

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ДЕТСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Л.А. Алексеева, Л.В. Говорова, Г.Ф. Железникова

Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

The stages of clinical laboratory diagnostics development at scientific and research institute of children's infections

L.A. Alekseeva, L.V. Govorova, G.F. Zheleznikova

Scientific and Research Institute of Children's Infections FMBA of Russia, Saint-Petersburg

Резюме. В статье представлены основные этапы и направления развития клинической лабораторной диагностики за 85 лет существования Научно-исследовательского института детских инфекций. Подчеркивается важность биохимических и иммунологических исследований в изучении патогенеза и разработке новых диагностических критериев для улучшения течения и исходов инфекционных заболеваний у детей. Сделан акцент на необходимости использования современного высокотехнологичного оборудования для проведения научных и практических лабораторных исследований.

Ключевые слова: клиническая лабораторная диагностика, биохимия, иммунология, инфекционные заболевания, дети.

Abstract. The article presents the information on the basic stages and directions of clinical laboratory diagnostics development for 85 years of Scientific and Research Institute of Children's Infections existence. The importance of biochemical and immunological research in the investigation of pathogenesis and working out of new diagnostic criteria to improve the course and possible outcomes of an infectious disease in children is underlined. The emphasis is made on the importance of modern hi-technology equipment usage in carrying out scientific and practical laboratory research.

Key words: clinical laboratory diagnostics, biochemistry, immunology, infectious diseases, children.

На протяжении 85-летней истории Научно-исследовательского института детских инфекций развитию лабораторной диагностики придавалось большое значение. Одной из первых в 1926 г. была создана биохимическая лаборатория при диагностическом стационаре, прообразе клиник Института по охране здоровья детей и подростков. Уже с 1928 г. лаборатория выполняла не только практические, но и научные исследования. На первом этапе в биохимической лаборатории (руководитель лаборатории д.б.н. Анна Михайловна Петрунькина) исследовали показатели углеводного и минерального обмена в крови у детей, зависимость химического состава крови от состояния вегетативной нервной системы, в частности, эмоционального возбуждения у детей-психоневротиков. Углубленно изучая обмен веществ у детей в физиологических условиях, сотрудники лаборатории (А.М. Петрунькина, М.Н. Калининкова, Р.Г. Липман, Е.Т. Минкер-Богданова, С.А. Поворинская, Г.Д. Образцов) установили нормативы суточной потребности детского организма в железе, кальции, магнии, азоте, фосфоре, что имело большое значение для организации рационального детского питания. Впервые

были получены стандарты биохимического состава крови детей и подростков.

В послевоенные годы (1945–1950 гг.) в лаборатории биохимии основное внимание уделялось изучению содержания витаминов в крови детей и подростков при различных заболеваниях в зависимости от тяжести течения болезни и применяемой терапии. Обследовались дети с бронхопневмонией, дизентерией, диспепсиями, гипотрофией, ревматизмом (Е.А. Сиротенко, Т.А. Лебединская А.М. Петрунькина). По результатам исследования было рекомендовано включение в комплексное витаминное лечение рибофлавина, играющего огромную роль в окислительно-восстановительных реакциях организма во время заболевания и в период восстановления.

С 1950 по 1960 г. в биохимической лаборатории (руководитель д.б.н. Мария Николаевна Калининкова) проводились исследования содержания витаминов в крови беременных женщин и кормящих матерей. Были установлены физиологические нормы содержания витаминов А, Е, В₁, В₂, никотиновой кислоты в организме матерей, рекомендовано их применение в питании грудных детей. Продол-

жалось изучение возрастных особенностей обмена веществ (А.М. Петрунькина, М.П. Щербакова, М.Н. Калинникова, Т.А. Лебединская, Е.А. Иванова, С.А. Кибардин). Большое практическое значение до сих пор имеют полученные данные об эффективности различных методов введения витаминов, в частности, рекомендован прием витаминов вместе с пищей, поскольку болевая травма от парентерального введения могла вызывать снижение содержания в крови витаминов группы В.

С 1960 по 1970 г. под руководством д.б.н. Лидии Николаевны Марьич в лаборатории исследовали влияние вакцинального процесса, его осложнений, а также острого и хронического гепатита на биохимические характеристики крови у детей. С 1970 по 1980 г. на новом методическом уровне проводятся исследования углеводного и энергетического обмена при различных инфекциях у детей (руководитель лаборатории к.б.н. Дашкевич Ирина Олимпиаевна.) Сотрудниками биохимической лаборатории разрабатываются и внедряются в практику методы определения уровня иммуноглобулинов А, М, G, изучается белковый и изоферментный спектр крови (Рыбалко Д.А., Перова Н.С., Лукина В.В., Домкина Л.К., Гущина Н.П.).

В 1980 г. начаты исследования влияния инфекции на метаболические процессы клеток крови (руководитель д.б.н. Нина Павловна Таранова). Изучается активность ферментов энергетического обмена и активного транспорта ионов в лимфоцитах крови, нарушения липидного обмена, процессы перекисного окисления липидов, проводятся исследования белкового и аминокислотного спектра крови при различных вариантах искусственного вскармливания (Говорова Л.В., Кирчик О.А., Домкина Л.К.).

С 1983 по 1997 г. приоритетным направлением в работе биохимической лаборатории (руководитель д.б.н. Лидия Николаевна Буловская) становится исследование зависимости инфекционного процесса от особенностей генотипа, определяемого по типу ацетилирования. Изучение биохимических характеристик, обладающих свойствами генетических маркеров (полиморфная N-ацетилтрансфераза), позволяет выявить группы детей, обладающих медленным ацетиляторным фенотипом, с повышенной предрасположенностью к инфекциям. Работы проводятся в тесном сотрудничестве со всеми клиническими отделениями института (член-корреспондент РАМН В.В. Иванова). Наряду с этим, продолжаются исследования процессов свободно-радикального окисления и активного транспорта ионов в лимфоцитах крови, определение роли гормонов и вторичных посредников (цАМФ и цГМФ) в патогенезе инфекционных заболеваний (Говорова Л.В., Перова Н.С.).

Впервые начато всестороннее исследование роли ликвора в развитии нейроинфекционного процесса. Проводятся комплексные лабораторные исследования на модели пневмококкового менингоэнцефалита у кроликов (Сорокина М.Н., Алексеева Л.А, Басс Р.Л., Иванова М.В., Аксенов О.А., Насыров Р.А., Железникова Г.Ф., Волкова М.О.). Установлено не только положительное влияние на течение и исход менингоэнцефалита у кроликов интрацестернального введения цельного донорского ликвора, его высокомолекулярной и низкомолекулярной фракций, но и определены некоторые механизмы его воздействия, что явилось основанием проведения ликворотрансфузии детям с тяжелыми формами бактериального менингита.

В этот период биохимическая и иммунологическая лаборатории вошли в состав Отдела функциональных методов диагностики. Лаборатория (группа) клинической иммунологии была создана в 1978 г. Первым руководителем был д.м.н. Георгий Семенович Благословенский. С 1991 г. руководителем иммунологической группы стала к.м.н. Галина Федоровна Железникова. В работе иммунологической группы сформировалось новое, пионерское направление исследований — изучение вариантов (уровней) иммунной защиты при острых инфекциях у детей, начало которому было положено в докторской диссертации Г.Ф. Железниковой «Варианты иммунного ответа при ОРВИ у детей» (СПб., 1997). По характерным изменениям пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на Т-митоген фитогемагглютинин (ФГА-РБТА) выделены четыре варианта иммунного ответа (ИО), которые сочетаются с разной степенью выраженности локальных и системных воспалительных реакций и различаются ведущим профилем адаптивного ИО — клеточным (I и III варианты) или гуморальным (II и IV варианты). Предложена гипотетическая схема формирования вариантов (уровней) ИО в зависимости от исходной резистентности ребенка к возбудителю инфекции. Пул факторов устойчивости к возбудителю, врожденных и/или приобретенных, противодействует его инвазии и размножению, формируя величину антигенного стимула в острую фазу болезни. Постулируется, что у наиболее устойчивых к данному возбудителю детей формируется самый низкий уровень вирусной или бактериальной нагрузки, поступает относительно слабый сигнал в ЦНС в виде циркулирующих в крови провоспалительных цитокинов, и развивается первый уровень (I «клеточный» вариант) ИО. Напротив, у наиболее чувствительных детей формируется мощный антигенный стимул, вызывая четвертый уровень (IV «гуморальный» вариант) ИО, сопровождающийся супрессией ответа Т-лимфоцитов в ФГА-РБТА на протяжении всего периода болезни. Вслед за ОРВИ принци-

пиально сходные варианты иммуногенеза обнаружены при дифтерии, эпидемическом паротите, дизентерии, иксодовом клещевом боррелиозе и инфекционном мононуклеозе (ИМ), вызванном вирусом Эпштейна — Барр. Установлено, что варианты ИО ассоциированы не только с существенными различиями клинического течения и исхода инфекции, но и с разной чувствительностью больных к иммуномодулирующей терапии. Материалы анализа этого направления исследований обобщены в монографии: Г.Ф. Железниковой, В.В. Ивановой, Н.Е. Монаховой «Варианты иммунопатогенеза острых инфекций у детей» (СПб., 2007).

С 1997 по 2006 г. лабораторией биохимии руководила д.б.н. Людмила Владимировна Говорова. Основное направление ее исследований — изучение процессов свободно-радикального окисления (СРО) и перекисного окисления липидов (ПОЛ), гормональной регуляции при инфекционной патологии. Сформировано представление о трех основных вариантах метаболического ответа лимфоцитов на инфекционный стресс, требующих дифференцированного подхода к назначению антиоксидантной терапии. Установлено, что при пониженной интенсивности ПОЛ в лимфоцитах в остром периоде больным детям противопоказана антиоксидантная терапия, при активации ПОЛ в физиологически допустимых пределах возможно применение природных антиоксидантов типа витамина С, при гиперактивации ПОЛ необходимо применение антиоксидантной терапии. При ОРВИ и пневмониях у детей установлен ряд общих метаболических закономерностей развития ответной реакции адаптации на инфекционный стресс. Они включают повышение концентрации «гормонов стресса», сдвиги уровня циклических нуклеотидов, активацию ПОЛ и нарушение проницаемости клеточных мембран лимфоцитов, подавление барьерных функций, изменения работы Na^+ -насоса в клетках крови. Охарактеризованы особенности метаболических сдвигов в клетках крови при вакцинации детей против кори, при острых респираторных вирусных инфекциях, вызванных ДНК- и РНК-содержащими вирусами (Л.В. Говорова, О.А. Аксенов).

В этот же период активно развивались исследования роли цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) в патогенезе и клинической лабораторной диагностике инфекционных заболеваний центральной и периферической нервной системы у детей (Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В.). Были разработаны модификации современных высокочувствительных способов фракционирования для изучения белково-пептидного состава ЦСЖ — гель-фильтрация на сефадексах, диск-электрофорез в полиакриламидном геле, высокоэффективная жидкостная хроматография. Ком-

плексное исследование состава ЦСЖ выявило полиморфизм интратекального ответа на нейроинфекционный процесс с формированием трех основных вариантов. Первый, характерный для вирусных менингитов, энцефалитов, заболеваний периферической нервной системы, отличался преимущественным увеличением пула низкомолекулярных компонентов, минимальными сдвигами в белковом спектре, увеличением числа низкомолекулярных пиков в гидрофильной зоне хроматограмм. Вторым формировался при бактериальных гнойных менингитах. Для него было характерно более значительное увеличение пула высокомолекулярных и низкомолекулярных компонентов, выраженные диспротеинемические сдвиги, увеличение числа пиков не только в гидрофильной, но и в промежуточной области хроматограмм. При крайне тяжелом течении бактериальных и вирусных менингоэнцефалитов формировался 3-й тип интратекального ответа с многократным увеличением одного или обоих пулов, резкими диспротеинемическими сдвигами, увеличением числа низкомолекулярных пиков и их концентрации во всех областях хроматографического спектра. Благодаря комплексным биохимическим исследованиям белково-пептидного состава ЦСЖ установлены особенности интратекального воспаления при вирусной или бактериальной природе нейроинфекционного процесса, выявлены белковые маркеры повреждения мозга при бактериальных менингитах, что позволило разработать алгоритм патобиохимической оценки состава ЦСЖ. Экспериментальными исследованиями *in vitro* и *in vivo* установлено, что компоненты ликвора оказывают иммуномодулирующее воздействие на метаболические процессы лимфоцитов крови, их пролиферативную активность, способность к интерферонообразованию, синтезу антител, обладают бактерицидным действием, что доказывает их участие в процессах пато- и саногенеза и объясняет терапевтический эффект ликворотрансфузии.

По результатам научно-исследовательских работ в биохимической лаборатории защищены 2 докторские диссертации по специальности клиническая лабораторная диагностика: «Механизмы метаболической адаптации и окислительный стресс при вирусных и бактериальных инфекциях у детей» (Говорова Л.В., 2002) и «Значение белков и пептидов цереброспинальной жидкости в клинической лабораторной диагностике и патогенезе нейроинфекционных заболеваний у детей» (Алексеева Л.А., 2003).

С 2000 г. в биохимической лаборатории ведутся работы по исследованию роли эндогенной интоксикации в течении инфекционных заболеваний у детей (д.б.н. Л.А. Алексеева). Разработаны модификации метода спектральной оценки веществ

низкой и средней молекулярной массы крови и экспресс-метод, внедрение которого позволяет быстро оценить выраженность интоксикации при генерализованных бактериальных нейроинфекциях и проводить коррекцию терапии. Установлено значение эндогенной интоксикации в течение острых бактериальных кишечных инфекций, инфекционных заболеваний периферической нервной системы, бактериальных менингитах, вирусном гепатите С.

В 2008 г. создан Отдел клинической лабораторной диагностики, объединивший в своем составе биохимическую и иммунологическую научные группы (руководитель отдела д.б.н. Лидия Аркадьевна Алексеева). В состав отдела включено несколько профильных клинических лабораторий: лаборатория биохимических и клинических исследований, лаборатория иммунологических и аллергологических исследований, лаборатория паразитарных инвазий и протозоозов, серологических исследований. Для обеспечения круглосуточного лабораторного обследования пациентов клиник НИИ детских инфекций впервые создается экспресс-лаборатория. Одной из приоритетных задач, поставленных директором института Юрием Владимировичем Лобзиным, является обеспечение высокого качества лабораторных исследований. Приобретение нового высокотехнологичного оборудования экспертного класса выводит клиническую лабораторную диагностику в НИИ детских инфекций на качественно новый уровень.

Современные гематологические анализаторы Cell-Dyn 1800 (Abbott) и Sysmex KX-21N (Roche) позволяют в экспресс-режиме проводить автоматизированные гематологические исследования и определять 18 показателей крови. Высокопроизводительный анализатор мочи Clinitek Advantus (Siemens) обеспечивает автоматическое определение 11 показателей: pH, удельный вес, цвет, содержание белка, глюкозы, кетоновых тел, билирубина, уробилиногена, нитритов, наличие эритроцитов и лейкоцитов в моче. Исследование биохимических параметров осуществляется на автоматических анализаторах Architect с 8000 (Abbott), Hitachi 902 (Roche). Анализатор Architect с 8000 позволяет одновременно иметь на борту 68 реагентов и загружать около 200 образцов биологических жидкостей. Благодаря их использованию с высокой точностью оцениваются метаболические и органические нарушения при инфекционных заболеваниях. Современный автоматический коагулометрический анализатор ACL 200 (Instrumentation Laboratory) дает возможность детального изучения процессов свертывания и фибринолиза по 18 показателям плазменного звена гемостаза. В экспресс-лаборатории изучение газового состава крови и контроль адекватности респираторной поддерж-

ки проводится с помощью анализатора кислотно-основного состояния GEM Premier 3000 (Instrumentation Laboratory). В иммунологической лаборатории современное приборное оборудование — проточный цитофлюориметр FASC-COLIBUR (Becton Dickinson, США), иммуноферментный анализатор Tecan SUNRISE (Австрия) — расширяет возможности изучения иммунопатогенеза инфекционных заболеваний, повышает точность и быстроту анализа.

Научно-исследовательские работы направлены на изучение молекулярных механизмов пато- и саногенеза инфекционных заболеваний, разработку новых критериев лабораторной диагностики. Основными направлениями исследований являются изучение механизмов системного и интратекального воспаления, нарушений системы гемостаза, определение роли процессов экзо- и эндогенной интоксикации, исследование свободно-радикального окисления и протеолиза, изучение роли воспаления в развитии врожденных инфекций, иммунопатогенез инфекционных заболеваний. При острых и хронических нейроинфекциях актуально исследование роли нарушений проницаемости гематоэнцефалического барьера и интратекального синтеза иммуноглобулинов в течении и исходах заболевания. Для оценки системного и интратекального воспаления с помощью количественной иммунотурбидиметрии изучается динамика белков острой фазы при неотложных состояниях, острых кишечных и нейроинфекциях, неонатальных гепатитах и других заболеваниях у детей. Начаты работы по изучению сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза при инфекционных заболеваниях (исследование агрегации тромбоцитов при индукции АДФ в различных концентрациях).

Научно-исследовательские работы, как и прежде, проводятся в рамках совместных с клиническими отделами тем НИР: отделом интенсивной терапии неотложных состояний, отделом вирусных гепатитов и заболеваний печени, отделом кишечных инфекций, отделом нейроинфекций и органической патологии нервной системы, отделом респираторных (капельных) инфекций, отделом профилактики инфекционных заболеваний, отделом врожденной инфекционной патологии. Сотрудниками отдела клинической лабораторной диагностики разрабатываются новые диагностические и прогностические критерии тяжести течения инфекционных заболеваний, показания к коррекции терапии, рекомендации по диспансеризации и профилактике инфекционных заболеваний. Результаты исследований лежат в основе патентов на изобретения, методических рекомендаций и новых медицинских технологий, пособий для врачей, научных публикаций и докладов на на-

учных форумах. Совместно с клиническими отделами подготовлены и защищены несколько кандидатских диссертаций.

Таким образом, на протяжении 85-летней истории НИИ детских инфекций развитие клинической лабораторной диагностики прошло несколько этапов — от начального изучения некоторых показателей химического состава крови у здоровых детей и подростков различного возраста до всестороннего исследования механизмов пато- и саногенеза инфекционных заболеваний с использованием широкого спектра биохимических, иммунологических, гематологических, ликворологических, общеклинических показателей. На каждом этапе выбор направлений научных исследований определялся актуальностью изучения различных нозологических форм инфекционных заболеваний у детей и методологическими возможностями проведения лабораторных исследований. На современном этапе использование

высокотехнологичных методов, выбор наиболее значимых биохимических и иммунологических показателей позволяет на ранних стадиях предотвратить развитие осложнений инфекционного заболевания, способствует улучшению результатов лечения. Объединение в составе Отдела клинической лабораторной диагностики иммунологической и биохимической научных групп и профильных лабораторий способствует проведению комплексных исследований, а сопоставление и анализ полученных результатов открывает возможности дальнейшего совершенствования клинической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний у детей.

Благодарность

Благодарим за историческую справку д.м.н. профессора *Евгению Александровну Лакоткину*.

Работа выполнена в отделе клинической лабораторной диагностики НИИ детских инфекций ФМБА России.

Авторский коллектив:

Алексеева Лидия Аркадьевна — руководитель отдела клинической лабораторной диагностики НИИ детских инфекций, ведущий научный сотрудник; д.б.н.; тел.: (812)234-34-18, e-mail: kldidi@mail.ru;

Говорова Людмила Владимировна — старший научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики НИИ детских инфекций, д.б.н.; тел.: (812)234-34-18, e-mail: kldidi@mail.ru;

Железникова Галина Федоровна — старший научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики НИИ детских инфекций, д.м.н., профессор; тел.: (812)234-34-18, e-mail: kldidi@mail.ru.