

САДОВНИКОВ

Павел Сергеевич

**ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЛИПИДНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, **Гуревич Виктор Савельевич.**

Официальные оппоненты:

Денисенко Александр Дорофеевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория молекулярно-клеточных механизмов атерогенеза, заведующий;

Метельская Виктория Алексеевна – доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний имени Н.В. Перовой отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, главный научный сотрудник.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Защита состоится «23» июня 2026 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д.54 и на сайте: <https://nrcerm.ru>

Автореферат разослан « » _____ 2026 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Клинические осложнения атеросклероза являются одной из главных причин заболеваемости населения во всем мире, в том числе в Российской Федерации (РФ). Нарушения липидного обмена рассматриваются в качестве ведущей причины атеросклероза и его клинических проявлений. В связи с этим диагностика и эффективная медикаментозная коррекция атерогенных дислипидемий (ДЛП) опираются в значительной степени на результаты лабораторных исследований нарушений липидного обмена и на их адекватную клиническую интерпретацию (Ежов М.В. и соавт., 2023; Кухарчук В.В. и соавт., 2020; Pérez De Isla L. et al., 2017).

Особое внимание в Клинических рекомендациях по диагностике и лечению атерогенных дислипидемий обращается на необходимость достижения целевых значений содержания в крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) у пациентов с разным уровнем сердечно-сосудистого риска (Ежов М.В. и соавт., 2023).

Для пациентов с высоким ССР целевым уровнем ХС-ЛНП признается значение $<1,8$ ммоль/л, в то время как у лиц с очень высоким риском требуется достижение уровня $<1,4$ ммоль/л в течение 8 ± 4 недель терапии, как при первичной, так и при вторичной профилактике сердечно-сосудистых осложнений. Даже для лиц с умеренным и низким уровнем ССР рекомендуемые значения ХС-ЛНП для первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) составляют $<2,6$ и $<3,0$ ммоль/л соответственно (Ежов М.В. и соавт., 2023). Данные показатели используются как в стандартах оказания медицинской помощи, так и в оценке качества лечения пациентов кардиологического профиля.

Очевидно, что вышеприведенные данные увеличивают требования к результатам исследований, которые могут существенно влиять на принятие решения в отношении назначения и дальнейшей коррекции фармакотерапии (Арабидзе Г.Г. и соавт., 2022).

Факторы, влияющие на информативность лабораторных исследований липидов, подразделяются на три основные группы: преаналитические, аналитические и постаналитические и являются постоянным предметом совершенствования в среде специалистов клинической лабораторной диагностики (Abdollahi A. et al., 2014).

В настоящее время широко обсуждается возможность и необходимость самостоятельного взятия проб крови пациентами для отправки в централизованные лаборатории, что является актуальным, в частности, во время карантинных ограничений, для организации медицинской помощи в удаленных районах и/или в связи с отсутствием соответствующей технологической оснащенности (Poland D.C.W. et al., 2024).

Остается недостаточно изученным влияние пробоподготовки, времени хранения и типа проб, а также использование экспресс-методов определения липидных фракций на сопоставимость результатов клинико-лабораторных исследований.

Не изучена и вариация, обусловленная сезонными популяционными колебаниями липидов, особенно в период повышенной эпидемиологической нагрузки респираторно-вирусными инфекциями, в частности, новой коронавирусной инфекцией 2019 (COVID-19).

При этом точность расчетной формулы уровня ХС-ЛНП Фридвальда (Friedewald W.T. et al., 1972), которая наиболее часто используется в лабораторной диагностике, особенно в популяционных и многоцентровых клинических исследованиях, признана недостаточной, а при уровне триглицеридов (ТГ) выше 4,5 ммоль/л – неприменимой (Solnica B. et al., 2024). Поэтому оптимизация расчетного метода определения ХС-ЛНП, независимого от уровня ТГ остается актуальной.

Степень разработанности темы

До настоящего времени не сформирован устойчивый консенсус относительно того, в какой степени смещаются показатели липидов капиллярной крови по сравнению с венозной. Большинство исследований подобного рода ориентировано на одновременное изучение максимального числа параметров, что накладывает ряд методических ограничений на параллельное измерение обоих типов проб на одном оборудовании без его перенастройки (Kayiran S.M. et al., 2003). Кроме того, анализ образцов на приборах различных модификаций и поколений вносит дополнительную дисперсию, обусловленную вариабельностью аналитических систем (CV_a) (Kim Y.-J. et al., 2016). Указанный фактор, как правило, не контролируется и не учитывается в статистических моделях, что снижает воспроизводимость результатов. Из этого следует, что дальнейшие исследования требуют стандартизированного дизайна с унифицированным аналитическим оборудованием и строгим учетом метрологических характеристик, что позволит достоверно оценить характер и величину потенциальных различий в уровне липидов между двумя видами биоматериала.

Влияние преаналитических факторов на достоверность результатов липидограммы из образцов капиллярной крови, собранных пациентом самостоятельно без участия медицинского персонала, остаются противоречивыми (Ansari S. et al., 2021; Kupke I.R. et al., 1981), при этом большинство современных работ направлено на валидацию конкретного устройства для самовзятия, доступного только на территории страны-разработчика (Collier B.B. et al., 2023), что не позволяет распространить эти данные на образцы капиллярной крови, полученные по методологии альтернативного протокола.

Распространенность гиперхолестеринемии в разных регионах мира существенно варьирует (Lu W. et al., 2022; Saadatagah S. et al., 2022), а также изменяется с течением времени под действием ряда факторов, включая факторы внешней среды, и усилия государственных программ по борьбе с ССЗ (Shetty N.S. et al., 2024). При этом концентрация липидов демонстрирует гендерные различия (Palmisano B.T. et al., 2018), а мнение о постепенном увеличении уровня общего холестерина (ОХС) с возрастом является общепринятым (Jousilahti P. et al., 1999). В то же время большинство российских эпидемиологических исследований отличаются нерегулярностью проведения и направлены преимущественно на обследование пациентов моложе 65 лет, вследствие чего существующие данные

не вполне отражают реальную картину состояния липидного обмена у лиц старших возрастных категорий (Климов А.Н. и соавт., 1979; Мешков А.Н. и соавт., 2020).

Многие оригинальные работы и мета-анализы оценивают взаимосвязь сезонного изменения уровня липидов крови и различных внешних факторов: загрязнение воздуха (Zhang Y. et al., 2023), физической активности (Honda H. et al., 2021), температуры на улице (Ma X. et al., 2020) и в помещениях (Umishio W. et al., 2022), атмосферного давления и влажности воздуха (Kuzmenko N.V. et al., 2022), культурных особенностей, связанных с изменением диеты во время праздников (Ramirez-Jimenez M. et al., 2020), а также влияние витамина D (Jastrzębska J. et al., 2023) и тиреотропного гормона (Wang D. et al., 2020)). При этом, несмотря на известный факт об участии моноцитарно-макрофагальных клеток в образовании атеросклеротической бляшки (Moore K.J. et al., 2011), нами не обнаружено работ по их сезонной взаимосвязи с уровнем липидов в крови.

Пандемия COVID-19 продемонстрировала необходимость комплексных исследований как данной инфекции, так и потенциально схожих эпидемий, включая выявление взаимодействий с сопутствующими заболеваниями. Однако вопреки столь очевидной социально-экономической мотивации, патофизиологические сдвиги в липидном обмене при SARS-CoV-2 остаются описанными фрагментарно: имеющиеся публикации базируются преимущественно на небольших когортах и демонстрируют разнонаправленные выводы, что затрудняет формирование единой концептуальной модели. Особенно заметен дефицит данных о половом диморфизме и возрастной вариабельности липидного ответа на инфекцию SARS-CoV-2, в то время как эти параметры критичны для прогностической стратификации сердечно-сосудистых осложнений и разработки персонифицированных лечебных стратегий (Akkurt E.S. et al., 2022; Mink S. et al., 2023; Ramírez Manent J.I. et al., 2022).

Сравнение результатов определения показателей липидного профиля методом экспресс-диагностики с помощью однокомпонентных тест-полосок со стандартными лабораторными подходами не всегда позволяет получить однозначные выводы (Haggerty L. et al., 2017; Panz V.R. et al., 2005; Yang P. et al., 2013). В ряде исследований авторами были выявлены отклонения в результатах определения биомаркеров при применении экспресс-тестов (Shephard M.D.S. et al., 2007; Whitehead S.J. et al., 2014), что послужило основанием рекомендовать проведение дополнительных исследований (Крылов А.А., 2008).

В настоящее время для определения концентрации ХС-ЛНП расчетным методом наиболее широким распространением в мире пользуются формулы Фридвальда, Мартина и Сэмпсона. Основное ограничение формулы Фридвальда заключается в исходном предположении о постоянстве молярного соотношения ТГ и холестерина в ТГ-обогащенных фракциях. В силу этого допущения ее применение считается оправданным лишь при концентрации ТГ, не превышающей уровень в 4,5 ммоль/л (Friedewald W.T. et al., 1972). Что касается альтернативного подхода с использованием таблиц, предложенных Мартином и соавторами, то данный метод не нашел широкого применения в клинической практике ввиду неудобства работы с онлайн-калькулятором и значительных

временных затрат на расчеты (Martin S.S. et al., 2013). В свою очередь, коэффициенты формулы, разработанной Сэмпсоном и коллегами, были получены на ограниченной выборке, которая не включала пациентов с дислипидемией III типа, характеризующейся соотношением ХС-ЛОНП к ТГ выше 0,33, что также существенно ограничивает универсальность ее применения (Sampson M. et al., 2020). Указанные ограничения требуют дополнительных исследований, направленных на дальнейшее усовершенствование расчетных приемов ХС-ЛНП.

Цель исследования: выявить и оценить факторы преаналитического, аналитического и постаналитического этапов исследования, влияющие на точность результатов липидограммы для повышения ее клинической информативности.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ показателей липидограммы из проб венозной и капиллярной крови.
2. Оценить смещение результатов липидного профиля при самостоятельном взятии проб капиллярной крови пациентом и задержке центрифугирования до 24 ч.
3. Провести анализ влияния респираторно-вирусной эпидемиологической нагрузки на сезонные колебания популяционных уровней липидного профиля на примере COVID-19 по сравнению с доковидными показателями.
4. Сопоставить результаты аналитического этапа исследования липидограммы, полученные на стационарном анализаторе Roche Cobas с 702 и приборе Cardiocheck РА для экспресс-диагностики.
5. Оценить зависимость расчетного значения холестерина липопротеинов низкой плотности от уровня триглицеридов и разработать формулу и калькулятор уровня холестерина липопротеинов низкой плотности для популяции европейской части РФ.

Научная новизна. Впервые показано, что эпидемия COVID-19 сопровождалась изменением характера и выраженности сезонных популяционных колебаний показателей липидного обмена, включая холестерин липопротеинов низкой и высокой плотности, с выявлением их ассоциации с иммуновоспалительными маркерами. Полученные данные расширяют представления о влиянии системного воспаления и инфекционных факторов на популяционную вариабельность липидного профиля и обосновывают необходимость учета данных факторов при интерпретации результатов лабораторных исследований.

В работе впервые для условий Российской Федерации реализован комплексный статистико-математический подход к анализу больших массивов лабораторных данных, позволивший системно оценить вклад преаналитических и аналитических факторов в вариабельность показателей липидограммы. Показано, что применение данного подхода позволяет обосновывать пересмотр традиционных ограничений пробоподготовки, включая увеличение допустимого времени до центрифугирования проб капиллярной крови, без утраты аналитической и клинической достоверности результатов.

На основе выявленных популяционных закономерностей предложена и верифицирована новая расчетная модель определения ХС-ЛНП, независимая от уровней ТГ в широком диапазоне их концентраций. Продемонстрировано, что использование методов анализа больших массивов данных и популяционного моделирования может рассматриваться как самостоятельное направление научных исследований в клинической лабораторной диагностике и быть успешно адаптировано для изучения других клинически значимых аналитов.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в работе данные расширяют представления о роли преаналитических, аналитических и постаналитических факторов в формировании вариабельности результатов лабораторного определения клинически значимых аналитов, в том числе показателей липидного профиля. Показано, что такие факторы, как сезонность и наличие сопутствующих воспалительных состояний (на примере инфекции COVID-19), оказывают статистически значимое влияние на уровни липидов крови, что имеет принципиальное значение для корректной интерпретации результатов при динамическом и долгосрочном мониторинге пациентов.

Практическая значимость исследования заключается в возможности пересмотра ряда существующих ограничений лабораторной диагностики. Доказана возможность самостоятельного сбора капиллярной крови пациентом с последующей доставкой образцов без центрифугирования в лабораторию в течение 24 часов без утраты аналитической достоверности результатов липидограммы, что может расширить географию логистики образцов и создать предпосылки для развития сервисов профилактического и дистанционного контроля нарушений липидного обмена.

Использование оптимизированной расчетной формулы ХС-ЛНП дает возможность при необходимости заменять дорогостоящий инструментальный прямой метод на расчетный способ с сохранением достаточной для правильного диагноза достоверности, что позволит сократить расходы на контроль и коррекцию нарушений липидного обмена.

Методология исследования. Методологической основой диссертации является систематизированное применение экспериментальных и теоретических методов научного познания с целью решения поставленных задач. Работа выполнена на одинаковом лабораторном оборудовании трех лабораторий одной сети с соблюдением единых протоколов контроля качества. Проведение исследования с участием пациентов и добровольцев одобрено локальным этическим комитетом ФГБУЗ «Клиническая больница № 122 им. Л. Г. Соколова» ФМБА РФ. Всеми участниками исследования подписаны информированные согласия. Выполнен сбор и систематизация большого объема накопленных данных клинических лабораторных исследований, проведен статистический анализ с использованием современных решений на основе научных статистических библиотек языка программирования Python.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты измерения концентрации показателей липидного профиля статистически сопоставимы при использовании двух преаналитических протоколов: 1) взятия пробы венозной крови процедурной медсестрой с

центрифугированием в течение ближайших 2-х часов и 2) самостоятельного получения пробы капиллярной крови пациентом с отложенным на срок до 24 часов центрифугированием.

2. Во время эпидемии COVID-19 имело место достоверное сезонное снижение популяционных уровней холестерина липопротеинов высокой плотности.

3. Разработана формула расчета значений концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности в сыворотке, которая характеризуется, в отличие от формулы Фридвальда, уменьшением отклонений за пределы допустимой погрешности, вследствие чего применима для контроля целевых значений холестерина липопротеинов низкой плотности крови популяции европейской части РФ при уровне триглицеридов выше 4,5 ммоль/л.

Личный вклад автора. Выбор темы, формирование целей и задач исследования, обобщение полученных результатов, а также представление научных данных выполнены автором при участии научного руководителя. Автором проведены планирование и организация экспериментов, статистическая обработка и интерпретация данных, написание текста диссертации и автореферата. Работа по сбору образцов для сравнения показателей прибора CardioChek PA выполнена при участии персонала ФГБУЗ «Клиническая больница № 122 им. Л. Г. Соколова ФМБА РФ». Работа выполнялась при поддержке гранта Минобрнауки № 075-15-2022-1110.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность результатов, полученных в ходе анонимных кросс-секционных исследований, обоснована репрезентативным объемом выборок – 750000 результатов полных липидограмм, полученных на высокоточных автоматических анализаторах одного типа в трех лабораториях одной сети с выполнением одинаковых ежедневных процедур контроля и участием в программах внешней оценки качества.

Размеры выборки участников экспериментов по сравнению показателей капиллярной и венозной крови ($n = 51$), оценке возможности самостоятельного получения капиллярной крови ($n = 49$) и изучения соотносимости результатов измерений двух аналитических систем ($n = 36$) достаточны для выбора и реализации адекватных методов параметрического или непараметрического статистического сравнения исследованных групп.

Верификация РИ проведена при участии 20 добровольцев в каждой подгруппе, в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) (CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Proposed Guideline - Third Edition. CLSI document C28-P3, 2010).

Основные результаты работы доложены на XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, Российская Федерация, 2017), Всероссийской научно-практической конференции «Лабораторная диагностика – клинической медицине: традиции и новации» (Санкт-Петербург, Российская

Федерация, 2017), IV Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, Российская Федерация, 2018), 86-м конгрессе Европейского общества атеросклероза (Лиссабон, Португалия, 2018), XXVII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2024), 14-м Международном конгрессе по аутоиммунитету (Любляна, Словения, 2024).

Реализация результатов работы. Полученные результаты и разработанные методические усовершенствования интегрированы в интеллектуальную систему контроля качества ООО «НПФ «ХЕЛИКС».

Получена государственная регистрация программы для ЭВМ: Садовников П.С., Гуревич В.С., Музалевская М.В., Пахомов В.А. «Программа для вычисления липопротеидов низкой плотности при разных уровнях триглицеридов крови» (Cal-LDL). Пат. RU2023610800, 13.01.2023, заявка 2022686528 от 28.12.2022. Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Программа используется в практической деятельности КДЛ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова для замены прямого энзиматического метода определения ХС-ЛНП.

Также, на основании формулы разработан и опубликован в свободном доступе по адресу <https://www.ateroshkola.ru/kalculator.html> онлайн калькулятор для определения расчетного показателя липопротеинов низкой плотности.

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликованы девять печатных работ в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. В том числе три работы по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (биологические науки), пять работ по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки) и одна глава монографии.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах и включает: введение, обзор литературы, раздел «Материалы и методы», глав, посвященных результатам собственных исследований, обсуждение полученных результатов, положения, выносимые на защиту, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшего развития темы, список сокращений, а также библиографический список из 200 источников, среди которых 51 отечественный и 149 зарубежных. Текст иллюстрирован 10 таблицами и 27 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Дизайн экспериментальной части исследования

Исследование было одобрено локальным комитетом по вопросам этики ФГБУЗ «Клиническая больница № 122 им. Л. Г. Соколова ФМБА РФ». Для сравнения показателей липидограммы в венозной и капиллярной крови использовался биоматериал 51 условно здорового добровольца (17 мужчин и 34 женщины) европеоидной расы в возрасте от 21 года до 48 лет. В исследовании для

верификации референсных интервалов приняли участие 40 условно здоровых добровольцев: 20 мужчин и 20 женщин в возрасте от 20 до 49 лет. Для оценки соотносимости результатов измерений двух аналитических систем из офисных сотрудников двух организаций отобрали 36 добровольцев мужского и женского пола в возрасте от 18 до 65 лет. Для оценки возможности самостоятельного сбора капиллярной крови для получения достоверных лабораторных результатов в исследование включили 49 добровольцев мужского и женского пола в возрасте от 18 до 65 лет. Все пробы получены в условиях процедурного кабинета с 10 до 12 часов утра после 10-часового голодания. Перед проведением исследования определяли степень гемолиза, иктеричности и липемии образцов на анализаторе Roche Cobas c 702 («Roche Diagnostics GmbH», Германия). Результаты всех тестов были получены в день получения образцов после их преаналитической обработки.

Все данные получены из трех лабораторий одной сети. Для анализа возрастных и гендерных особенностей были выгружены обезличенные результаты у 22436 лиц мужского и 35100 лиц женского пола в возрасте от 13 до 94 лет. Для определения оптимальной формулы для расчета уровней ХС-ЛНП анализу подверглись 750000 случайно выбранных записей о липидном статусе около 300000 мужчин и 450000 женщин без отбора по возрасту, проживающих в европейской части РФ. Анализ сезонных колебаний липидного профиля выполнялся на основании обучающего корпуса данных, использованного ранее для оптимизации расчетной формулы. Оценку взаимодействия выработки иммуноглобулинов G (IgG) к тяжелому острому респираторному синдрому, вызванному вирусом коронавируса 2 (SARS-CoV-2) S1/S2 и показателей липидного обмена проводили по 4230 результатам: у 2522 женщин получено 1608 отрицательных и 914 положительных результатов, у 1708 мужчин получено 1018 отрицательных и 690 положительных результатов на IgG к SARS-CoV-2 S1/S2.

Лабораторные методы исследования

Биохимические и иммунотурбидиметрические исследования производились на анализаторах Roche Cobas c 502, c 702 («Roche Diagnostics GmbH», Германия). Количественные IgG к SARS-CoV-2 S1/S2 измерялись на анализаторе LIAISON XL («DiaSorin S.p.A», Италия) хемилюминесцентным иммуноанализом. Уровни ОХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, ТГ измерялись ферментативными колориметрическими методами. Содержание С-реактивного белка, измеренного высокочувствительным методом (вчСРБ), определялось иммунотурбидиметрическим методом с латексным усилением, клинический анализ крови выполнялся на 5-diff анализаторах XN-9000 («Sysmex», Япония). CV_a для ТГ, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, вчСРБ, IgG к SARS-CoV-2 S1/S2 были 1,8%, 1,7%, 3,0%, 3,17%, 9,1% соответственно.

Статистическая обработка данных

Для статистического анализа данных использовались методы описательной статистики, анализа распределений, выборочных сравнений и поиска зависимостей. Выбросы определяли с помощью расстояния Махаланобиса между точками в многомерном пространстве с уровнем значимости $p < 0,001$, с учетом всех исследуемых показателей. Асимметрию распределения показателей корригировали расчетом средних значений с 95% доверительным интервалом

(ДИ) по предварительно преобразованным по Боксу-Коксу данным, с последующей ретрансформацией полученных значений в исходную шкалу. Решение об использовании дисперсионного анализа для сравнения групп принимали после проверки распределения данных на нормальность методом Шапиро-Уилка и однородности дисперсий с использованием теста Флигнера-Киллина и критерия Левене. Взаимоотношения показателей анализировали с помощью дисперсионного анализа, с последующими апостериорными сравнениями по критерию Тьюки. Для анализа взаимоотношений вчСРБ с другими показателями использовали коэффициент корреляции Пирсона. Для получения сглаженных кривых использовали регрессионную технику обобщенных аддитивных моделей. Расчеты и графические построения выполнены в программной среде Python (версии 3.9.2 – 3.11.4) с помощью библиотек numpy (1.26.4), seaborn (0.12.2), matplotlib (3.7.2), sklearn (0.23.2), pygam (0.9.1), scipy (1.11.3), pandas (1.5.2), pingouin (0.5.4) и statsmodels (0.12.0).

Результаты собственных исследований

Результаты сравнения уровня липидных показателей венозной и капиллярной крови

Статистически значимо сниженные показатели в капиллярной крови относительно венозной: ХС-ЛВП (–2,84%), ХС-ЛНП (–1,30%), ОХС (–1,08%). ТГ значимо больше (3,75%) (Рисунок 1).

Смещения всех исследуемых показателей, вне зависимости от группы, могут быть объяснены влиянием CV_a . Различия результатов статистически фиксируемы, но не должны влиять на интерпретацию клинических результатов и принятие терапевтических решений.

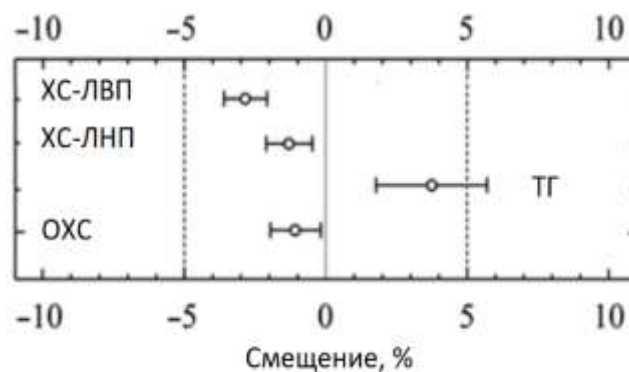


Рисунок 1 – Сравнение результатов липидограмм сыворотки венозной и капиллярной крови

Показатели липидного обмена, полученные пациентом после самостоятельного взятия капиллярной крови

Результаты регрессионного анализа самостоятельного взятия капиллярной крови (Рисунок 2) продемонстрировали высокую, статистически значимую ($p < 0,001$) степень соответствия по всем результатам прямых измерений.

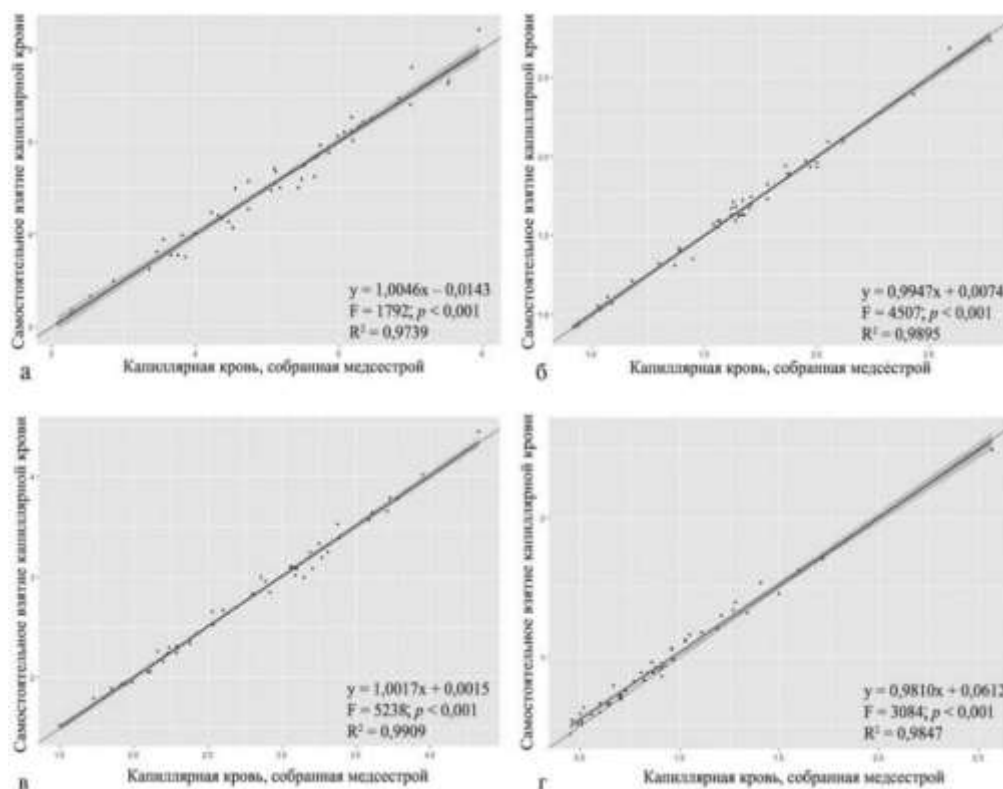


Рисунок 2 – Диаграммы рассеяния с отображением регрессионных моделей результатов прямых измерений исследуемых аналитов: а – ОХС; б – ХС-ЛВП; в – ХС-ЛНП; г – ТГ

При отложенном центрифугировании образцов на 4 ($n = 14$), 8 ($n = 19$) и 24 часа ($n = 16$) статистически значимого смещения результатов ни по одному из исследуемых аналитов выявлено не было (Рисунок 3).

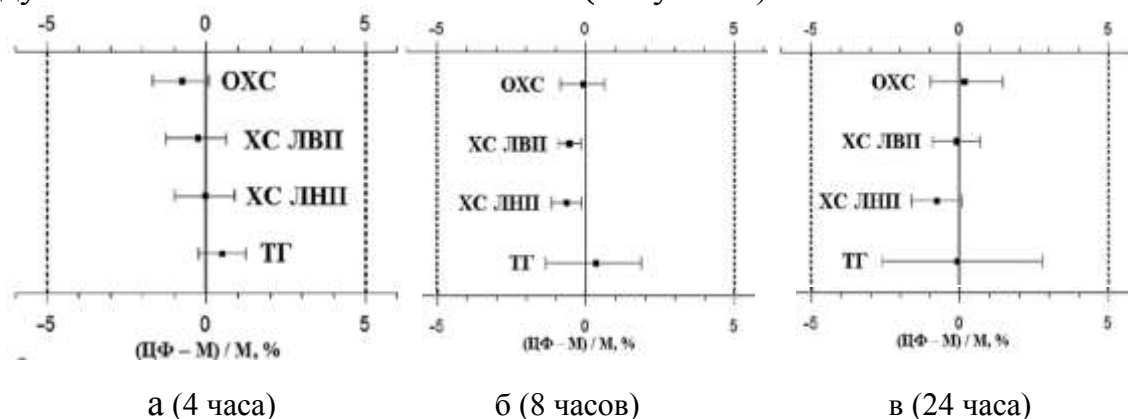


Рисунок 3 – Оценка влияния временных интервалов задержки центрифугирования (ЦФ) на а) 4, б) 8, в) 24 часа на смещение результатов измерений липидного профиля капиллярной крови по сравнению с образцами, обработанными в течение стандартных 2 часов (М).

Возрастные и гендерные особенности липидного спектра жителей Российской Федерации

Рассчитали долю лиц с отклонениями липидных параметров от установленных референсных границ в обследованной популяции (Рисунок 4).

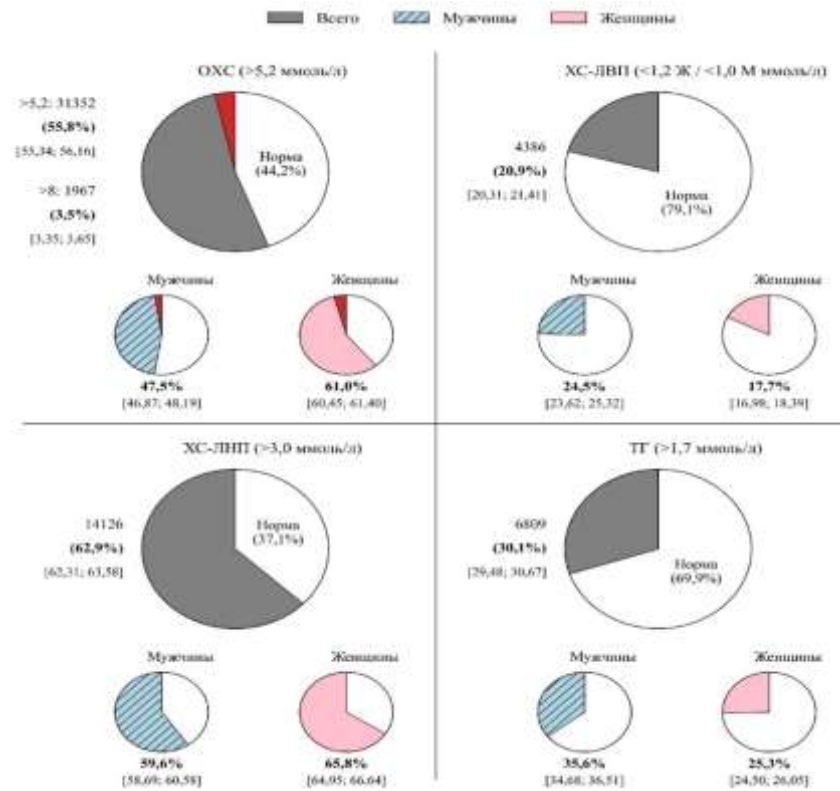


Рисунок 4 – Доля лиц с отклонениями липидных параметров в исследуемой популяции

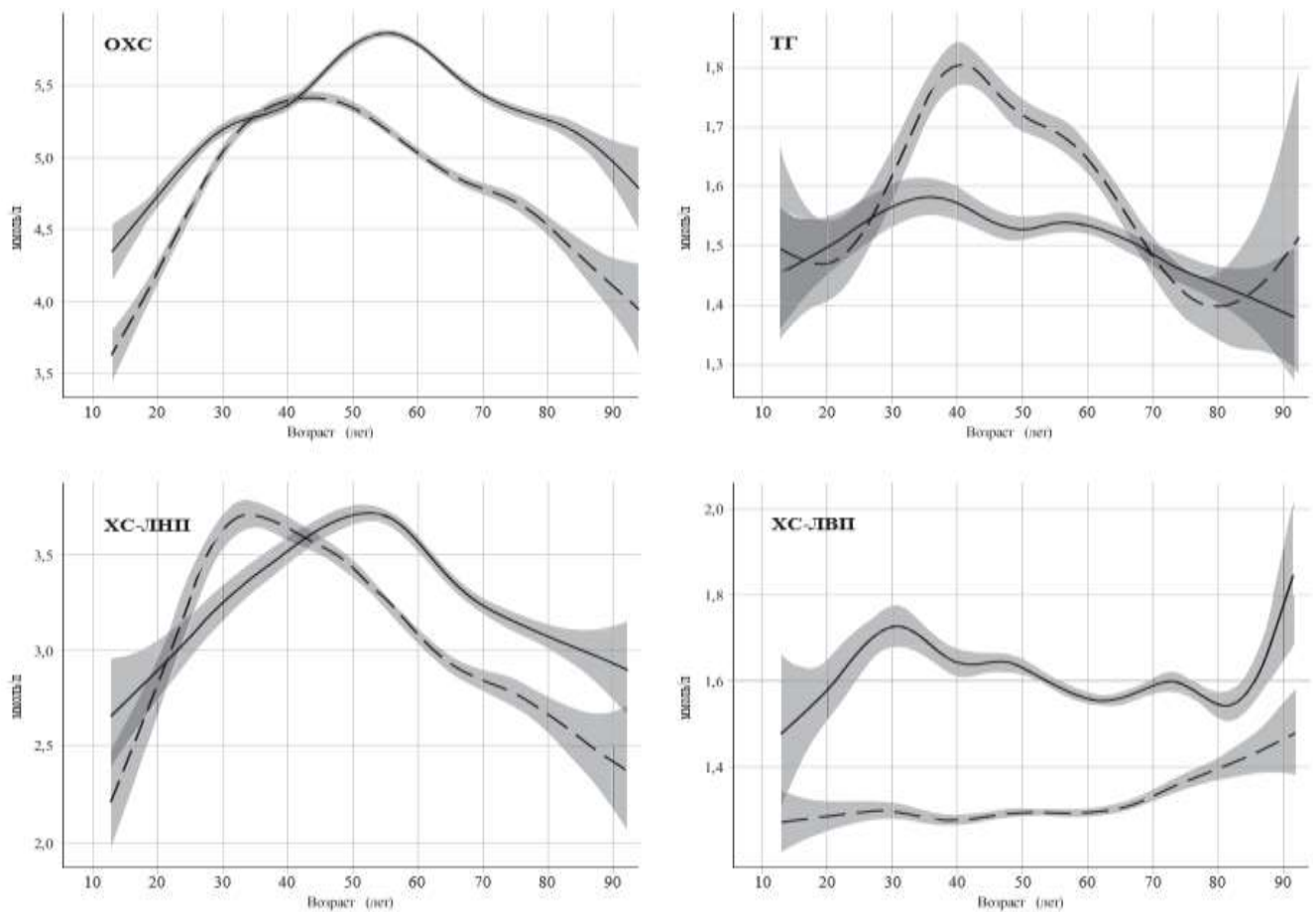


Рисунок 5 – Изменения показателей липидограммы с возрастом. Пунктирная линия – мужчины; сплошная линия – женщины. 95% ДИ представлен затемненными областями.

Минимальный уровень ОХС регистрировался в группе от 13 до 21 года (Рисунок 5), а наибольший – во втором периоде среднего возраста как у мужчин, так и у женщин, хотя пик повышения ОХС у мужчин наблюдается примерно на 10 лет раньше.

В возрасте 22 и 42 лет кривые возрастной динамики ХС-ЛНП у мужчин и женщин пересекаются. При этом наблюдается прогрессивное снижение ХС-ЛНП с возрастом как у мужчин, так и у женщин.

Для ХС-ЛВП наблюдается монотонное нарастание среднего уровня с возрастом, тогда как у женщин он резко возрастает от минимального в возрасте 13 лет до максимального в возрасте 25 лет с последующим снижением до 80 лет.

Для ТГ наблюдается разный профиль кривых возрастной динамики уровня в зависимости от пола. У женщин она имеет характер плато и монотонно снижается в постменопаузе, а у мужчин имеет ярко выраженный пик в возрасте 40 лет.

Анализ сезонных колебаний про- и антиатерогенных липопротеинов

Обнаружено, что показатели ХС-ЛНП обладают сезонными колебаниями с наиболее высоким популяционным уровнем в зимний период и заметным снижением в летний период. Вместе с тем медианный уровень ХС-ЛНП в 2020 году характеризуется значительным снижением по сравнению с остальными годами на протяжении всего года с максимальным снижением в летние месяцы (Рисунок 6).

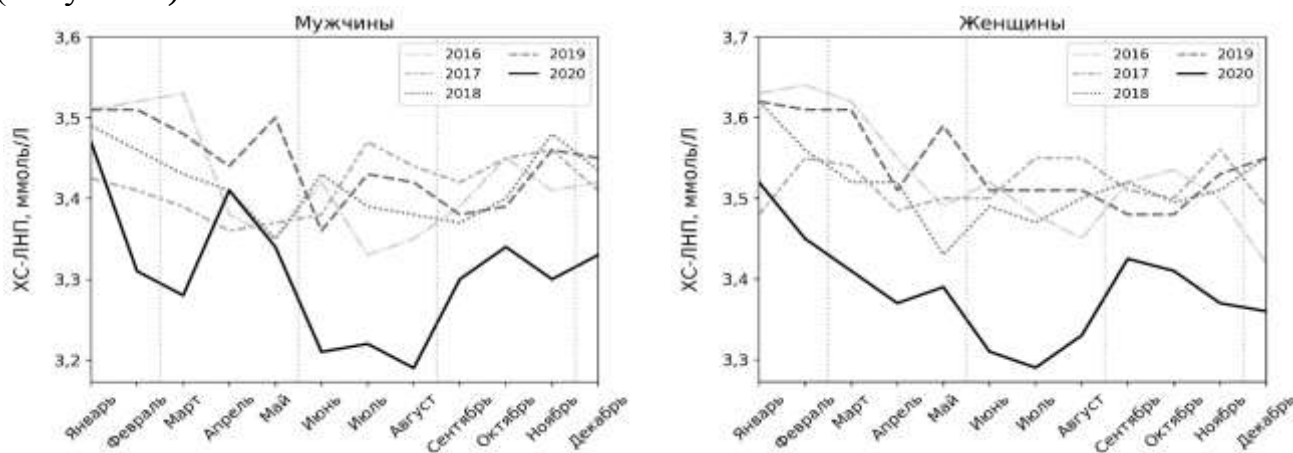


Рисунок 6 – Динамика медиан уровня ХС-ЛНП по месяцам за 2016 – 2020 гг.

Пятилетнее сравнение сезонных уровней ХС-ЛВП также выявило прогрессирующее снижение медиан значений этого показателя в популяции для обоих полов, но при этом наблюдается ежегодная тенденция к увеличению уровня ХС-ЛВП в марте-апреле. Обращает на себя внимание значительное снижение популяционного уровня ХС-ЛВП, более выраженное у мужчин, в апреле COVID-19-пандемического 2020 года (Рисунок 7).

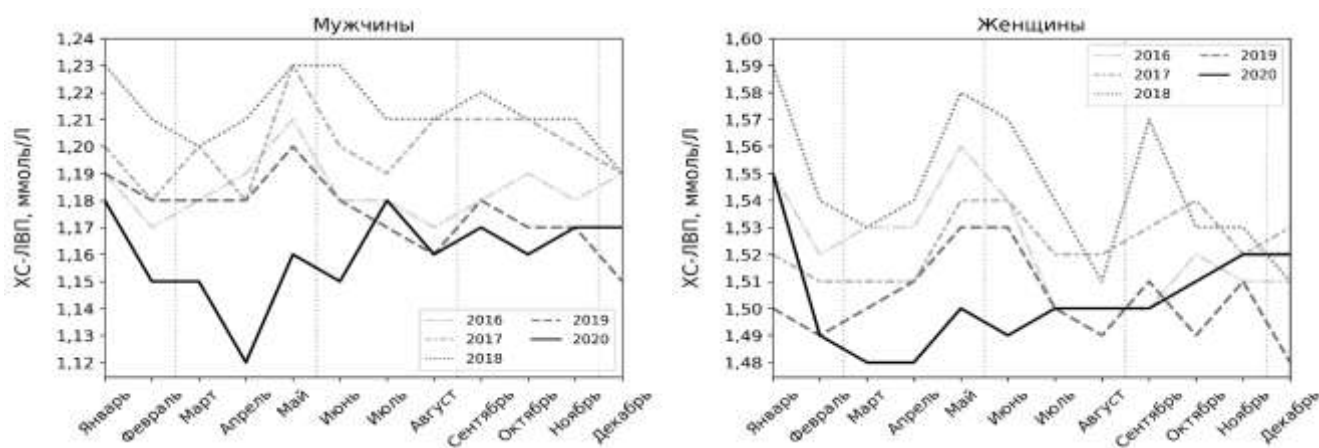


Рисунок 7 – Динамика медиан уровня ХС-ЛВП по месяцам за 2016 – 2020 гг.

Влияние сезонной респираторно-вирусной инфекции на популяционные показатели липидного обмена

До уровня вЧСРБ в 2,5 мг/л наблюдается значимое увеличение популяционных показателей ХС-ЛНП с коэффициентом корреляции 0,14 для женщин ($p < 0,001$) и 0,10 у мужчин ($p < 0,001$). При уровнях вЧСРБ более 2,5 мг/л отмечается смена тенденции на обратную зависимость с коэффициентом корреляции -0,07 для женщин ($p < 0,001$) и -0,09 у мужчин ($p < 0,01$) (Рисунок 8).

При значениях вЧСРБ менее 2,5 мг/л популяционные уровни ХС-ЛВП резко снижаются с корреляцией -0,23 ($p < 0,001$) у женщин и -0,22 ($p < 0,001$) у мужчин, а по достижению значений вЧСРБ 2,5 мг/л и выше, корреляция, оставаясь достоверной, ослабляется до -0,12 ($p < 0,001$) у женщин и до -0,09 ($p < 0,001$) у мужчин (Рисунок 8).

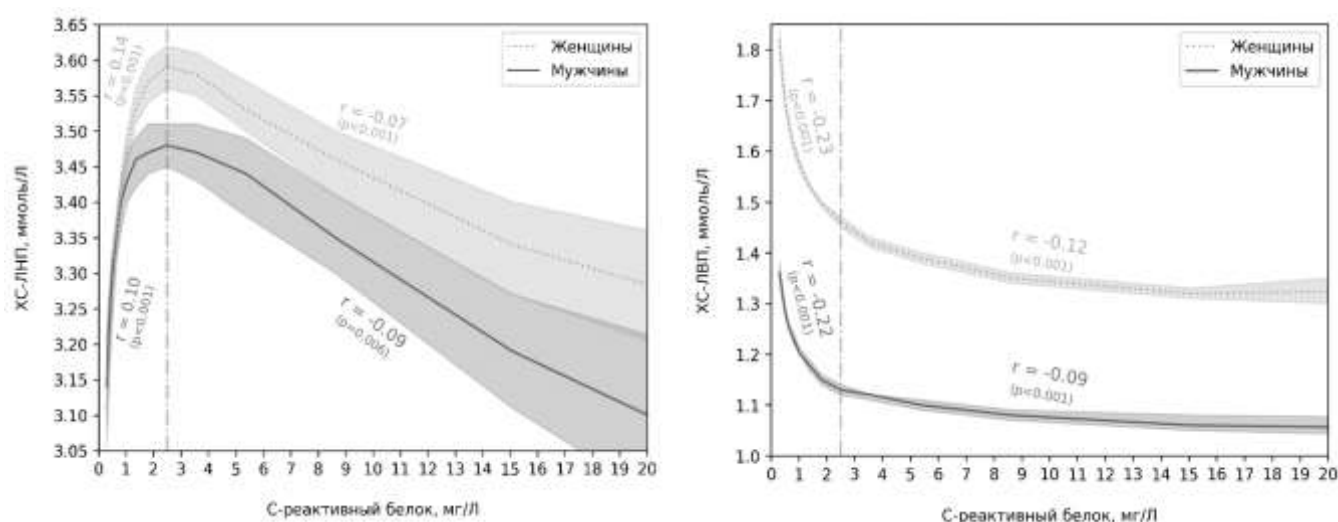


Рисунок 8 – Взаимоотношение уровней ХС-ЛНП (слева) и ХС-ЛВП (справа) с содержанием вЧСРБ в мужской и женской популяциях. Изображены сглаженные кривые с 95% ДИ, рассчитанные с помощью обобщенных аддитивных моделей преобразованных по Боксу-Коксу данных, а затем восстановленные в исходную шкалу. Вертикальной пунктирной линией изображен порог концентрации вЧСРБ в 2,5 мг/л. Коэффициенты корреляции и их статистическая сила приведены отдельно для участков вЧСРБ менее и более 2,5 мг/л

В зимне-весенний период наблюдается независимая от пола положительная корреляция между уровнем ХС-ЛВП и процентом моноцитов ($r = 0,330$, $p < 0,05$) и отрицательная корреляция между уровнем ХС-ЛВП и количеством лимфоцитов ($r = -0,280$, $p < 0,05$).

Анализ влияния COVID-19 на про- и антиатерогенные липопротеины

Дисперсионный анализ влияния наличия IgG к SARS-CoV-2 S1/S2 на уровень ХС-ЛНП не показал достоверной разницы средних значений у обоих полов. В это же время уровни ХС-ЛВП с увеличением иммунного ответа на COVID-19 достоверно снижались. Этот эффект был значительно более выражен у женщин (Рисунок 9).

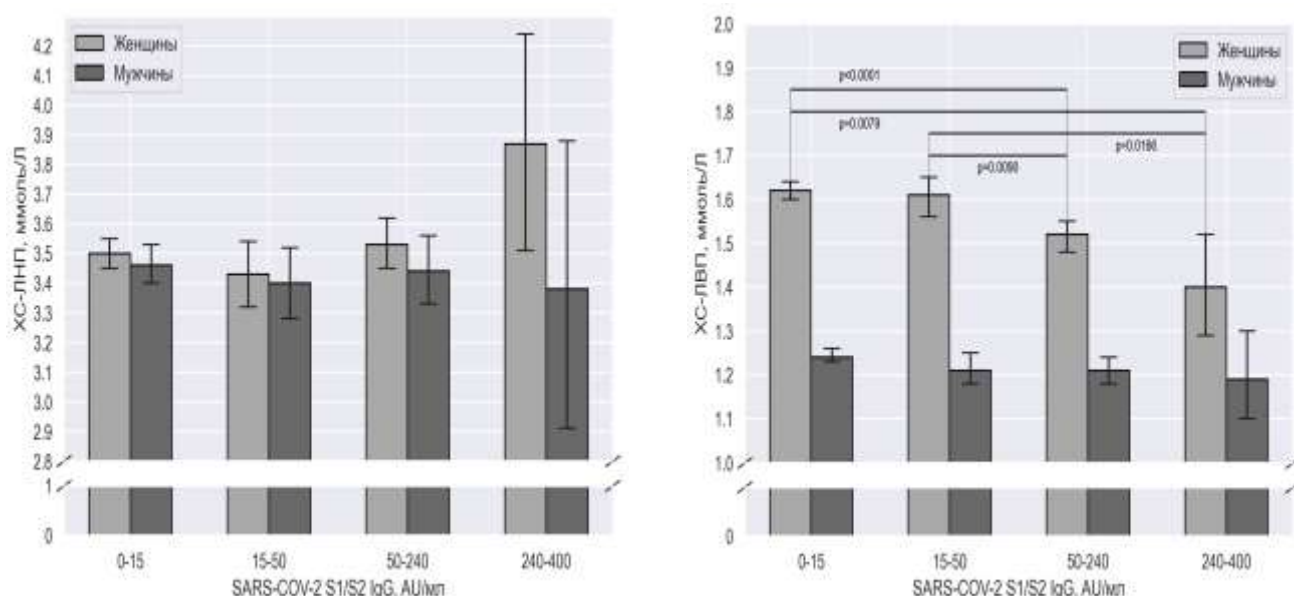


Рисунок 9 – Среднее содержание ХС-ЛНП (слева) и ХС-ЛВП (справа) в группах с разным уровнем антител к COVID-19. На графике представлены средние уровни липопротеинов с 95% ДИ у мужчин и женщин в зависимости от силы иммунного ответа на SARS-CoV-2, выраженной в порогах выработки определенной концентрации IgG. Группы мужчин и женщин между собой не сравнивались, приведены статистически значимые отличия между группами внутри пола.

Результаты верификации референсных значений показателей липидного профиля для популяции Северо-Западного федерального округа Российской Федерации

Показатели ОХС, ХС-ЛНП и ТГ попадают в указанные границы CLSI в пределах допустимого отклонения в 2 образца. ХС-ЛВП не проходит по критериям CLSI: у обоих полов наблюдается избыточное количество наблюдений выше ожидаемого диапазона (Таблица 1).

Таблица 1 – Результаты верификации референсных интервалов для показателей липидограммы

Показатель, ед.	Пол	Нижняя граница РИ	Верхняя граница РИ	Медиана	Расчетный РИ, 90% ДИ (robust)		n < РИ	n > РИ	Внутр и РИ
ОХС, ммоль/л	Ж	2,9	5,2	3,91	3,14	4,86	0	0	20
	М	2,9	5,2	4,38	3,77	5,06	0	0	20
ХС-ЛВП, ммоль/л	Ж	1,15	1,68	1,51	1,08	2,21	0	8	12
	М	0,90	1,45	1,31	0,89	1,68	1	3	16
ХС-ЛНП, ммоль/л	Ж	0	3,3	2,47	1,08	3,04	0	0	20
	М	0	3,3	2,88	2,18	3,50	0	1	19
ТГ, ммоль/л	Ж	0	2,25	0,62	0,20	1,12	0	0	20
	М	0	2,25	0,94	0,52	1,31	0	0	20

Сравнение результатов экспресс-анализатора CardioChek PA и стационарного анализатора Roche Cobas c 702

Средний уровень ОХС, оцененный с помощью портативного прибора, на 3,75%, а ХС-ЛНП – на 24,00% ниже по сравнению с прямым методом измерения на Roche c 702 и на 13,35% ниже значения ХС-ЛНП, вычисленного согласно формуле Фридвальда по данным ОХС, ХС-ЛВП и ТГ, полученным на Roche Cobas c 702 (Рисунок 10).

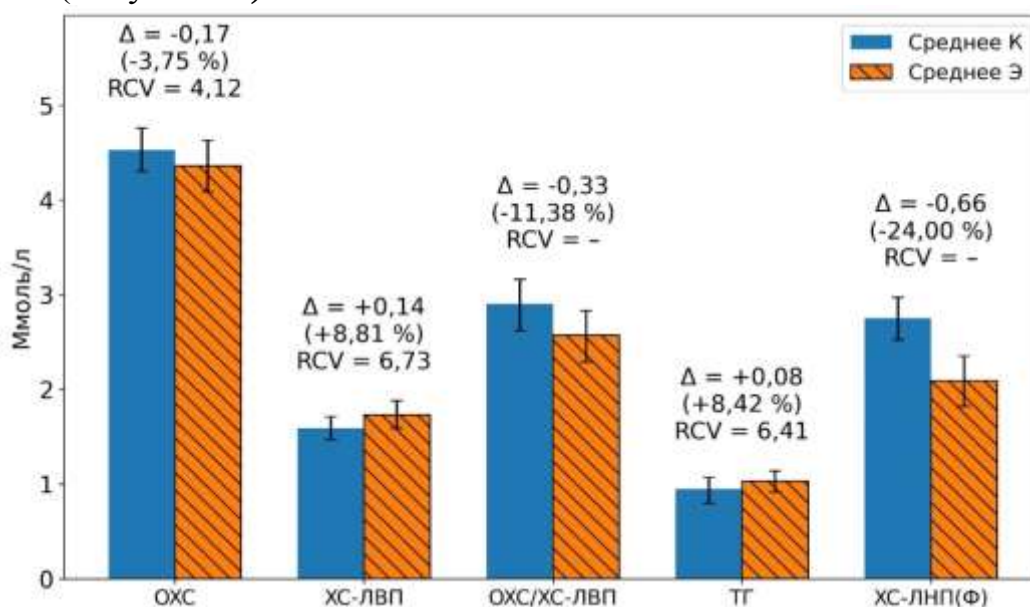


Рисунок 10 – Сопоставление показателей липидограммы капиллярной крови, измеренных на CardioChek PA (Э) и Roche Cobas c 702 (К). ХС-ЛНП(Ф) – разность приведена между расчетным по методу Фридвальда Э и прямым измерением К

Уровень ХС-ЛВП при выполнении экспресс-анализа был в среднем на 8,81%, а ТГ – на 8,42% выше, чем при определении тех же параметров в сыворотке крови с помощью анализатора Roche Cobas c 702.

Разработанная формула для расчета уровня холестерина липопротеинов низкой плотности

Опираясь на современную парадигму представлений о метаболизме липопротеинов, где центральным механизмом регуляции уровня липидов крови является взаимосвязь между внепеченочным ХС-ЛОНП и ХС-нелОНП, можно построить график зависимости реальной разницы между ХС-нелВП и ХС-ЛНП, т.е. график зависимости ХС-ЛОНП от ТГ всех фракций липопротеинов.

Линейный характер выявленной зависимости позволяет аппроксимировать ее с использованием модели:

$$\text{расХС-ЛНП} = \text{ХС-нелВП} - (\text{ТГ}/3 - 0,14). \quad (1)$$

Применение расХС-ЛНП позволяет компенсировать систематическое занижение значений по сравнению с пХС-ЛНП, характерное для фХС-ЛНП (Рисунок 11).

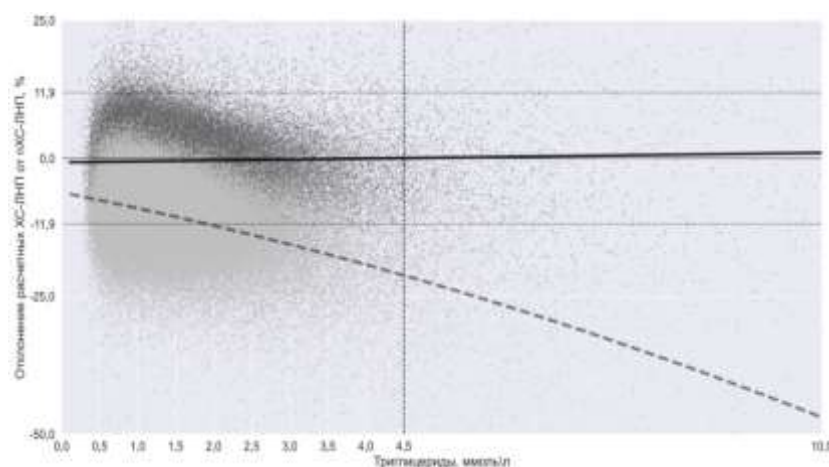


Рисунок 11 – Влияние уровня ТГ на отклонение расчетного значения ХС-ЛНП от прямого измерения: сравнение новой формулы (сплошная черная линия) и уравнения Фридвальда (серая пунктирная линия)

Наиболее значимым преимуществом нашей формулы по сравнению с альтернативными является наибольшее количество результатов, не превышающих допустимой ошибки в соответствии с критериями TE_a (Рисунок 12).

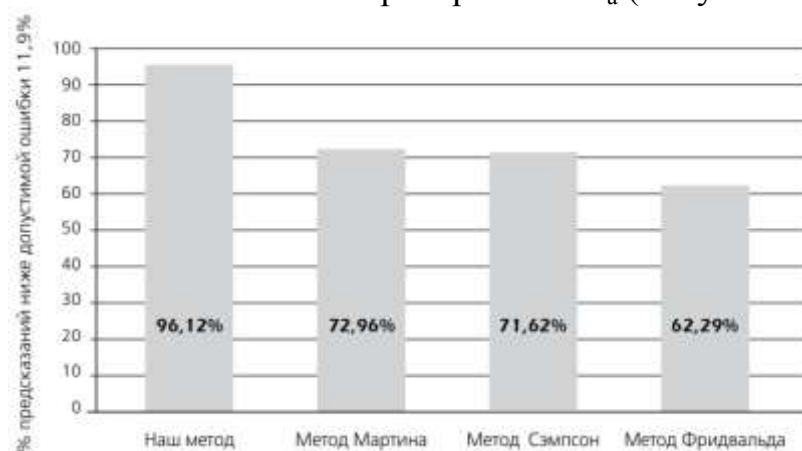


Рисунок 12 – Доля расчетных значений ХС-ЛНП, укладывающихся в пределы допустимого отклонения на всем диапазоне концентраций ТГ

Кроме того, отмечается рост доли пациентов, корректно стратифицированных по группам риска в соответствии с действующими клиническими рекомендациями (Таблица 2).

Таблица 2 – Согласованность стратификации по уровням ХС-ЛНП при сравнении расчетных формул с прямым измерением (ТГ: 0-4,5 ммоль/л)

Процент соответствия расчетного значения диапазону группы риска				
ХС-ЛНП, ммоль/л	Формула Фридвальда	Формула Мартина	Формула Сампсона	Наша формула
1,00 – 1,39	56,38	64,50	63,06	69,17
1,40 – 1,79	46,60	56,45	54,19	74,85
1,80 – 2,49	65,56	73,54	72,33	86,04
2,50 – 3,49	70,07	75,50	76,32	88,53
3,50 – 4,90	67,36	71,46	73,88	89,35
>4,90	56,39	57,70	62,02	85,28

ВЫВОДЫ

1. Смещения показателей ОХС (–1,08%), ХС-ЛВП (–2,84%), ХС-ЛНП (–1,30%) и ТГ (3,75%) в капиллярной крови по отношению к венозной укладываются в допустимую аналитическую погрешность.

2. Доказано отсутствие статистически значимых различий показателей липидного спектра в пробах капиллярной крови, собранных процедурной медсестрой и пациентом самостоятельно. Центрифугирование проб капиллярной крови, отложенное на 24 часа, не приводит к достоверным изменениям показателей липидного профиля по сравнению со стандартным 2-х часовым интервалом от момента сбора.

3. Обнаружено изменение величины и характера сезонных популяционных колебаний значений ХС-ЛНП и ХС-ЛВП во время эпидемии COVID-19 в 2020 г., ассоциированное с достоверной отрицательной корреляционной взаимосвязью уровней ХС-ЛВП и специфических антител к SARS-CoV-2 S1/S2.

4. Результаты исследований ОХС и ТГ, выполненных на портативном приборе CardioChek PA, сопоставимы с результатами, полученными на стационарном анализаторе Roche Cobas c 702, однако, для ХС-ЛНП выявлены систематические смещения, выходящие за пределы допустимой аналитической погрешности.

5. По результатам анализа полных индивидуальных липидограмм 299870 лиц мужского и 450130 лиц женского пола предложена линейная модель описания популяционных взаимоотношений циркулирующих ХС-ЛОЛНП и ХС-неЛОЛНП, на основании которой оптимизирована расчетная формула, позволяющая получать результаты ХС-ЛНП для российской популяции в пределах допустимой погрешности в 96,12% случаев при значениях ТГ от 0,1 до 30 ммоль/л.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты выполненного диссертационного исследования позволяют сформулировать следующие практические рекомендации для специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей-кардиологов:

1. При развитии сервисов для контроля липидных показателей с самовзятием капиллярной крови пациентами и доставкой в лабораторию необходимо укладываться во временное окно до 24 часов.

2. Не рекомендуется использование экспресс-диагностики при контроле уровня ХС-ЛНП в условиях ЛПУ, однако возможно использование анализатора Cardiocheck РА для самоконтроля уровней ОХС, ХС-ЛВП и ТГ.

3. При отсутствии возможности прямого измерения уровня ХС-ЛНП в пробах крови пациентов с уровнем ТГ более 4,5 ммоль/л, у которых неприменима формула Фридвальда, а также в скрининговых и популяционных исследованиях, предлагается использовать уточненную нами формулу для расчета уровня ХС-ЛНП, независимую от уровня ТГ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективным направлением является изучение сезонной изменчивости липидного профиля и ее связи с активностью иммунной системы при различных заболеваниях, включая сезонные подъемы респираторно-вирусных инфекций, что может способствовать разработке новых диагностических подходов, направленных на повышение эффективности обследования пациентов с дисфункцией метаболизма липидов.

Выявленные половые различия в ассоциациях между показателями липидного профиля и концентрацией IgG к SARS-CoV-2, зафиксированные в период пандемии COVID-19, стимулируют расшифровку клеточно-молекулярных путей, посредством которых липидный обмен ассоциирован с гуморальным иммунным ответом. Более того, данная модель может быть экстраполирована на изучение подобных взаимодействий при иных инфекционных и неинфекционных состояниях, что позволит глубже понять перекрестное влияние метаболической и иммунной систем.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также международных базах данных, для опубликования основных научных результатов диссертации по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная

диагностика:

по биологическим наукам:

1. Садовников П.С. Влияние COVID-19 на про- и антиатерогенные липопротеины (кросс-секционное популяционное исследование) / Садовников П.С., Кузнецова Ю.А., Голичина П.С., Гуревич В.С. // Российский кардиологический журнал. 2024. Т. 29, № 8. С. 5960

2. Садовников П.С. Расчетные формулы холестерина липопротеинов низкой плотности в кардиологической практике: чем больше формул, тем лучше?

/ Садовников П.С., Гуревич В.С. // Альманах клинической медицины. 2025. Т. 53, № 1. С. 43–52.

3. Садовников П.С. Возрастные и гендерные особенности липидного спектра крови городских жителей (по результатам кросс-секционного исследования) / Уразгильдеева С.А., Никорогодцев М.Ю., Садовников П.С., Ольховик А.Ю., Нохрин Д.Ю., Музалевская М.В., Шутрова И.В., Маленьковская Д.Г., Гребцова А.В., Гуревич В.С. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2017. Т. 13, № 5. С. 637–644.

по медицинским наукам

4. Садовников П.С. Расчетный метод определения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности на основании современной парадигмы метаболизма липидов / Садовников П.С., Ольховик А.Ю., Гуревич В.С. // Атеросклероз и дислипидемии. 2022. Т. 3, № 48. С. 21–28.

5. Садовников П.С. Верификация ожидаемых значений тест-систем соя в качестве референсных интервалов для российской популяции Северо-Западного федерального округа / Ольховик А.Ю., Окша Т.А., Садовников П.С., Васильев А.В., Эмануэль В.Л. // Лабораторная служба. 2019. Т. 8, № 3. С. 20–30.

6. Садовников П.С. Сравнение биохимических показателей капиллярной и венозной крови при единовременном взятии биоматериала / Ольховик А.Ю., Садовников П.С., Васильев А.В. // Лабораторная служба. 2018. Т. 7, № 2. С. 5–11.

7. Садовников П.С. Точность определения липидов крови на экспресс-анализаторе CARDIOCHECK PA / Ольховик А.Ю., Уразгильдеева С.А., Садовников П.С., Васильев А.В., Гуревич В.С. // Атеросклероз и дислипидемии. 2018. Т. 3. С. 21–27.

8. Садовников П.С. Сравнительный анализ точности определения липидов в образцах капиллярной крови, собранной медсестрой и пациентом самостоятельно / Ольховик А.Ю., Эмануэль В.Л., Садовников П.С., Васильев А.В., Уразгильдеева С.А., Гуревич В.С. // Лабораторная служба. 2018. Т. 3. С. 18–25.

Глава в монографии

9. Churilov L.P., Gurevich V.S., Sadovnikov P.S., Djuric D.M., Agrawal D.K. Seasonality of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Role of Natural and Anthropogenic Factors // Environmental Factors in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases. Advances in Biochemistry in Health and Disease. Springer, Cham, 2024. Vol. 30. P. 95–132.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

вчСРБ – С-реактивный белок методом с высокой чувствительностью
ДИ – доверительный интервал
ДЛП – атерогенные дислипидемии
ОХС – общий холестерин
РИ – референсные интервалы
РФ – Российская Федерация
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ФГБУЗ – федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ФМБА – федеральное медико-биологическое агентство
ХС-ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС-ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности
ХС-ЛОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности
CLSI – The Clinical & Laboratory Standards Institute (Институт клинических и лабораторных стандартов)
COVID-19 – COronaVirus Disease 2019 (респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2)
CV_a – Coefficient of Variance analytical (аналитический коэффициент вариации)
IgG – иммуноглобулин G
SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (тяжелый острый респираторный синдром, вызванный вирусом коронавируса 2)