4]	6,2 [5,4; 7,0]	0,005
Инсулин, 6,0-29,0 мМЕ/л	5,4 [3,1; 8,2]	12,3 [6,3; 21,1]	0,000
Индекс НОМА IR	1,2 [0,7; 2,3]	3,6 [1,9; 5,7]	0,000
hsCRP, мг/л (< 2,5)	3,0 [1,0; 6,3]	2,0 [1,0; 4,6]	0,722
РАІ-1, нг/мл (7 – 43)	12,5 [6,9; 50,9]	14,6 [10,7; 42,1]	0,833
Мочевая кислота, 140-420 мкмоль/л	360 [300; 410]	380 [320; 420]	0,533
Гомоцистеин, 5,0 -12,0 мкмоль/л	12,7 [10,6; 15,0]	14,0 [11,9; 17,0]	0,738
Лептин, нг/мл (2,0 – 5,6)	4,9 [2,9; 8,7]	9,9 [5,1; 21,0]	0,006
Адипонектин, мкг/мл (5,6 – 13,4)	13,5 [6,3; 16,6]	8,9 [5,9; 12,0]	0,047
Адипонектин/лептин	2,7 [1,2; 4,7]	1,22 [0,56; 2,86]	0,020
Грелин, пг/мл	232 [105; 546]	182 [86; 290]	0,062
ТТГ, 0,4 – 4,0 мМЕ/л	1,42 [0,95; 1,86]	1,59 [1,12; 2,27]	0,202
Тестостерон, 7-28 нмоль/л	12,4 [9,6; 15,5]	8,7 [6,8; 10,9]	0,004
Эстрадиол, < 205 пмоль/л	159 [119; 242]	192 [133; 233]	0,377
Тестостерон/эстрадиол	7,1 [5,4; 9,9]	4,6 [3,4; 6,1]	0,007
Индекс свободных андрогенов (ИСА)	27,1 [23,0; 35,2]	27,8 [19,8; 35,2]	0,998
ДГАЭС, 2,2-15 мкмоль/л	1,7 [1,3; 3,6]	2,2 [1,6; 2,8]	0,536
ДГАЭС/кортизол	0,76 [0,45; 1,11]	0,78 [0,47; 1,39]	0,664

Повышенные уровни глюкозы и базального инсулина отражают формирование ИР, которое находит подтверждение почти в 3-х кратном увеличении индекса НОМА IR– основного индикатора ИР (табл.2).

ИР тесно связана с абдоминальным ожирением, играющим самостоятельную роль в патогенезе МС. Известно, что жировая ткань секретирует большое количество биологически-активных пептидов (адипокинов), которые способствуют формированию МС. Исключительно адипоцитами жировой ткани экспрессируется лептин, белок, который участвует в процессах регуляции веса. Основная функция лептина заключается в обеспечении баланса между жировыми запасами, а именно, их расходом и потреблением пищи. Уровень лептина отражает не только количество накопленного жира, но и изменение энергетического обмена. При голодании лептин снижается, что является сигналом для адаптации организма к изменившимся условиям, в частности, происходит переключение с углеводного на липидный обмен. При МС у ЛПА достоверно повышен в сыворотке крови уровень лептина и снижено содержание адипонектина и, как следствие, соотношение адипонектин/лептин, что убедительно свидетельствует о нарушении обмена адипокинов и развитии лептинорезистентности – неспособности лептина проникать в спинномозговую жидкость и далее к участкам связывания в гипоталамусе, отвечающим за регуляцию аппетита. При нарушении восприятия лептиновых сигналов нарушается секреция многих нейропептидов, регулирующих пищевое поведение и расход энергии. Как следует из представленных в табл.1,2 данных, уровень лептина связан с ИМТ, уровнем артериального давления (САД), концентрацией атерогенных липопротеиновых частиц и индексом ИР, концентрация адипонектина имеет четкую отрицательную взаимосвязь с уровнем ТГ и положительную с ЛПВП. Развитие инсулино- и лептинорезистентности у ЛПА с МС сопровождается снижением– грелина. Установлена тенденция к снижению грелина у ЛПА с МС (табл. 2). Грелин синтезируется эндокринными клетками желудка, клетками островков Лангенгарса, а также гипофизом и гипоталамусом, вызывает чувство голода и участвует в адаптивном ответе на потерю веса. Эффект грелина опосредуется через рецептор, стимулирующий секрецию гормона роста. Низкие уровни грелина ассоциируются с ИР, артериальной гипертензией и СД 2 типа. Предполагается, что грелин может также влиять на

показатели кровяного давления. Низкий уровень грелина рассматривается как фактор риска СД 2 типа и АГ.

Важно отметить, что у всех ЛПА с МС наблюдается повышенный уровень гомоцистеина в сыворотке крови (выше 11 мкмоль/л), что, в первую очередь, можно связать с имеющейся у них цереброваскулярной патологией.

При анализе полученных данных следует обратить внимание на то, что обследуемые ЛПА на ЧАЭС находились под многолетним наблюдением, в том числе в стационаре на клинических отделениях ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России и проходили углубленное обследование с последующим фармакологическим лечением, что, вероятно, оказывало существенное влияние на полученные нами результаты. Вероятно, по этой причине мы не смогли выявить воспалительную компоненту МС. Так уровень высокочувствительного С-реактивного белка у ЛПА с МС и без него практически не отличается (2,0 [1,0; 4,6] и 3,0 [1,0; 6,3] мкг/л, соответственно).

Характерным признаком МС у ЛПА является достоверно ( $p < 0,05$ ) низкий уровень общего тестостерона в сыворотке крови и расчетного соотношения тестостерон/эстрадиол (табл.2). В работе Н.П. Гончарова и соавт. [18] также установлено снижение концентрации тестостерона у пациентов с МС по сравнению с группой здоровых мужчин. Авторами высказывается точка зрения о необходимости включить исследование уровня тестостерона в перечень диагностических критериев МС не только с целью повышения надежности распознавания МС среди пациентов с ожирением, но и учитывая клиническую перспективу заместительной терапии андрогенного дефицита. В тоже время мы показали, что индекс ИСА, у ЛПА с МС и без МС не отличается. Вероятно, это связано с тем, что обследованные нами ЛПА были старше 50 лет, имели МС, отягощенный соматической патологией. Выявленное нами частичное снижение общего тестостерона у ЛПА связано с влиянием возрастного фактора и сопутствующей соматической патологией. Выявленное нами достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение соотношения тестостерон/эстрадиол у ЛПА с МС, вероятно, происходит за счет нарушения ароматизации половых гормонов в жировой ткани.

По данным ряда исследований, для мужчин с ИБС характерно снижение экскреции метаболитов тестостерона и понижение индекса тестостерон/эстрадиол.

В настоящем исследовании мы не получили убедительных данных о значимости индекса ДГЭАС/кортизол в диагностике МС. Учитывая современные представления о главенствующей роли генетической детерминанты в формировании соматической патологии, можно предположить, что, несмотря на высокую значимость определения индекса ДГЭАС/кортизол для оценки интегративного влияния стрессовых факторов на состояние здоровья в целом, использовать данный маркер для диагностики МС, как отдельно взятой нозологии, нельзя.

Выраженность выявленных изменений в содержании биохимических маркеров МС увеличивается с увеличением числа компонентов МС у ЛПА на ЧАЭС (табл. 3).

Таблица 3

Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС с соматической патологией в зависимости от количества компонентов МС, Me

[q25; q 75]

Показатель	Количество компонентов МС		p
	<3	=>3	
Глюкоза, 3,5-5,8 ммоль/л	5,3 [5,0; 5,8]	6,3 [5,4; 7,2]	0,020
Холестерин общий, 3,3-5,7 ммоль/л	5,4 [4,7; 6,2]	4,8 [4,1; 5,5]	0,011
Лептин, нг/мл (2,0 – 5,6)	7,1 [4,6; 9,8]	10,7 [5,1; 21,0]	0,046
Адипонектин, мкг/мл (5,6 – 13,4)	16,0 [12,5; 19,9]	8,3 [5,9; 12,0]	0,003
Грелин, пг/мл	163 [61; 566]	193 [95; 290]	0,079
Инсулин, 6,0-29,0 мМЕ/л	6,8 [3,9; 10,9]	12,5 [6,5; 21,1]	0,000
Тестостерон, 7-28 нмоль/л	12,9 [10,6; 15,8]	8,7 [6,8; 10,9]	0,084
Эстрадиол, < 205 пмоль/л	231 [193; 266]	192 [133; 233]	0,377
Индекс НОМА IR	1,8 [0,9; 2,9]	3,9 [1,9; 6,5]	0,000

При увеличении количества компонентов МС достоверно ( $p < 0,05$ ) повышается в сыворотке крови уровень базального инсулина и индекс НОМА IR, уровень лептина, понижается концентрация адипонектина (табл. 3).

В табл. 4 представлены сравнительные данные изменения основных биохимических показателей у пациентов с МС.

Таблица 4

Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС и в контрольной группе, Ме [q 25; q 75]

Показатель	Пациенты с МС		p
	ЛПА (n=90)	Контрольная группа (n=30)	
Глюкоза, 3,5-5,8 ммоль/л	6,2 [5,4; 7,0]	5,8 [5,3; 6,2]	0,150
Индекс НОМА	3,6 [1,9; 5,7]	2,9 [2,3; 7,0]	0,334
Холестерин ЛПВП, 1,03-2,1 ммоль/л	1,2 [1,0; 1,4]	1,4 [1,2; 1,4]	0,064
Лептин, нг/мл (2,0 – 5,6)	9,9 [5,1; 21,0]	9,2 [6,1; 12,3]	0,566
Адипонектин, мкг/мл (5,6 – 13,4)	9,7 [6,3; 17,1]	13,1 [9,9; 16,6]	0,976
Инсулин, 6,0-29,0 мМЕ/л	12,3 [6,3; 21,1]	10,7 [9,7; 22,3]	0,054
Тестостерон, 7-28 нмоль/л	8,7 [6,8; 10,9]	11,5 [6,9; 13,7]	0,098
Индекс свободных андрогенов	27,8 [19,8; 35,2]	27,8 [19,8; 35,2]	0,998
Эстрадиол, < 205 пмоль/л	192 [133; 233]	117 [73; 139]	0,000
Тестостерон/эстрадиол	4,6 [3,4; 6,1]	9,6 [6,1; 12,8]	0,000
ДГАЭС, 2,2-15 мкмоль/л	2,2 [1,6; 2,8]	2,8 [2,2; 5,4]	0,012

Анализ полученных результатов не выявил существенных различий в содержании основных маркеров МС у ЛПА и пациентов контрольной группы с МС. В то же время можно отметить, что у 25% ЛПА с МС значения адипонектина определяются ниже нижней границы референтного интервала (менее 5,6 мкг/мл), а содержание лептина выше 21,0 нг/мл при верхней границе референтного

интервала 5,6 нг/мл. Имеется устойчивая тенденция к снижению холестерина ЛПВП, что соответствует полученным нами ранее при обследовании ЛПА с МС данным (30 лет).

Важно отметить достоверное повышение уровня эстрадиола и снижение расчетного соотношения тестостерон/эстрадиол в группе ЛПА, достоверное понижение концентрации ДГАЭС (табл. 4). Можно констатировать, что эстрадиол, общий тестостерон и ДГАЭ-сульфат играют патогенетически значимую роль в развитии МС у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС.

Результаты определения показателей окислительного стресса у ЛПА на ЧАЭС с МС и без него представлены в табл. 5.

Таблица 5

Содержание жирорастворимых витаминов, полиненасыщенных жирных кислот и МДА в плазме крови у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом и без него

Показатель	МС		p
	нет (n=29)	есть (n=75)	
Витамин А, мкг/мл	0,62 [0,49-0,77]	0,63 [0,51-0,78]	0,484
Витамин Е, мкг/мл	6,2 [3,5-8,4]	9,7 [6,8-12,7]	0,000
25-ОН-D3, нг/мл	28,6 [23,1-31,8]	23,8 [18,5-30,8]	0,112
МДА, нмоль/мл	0,53 [0,33-0,68]	0,56 [0,39-0,76]	0,368
Эйкозапентаеновая кислота, мкг/мл	19,0 [13,4-25,3]	15,1 [7,6-23,0]	0,030
Докозагексаеновая кислота, мкг/мл	56,7 [39,2-73,4]	47,1 [22,5-67,0]	0,145
α-линоленовая кислота, мкг/мл	40,8 [34,1-47,7]	38,9 [31,0-46,5]	0,968
Омега-3 индекс, %	4,6 [3,7-5,7]	3,9 [2,5-5,2]	0,019
Арахидоновая кислота, мкг/мл	147,7 [125,9-220,6]	104,9 [64,1-141,9]	0,146
Линолевая кислота, мкг/мл	264,9 [220,6-312,0]	230,9 [184,6-293,0]	0,089

У ЛПА с МС по сравнению с ЛПА без МС (табл. 5) выявлено достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение содержания витамина Е, а также снижение уровня эйкозопентаеновой кислоты, докозагексаеновой кислоты и индекса омега-3. Индекс омега-3 представляет собой долю ЭПК и ДГК от общего содержания жирных кислот в мембране эритроцита. Расчетный индекс омега-3 у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом равен 3,9 %, он ниже дискриминационного значения 4% и свидетельствует о высоком риске развития сердечно-сосудистых заболеваний в этой группе пациентов. При МС у ЛПА на ЧАЭС выявлена тенденция к снижению уровня линолевой кислоты.

При сравнении исследуемых показателей при МС у ЛПА на ЧАЭС с МС и лиц контрольной группой обнаруживалось статистически значимое увеличение концентрации витамина Е (9,7 [6,8-12,7] и 6,3 [5,3-7,7];  $p = 0,001$ ) на 54 % и снижение уровня линолевой кислоты (230,9 [184,6-293,0] и 262,3 [214,1-426,3];  $p = 0,014$ ) на 12 %. Остальные показатели достоверно не различались.

Проведённое исследование биоэлементного статуса ЛПА, проживающих на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области выявило отличия в подгруппе с МС. У пациентов с МС наблюдался более выраженный дефицит ряда жизненно необходимых элементов, прежде всего, селена, цинка, меди и йода (рис.1).

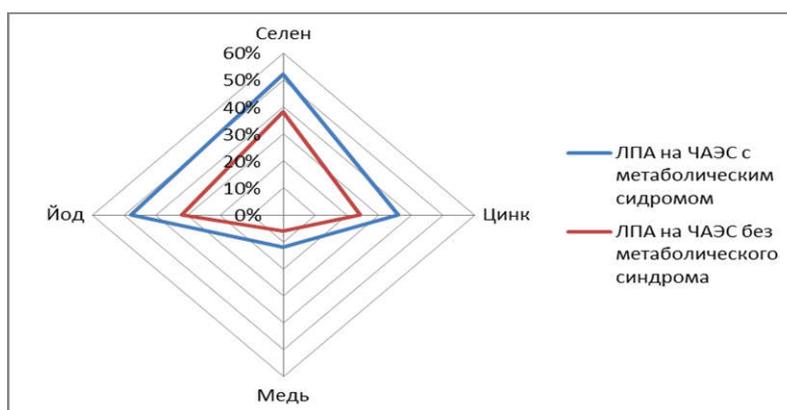


Рис. 1. Доля ЛПА на ЧАЭС с дефицитом микроэлементов.

Среди ЛПА с МС доля обследованных со сниженным уровнем концентрации селена в биопробах статистически значимо выше (52%), чем в группе без МС ( $p < 0.05$ ). У ЛПА с МС дефицит цинка выявлен среди 36 %

обследованных. Сниженный уровень меди отмечен у 8 % обследованных ЛПА на ЧАЭС, при этом в группе с МС доля с пониженным уровнем концентрации меди достигала 12 %. У 40 % обследованных ЛПА зафиксировано йоддефицитное состояние. В группе лиц с МС такой дефицит зарегистрирован в 48 % случаев. Исследование концентрации в пробах волос показало, что независимо от наличия или отсутствия МС, доля обследованных мужчин с достоверно сниженным уровнем магния составила 36 %. Уровень кальция ниже референтных значений выявлен у 40 % обследованных, без различий в группах сравнения. Анализ содержания токсических веществ – свинца и кадмия в группе обследованных, выявил достоверное превышения референтных интервалов у 8 и 2 % обследованных, соответственно. При дальнейшем сравнении показателей в подгруппах по наличию заболевания, достоверных отличий не выявлено. Одним из возможных механизмов накопления токсичных элементов в организме обследованных может быть связан с дефицитом эссенциальных элементов [19]. Полученные данные указывают на необходимость проведения микроэлементного анализа для прогнозирования возможного риска формирования МС и коррекции выявленных нарушений.

На основании проведенных исследований и анализа данных литературы нами разработан алгоритм клинико-лабораторной диагностики метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС (табл.7).

Таблица 7

Алгоритм клинико-лабораторной диагностики метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС

Критерии МС	
Основные	Дополнительные (для выявления патогенеза и варианта течения МС)
Глюкоза, ммоль/л, < 5,6	Индекс НОМА IR > 2,2
Окружность талии, см (< 94)	Адипонектин/лептин < 1,22
САД, мм рт. ст. (≥ 130)	Тестостерон < 8,7 нмоль/л
ДАД, мм рт. ст. (≥ 85)	Тестостерон/эстрадиол < 4,6
ХС ЛПВП, ммоль/л (< 1,0)	Показатели оксидативного стресса
Триглицериды, ммоль/л (> 1,7)	Микроэлементы

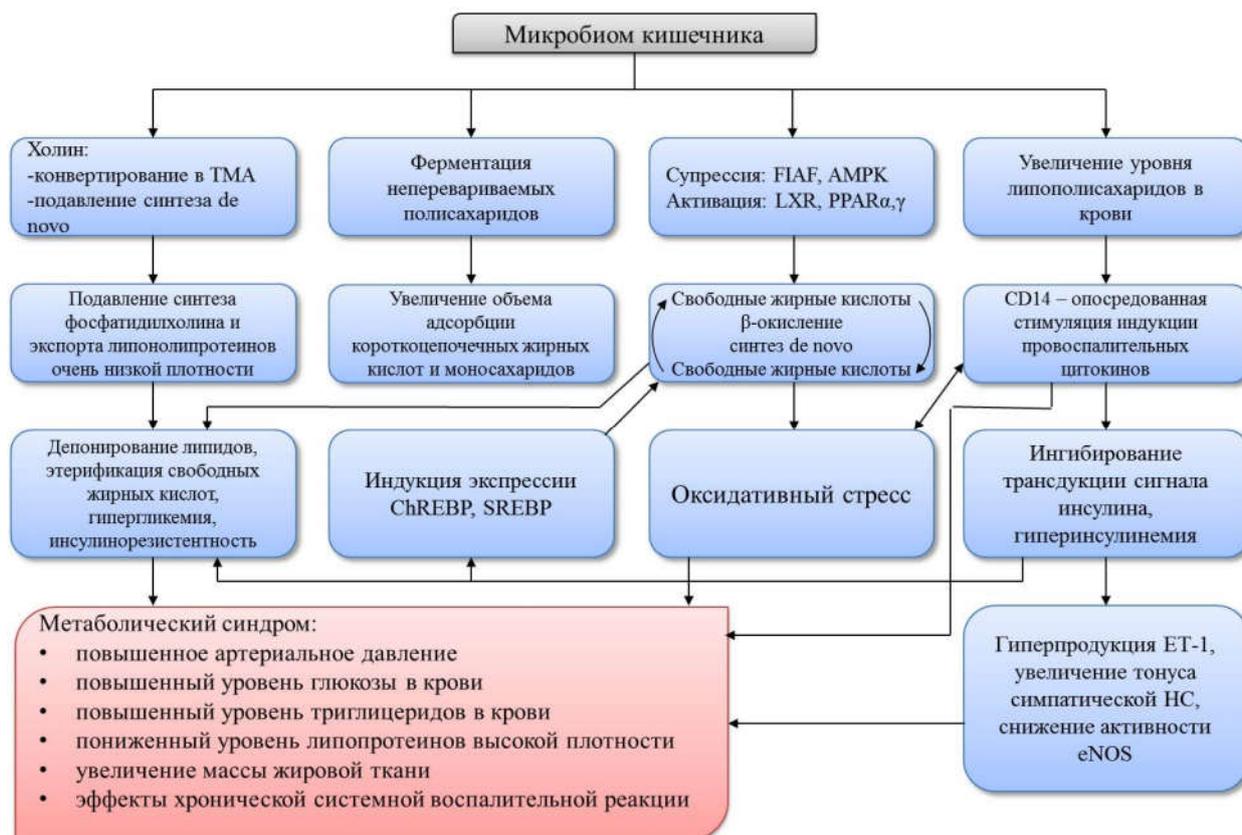
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика МС при использовании Международных рекомендаций 2009 г. [2], как правило, не вызывает затруднений. В то же время запуск и развитие МС у конкретного человека могут быть связаны с широким диапазоном расстройств, учитывать которые необходимо при проведении индивидуальных профилактических и терапевтических мероприятий.

На основании проведенных исследований мы посчитали необходимым, включить в диагностический алгоритм показатели такого универсального механизма метаболических нарушений в организме как оксидативный стресс (МДА, уровень ПНЖК, витаминов), микроэлементов, биологически активных пептидов жировой ткани, половых гормонов.

Наличие любых трех критериев МС из основной группы позволяет диагностировать МС. Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом возможно развитие различных патогенетических вариантов МС, уточнить которые позволяют предложенные дополнительные критерии. Выявление патогенетического варианта МС открывает возможности персонализированного подхода к терапии МС и профилактике развития болезней системы кровообращения и сахарного диабета.

Обобщая многолетние научные исследования, можно согласиться с выводами большинства авторов о существенной роли дисбиотических нарушений в формировании данного синдрома (рис.1) [20].



Примечание: ТМА - триметиламин; CD14 - рецептор липополисахарида; FIAF - fasting-induced adipose factor; СЖК - свободные жирные кислоты; AMPK - АМФ-активируемая киназа; КЦЖК - короткоцепочечные жирные кислоты; PPAR $\alpha$ ,  $\gamma$  - ядерные рецепторы; ЛПОНП - липопротеины очень низкой плотности; ChREBP - carbohydr. resp. elem. bind. protein; ET-1 - эндотелин-1; SREBP - sterol resp. elem. bind. protein; НС - нервная система; LPS - липополисахарид; eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота.

Рис. 1. Предполагаемый механизм формирования метаболического синдрома

Исследования последних лет, основанные на современных медицинских технологиях, свидетельствуют о четкой взаимосвязи нарушений состояния организма человека и статусом микробиоценоза его кишечника [21-25].

Клинической практикой доказана патогенетическая взаимосвязь состояния микробиоценоза кишечника не только с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, но и со всеми компонентами, характеризующими метаболический синдром. В исследуемой группе участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС с метаболическим синдромом была обнаружена следующая сопутствующая патология: гипертоническая болезнь – 74 %, заболевания ЖКТ – 56 %, ИБС – 53 %, СД 2 типа – 11 %.

В ранее нами опубликованной работе [25] отмечено увеличение общего количества микробных маркеров и условно-патогенной флоры, на фоне значительного снижения содержания *Eubacterium* и *Bifidobacterium* при выраженных клинических проявлениях дисфункции кишечника. Диагностированный дисбиоз кишечника сопровождается окислительным стрессом, на что указывает повышение уровня малонового диальдегида в плазме крови и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в моче на фоне снижения уровня витамина Е и биоэлемента цинка в плазме крови.

По мнению исследователей, именно кишечная микробиота вносит существенный вклад в развитие метаболических нарушений и ожирения, моделируя каскад ферментативных реакции макроорганизма, взаимодействуя с рецепторами непосредственно и/или при помощи собственных метаболитов и сигнальных молекул [26, 27]. Авторами сделан вывод об активном участии микробиома кишечника в регулировании энергетического баланса организма человека и о возможности формирования метаболического синдрома в случае микробиологических нарушений. К аналогичному выводу пришли авторы, изучающие микрофлору кишечника у тучных людей [28]. Это нашло подтверждение, как в нашем исследовании, так и в работе [29], авторы которой установили сопровождение метаболического синдрома микробиологическим дисбалансом.

Выявлялось снижение количества бактерий рода *Bifidobacterium* и *Faecalibacterium prausnitzii* у людей с повышенной массой тела, ожирением или СД 2 типа [30, 31].

В работах R.E. Ley и P.J. Turnbaugh с соавт. выявлено, что при ожирении представленность *Bacteroidetes* снижается, а *Firmicutes*, наоборот, увеличивается [32, 33].

Другие авторы показали, что число бактерий семейства *Prevotellaceae* (*Bacteroidetes*), значительно снижается при ожирении. Соотношение основных отделов *Firmicutes/Bacteroidetes* отражает динамику массы тела – при увеличении числа *Bacteroidetes* человек с ожирением худеет. Здоровый образ жизни

нормализует микробиоту и способствует поддержанию нормальной массы тела [28].

У пациентов с избыточной массой тела, ожирением и сахарным диабетом 2 типа (СД2) снижена также представленность бактерий рода *Bifidobacterium* на фоне увеличения представительств бактерий рода *Firmicutes*. Основными представителями защитной флоры кишечника являются бифидобактерии, лактобактерии и кишечные палочки с неизменными ферментативными свойствами [34-36].

Нарушение количественного и качественного состава кишечной микробиоты приводит к повреждению энтероцитов, повышению кишечной проницаемости для различных биологически активных соединений, снижение защитных свойств слизистого барьера, создание условий для роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов; нарушение физиологических процессов в кишечнике и моторики кишечника [37-39].

Для возникновения МС важным является действие мощного индуктора воспаления компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий - липополисахарида (LPS), являющегося эндотоксином. LPS проникает через слизистую оболочку кишечника в кровь и окружающие ткани, в которых он распознаётся иммунокомпетентными клетками и вызывает неспецифический иммунный ответ. LPS связывается с рецепторами на макрофагах и клетках эндотелия, стимулирует выработку цитокинов острой фазы воспаления. Эти данные были подтверждены при обследовании пациентов, страдающих ожирением и СД 2-го типа [40].

Необходимо отметить, что развитие метаболической эндотоксемии связано не только с увеличением количества условно-патогенной и патогенной флоры, сколько с изменением проницаемости кишечного барьера [41], что приводит к развитию хронического системного воспаления, ожирению, СД2, атеросклероза [42].

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) – обобщённое наименование ряда предельных одноосновных карбоновых кислот (уксусная, пропионовая,

масляная, валериановая и ряд других). В присутствии этих кислот тормозится развитие условно-патогенных штаммов. КЦЖК относят к биохимическим маркерам симбиоза микрофлоры, населяющей толстую кишку, и организма человека. Синтез КЦЖК является важным фактором колонизационной резистентности, обеспечивающий стабильность состава кишечной микрофлоры.

Большая часть пищевых волокон проходит через верхний отдел желудочно-кишечного тракта без изменений, и ферментируются анаэробной микробиотой в слепой кишке и толстой кишке. В результате ферментации образуются многочисленные группы из которых КЦЖК являются для микробного сообщества необходимыми «отходами», которые способствуют балансированию окислительно-восстановительных процессов в анаэробной среде кишечника [43].

Значительная часть КЦЖК, образовавшихся в толстой кишке, всасывается. Важной функцией микрофлоры в связи с метаболизмом в КЦЖК является обеспечение колоноцита энергией, которую для энергетических целей не менее, чем на 70% даёт масляная кислота. Поступившие в колоноцит уксусная и пропионовая кислоты на уровне толстой кишки участвуют в регуляции её кровотока, повышая его и тем самым обладают антиишемическим эффектом. Концентрация КЦЖК (в основном уксусной и пропионовой кислот) в воротной вене составляет в среднем  $375 \pm 70$  ммоль/л, в то время как в оттекающей от печени крови она снижается до  $148 \pm 42$  ммоль/л, а в периферической крови -  $79 \pm 22$  ммоль/л. Таким образом, печень задерживает примерно половину поступивших через колоноцит КЦЖК, а периферические ткани элиминируют еще одну четверть их. В настоящее время стало очевидно, что КЦЖК могут играть ключевую роль в профилактике и лечении метаболического синдрома, расстройств кишечника и некоторых видов рака. В клинических исследованиях их введение положительно влияло на лечение язвенного колита, болезни Крона и диареи, связанной с антибиотиками [44,45].

В последнее время исследователи наряду с КЦЖК обращают внимание и на другие микробные метаболиты, которые могут также влиять на уровень липидов. Примером является N-оксид триметиламина (ТМАО), метаболит, полученный из

пищевых холина и фосфатидилхолина (лецитин) через действие кишечной микробиоты. Ряд авторов [46-48] связывают ТМАО с атеросклерозом и сердечно-сосудистым риском, путем возможного воздействия на всасывание липидов и холестерина и уменьшение общего пула желчных кислот. Исследования на людях и животных позволяют предположить, что в производство ТМА/ТМАО вовлечены несколько семейств бактерий, а именно *Deferribacteraceae*, *Anaeroplasmataceae*, *Prevotellaceae* и *Enterobacteriaceae* [49-51].

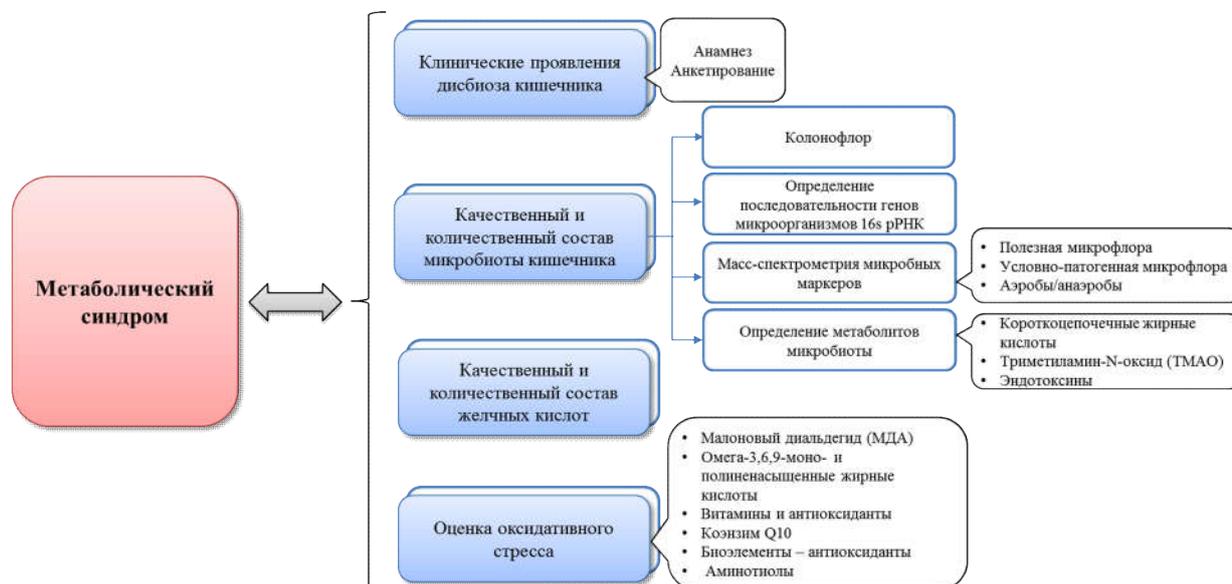
Установлена прямая связь между уровнем ЖК в сыворотке и индукцией синтеза глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) [52]. Это согласуется с недавним исследованием, согласно которому снижение циркулирующих ЖК ухудшало контроль над глюкозой у пациентов с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, в то время как увеличение объема пула ЖК улучшало гомеостаз глюкозы [53]. Уровни ЖК в сыворотке могут стать биомаркерами для диагностики заболеваний печени, диабета и ожирения.

Формирование и прогрессирование МС у конкретного пациента необходимо рассматривать в тесной взаимосвязи с особенностями микробиоты его пищеварительного тракта. При этом в диагностический алгоритм необходимо включать не только количественные и качественные показатели пристеночной микробиоты желудочно-кишечного тракта, но и те патогенетические механизмы, которые раскрывают взаимосвязь микробиома и макроорганизма в части формирования метаболического синдрома.

В связи с этим нам представляется важным разработать алгоритм диагностики возможной взаимосвязи нарушений микробиоты и каскада метаболических последствий для организма, которые в конечном итоге реализуются в виде МС, с учетом инновационных лабораторных технологий.

Кроме оценки микробиоты перспективно в диагностический алгоритм включить показатели такого универсального механизма метаболических нарушений в организме как оксидативный стресс и обмен желчных кислот, играющих ключевую роль в обмене холестерина (рис. 2.).

**Клинико-лабораторный алгоритм  
диагностики взаимосвязи МС и микробиоты кишечника**



Значение генодиагностики и исследования функции Т- и В- лимфоцитов в алгоритме диагностики МС нам еще предстоит определить.

Выявление патогенетического варианта МС открывает возможности персонализированного подхода к терапии МС и профилактике развития болезней системы кровообращения и сахарного диабета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 30 лет после Чернобыля: патогенетические механизмы формирования соматической патологии, опыт медицинского сопровождения участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: монография / под ред. Профессора С.С. Алексанина. – СПб.: Политехника-принт, 2016. – 506 с.
2. Alberti K. G., Eckel R. H., Grundy S. M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the study of Obesity. // *Circulation*. – 2009. Oct 20. – 120(16). – P.1640-1645. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644.
3. Бобко О.В. Маркеры десинхроноза в оценке риска развития метаболического синдрома /О.В. Бобко, О.В. Тихомирова, Н.Н. Зыбина, О.А. Клиценко // Медицинский алфавит. – 2019. – №4, Т.1. Современная лаборатория. – С.21-26.
4. Барышникова Н.В. Дисбиоз кишечника и инфекция *Helicobacter pylori* – синдром раздраженного кишечника–метаболический синдром: что их объединяет? / Н.В. Барышникова, Ю.А. Фоминых, Е.В. Балукова и др. // Практическая медицина. –2012. –3 (58). – С.11-16.
5. Формирование стандарта диагностики оксидативного стресса при обследовании сотрудников ГПС МЧС России/под ред. профессора С.С. Алексанина. - СПб.: ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, 2019. - 40 с.
6. Методика определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Методические рекомендации. Утверждены ФЦГСЭН МЗ РФ 26.03.2003/Л.Г. Подунова и др. – М.: ФЦГСЭН МЗ РФ, 2006. – 24 с.
7. Онищенко Г.Г., Шестопалова Н.В. Современные методы анализа и оборудование в санитарно-гигиенических исследованиях. – М.: ФГУП «Интерсэн», 1999. – 496 с.

8. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: Методические указания. - М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 56 с.

9. DiLillo, D.J., Matsushita, T., Tedder, T.F. (2010). B10 cells and regulatory B cells balance immune responses during inflammation, autoimmunity, and cancer // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1183. – P. 38–57.

10. Antu Kaiathookunnen A., Zeqin L., Huaizhu W. T cells in adipose tissue in aging // *Frontes in immunology.* – 2018. – Vol.9, article 2945.

11. Kaku H., Cheng K.F., Al-Abed Y., Rothstein, T.L. (2014) A novel mechanism of B cell-mediated immune suppression through CD73 expression and adenosine production // *J. Immunol.* – 2014. – Vol. 193. – P. 5904–5913.

12. Wagner N., Brandhorst G., Czepluch F. et al. Circulating regulatory T cells are reduced in obesity and may identify subjects at increased metabolic and cardiovascular risk // *Obesity* – 2013. – Vol.21, №3. – P.461-468.

13. Nishimura S., Manabe I., Nagasaki M. et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity // *Nat. Med.* – 2009. – Vol.15. – P. 914–920.

14. Lumeng C.N., Maillard I., Saltiel A.R. T-ing up inflammation in fat // *Nat. Med.* – 2009. – Vol.15. – P. 846–847.

15. Lemoine S., Morva A., Youinou P., Jamin C. Regulatory B cells in autoimmune diseases: how do they work? // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2009. – Vol. 1173. – P. 260–267.

16. Agabity-Rosei C., Trapletti V., Piantony S. et al. Decreased circulating T regulatory lymphocytes in obese patients undergoing bariatric surgery // *PloS One.* – 2018. – Vol.13, №5. – e0197178.

17. Nishimura S. Cell Metabolism Adipose Breg Cells Control Inflammation // *Cell Metabolism* 18, 759–766, November 5, 2013.

18. Гончаров Н.П., Кацяя Г.В. Нейростероид Дегидроэпиандростерон и функция мозга // Физиология человека. – 2013. – Том 39, №6. – С. 120-128
19. Эпидемиологическая гентоксикология тяжелых металлов и здоровье человека/Е. Н. Ильинских, Л. М. Огородова, Н. Н. Шакиров и др. - Томск: Сибирский госмедуниверситет, 2003. – 301 с.
20. Микрoэкология: фундаментальные и прикладные проблемы: Монография / Под ред. Н. Н. Плужникова, Я. А. Накатиса, О. Г. Хурцилавы. – СПб.: Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 304 с., ил.
21. Kruger S., Kunz D., Graf J. et al. Endotoxin sensitivity and immune competence in chronic heart failure // Clin. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 343, № 1 – 2. – P. 135 - 139.
22. Ардатская М. Д. Диагностическое значение содержания короткоцепочечных жирных кислот при синдроме раздраженного кишечника // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2000. – Т. 10, № 3. – С. 36 - 41.
23. Argo C., Loria P., Caldwell S.H., Lonardo A. Statins in liver disease: A molehill, an iceberg, or neither? // Hepatology. – 2008. – Vol. 48. – P.662–669.
24. Conraads V. M., Jorens P. G., De Clerck L. S. et al. Selective intestinal decontamination in advanced chronic heart failure a pilot study // Europ. J. Heart. Fail. – 2004. – Vol. 6. — P. 483 - 491.
25. Родионов Г.Г., Шантырь И.И., Светкина Е.В., Сарьян Э.С. Результаты исследования пристеночной микробиоты кишечника пациентов при дислипидемии. // Дневник Казанской медицинской школы № IV (XVIII). 2017. – С. 64-70.
26. Борщев Ю. Ю., Ермоленко Е. И. Метаболический синдром и микрoэкология кишечника // Трансляционная медицина. – 2014. – № 1. С. 19-28.
27. Cani P. D., Delzenne N. M. The role of gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease // Curr. Pharm. – Des. 2009.– Vol. 15, N 13. – P.1546-1558.

28. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J. I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity // *Nature*. – 2006. – Vol. 444. – P. 1022-1023.
29. Cani P.D., Amor J., Iglesias M.A. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56, N 7. – P.1761-1772.
30. Deopurkar R., et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3 // *Diabetes Care*. – 2010. – Vol. 33. – P. 991-997.
31. Pussinen P.J., et al. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34. – P. 392-397.
32. Ley R.E., Turnbaugh P., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity // *Nature*. – 2006. – Vol.444. – P.1022–1023.
33. Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins // *Nature*. – 2009. Vol.457. – P.480-484.
34. Deopurkar R., Granim H., Friedman J. et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3 // *Diabetes. Care*. – 2010. – Vol. 33, № 5. – P. 991–997.
35. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. Дисбактериоз кишечника: эволюция взглядов. Современные принципы диагностики и фармакологической коррекции // *Cons. Medicum.(Гастроэнтерология)*. – 2006. – Т. 8., № 2. – С. 4-18.
36. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Питание, микробиоценоз, и интеллект человека. – 2006. – 560 с.
37. Бельмер С.В. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника // *Русский медицинский журнал*. – 2004. – Т. 12, № 3. – С. 148-151.
38. Liévin-Le Moal V., Servin A.L. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2006. – Vol. 19, № 2. – P. 315–337.
39. Sharma R., Young C., Neu J. Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2010.

40. Creely S.J., et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 292. – P. 740-747.

41. Физиология человека / под ред. В.М. Покровского, Г.Ф. Коротько. – 2003. – 656 с.

42. Cavalcante-Silva L.H.A., Galvão J.G.F.M., da Silva J.S. et al. Obesity-Driven Gut Microbiota Inflammatory Pathways to Metabolic Syndrome // *Front. Physiol.* – 2015. – Vol.6. – P.341.

43. Hoek M. J., Merks R. M. Redox balance is key to explaining full vs. partial switching to low-yield metabolism // *BMC Syst. Biol.* – 2012. – Vol. 6. Article number: 22. <https://bmcsystbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-0509-6-22>

44. Binder H. J. Role of colonic short-chain fatty acid transport in diarrhea // *Annu. Rev. of Physiol.* – 2010. – Vol.72. – P. 297 - 313.

45. Di Sabatino A., Morera R., Ciccocioppo R. et al. Oral butyrate for mildly to moderately active Crohn's disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2005. – Vol. 22, N 9. P. – 789 - 794.

46. Qi J., You T., Li J. et al. Circulating trimethylamine N-oxide and the risk of cardiovascular diseases: a systematic review and meta-analysis of 11 prospective cohort studies // *J. Cell Mol. Med.* – 2017. – Vol. 22, N 1. – P. 185 - 194.

47. Tang W.H.W., Hazen S.L. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease // *J Clin. Invest.* – 2014. – Vol. 124, N 10. – P. 4204 - 4211.

48. Velasquez M.T., Ramezani A., Manal A. et al. Trimethylamine N-oxide: the good, the bad and the unknown // *Toxins (Basel)*. – 2016. – Vol.8, N 11. – P. 326 - 338.

49. Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis // *Nat. Med.* – 2013. – Vol.19, N 5. – P. 576 – 585.

50. Craciun S., Balskus E.P. Microbial conversion of choline to trimethylamine requires a glyceryl radical enzyme // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol.109, N 52. – P. 21307 - 21312.

51. Zhu Y., Jameson E., Crosatti M. et al. Carnitine metabolism to trimethylamine by an unusual Rieske-type oxygenase from human microbiota // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2014. – Vol. 111, N 11. – P. 4268 - 4273.

52. Patti M.E., Houten S.M., Bianco A.C. et al. Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: Potential contribution to improved glucose and lipid metabolism // Obesity. – 2009. – Vol.17, N 9. – P. 1671 - 1677.

53. Watanabe M., Horai Y., Houten S.M. et al. Lowering bile acid pool size with a synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure // J Biol Chem. – 2011. – Vol.286, N 30. – P. 26913 - 26920.