

## ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

### ВЛИЯНИЕ КИНУРЕНИНОВ НА СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРО- МЕДИАТОРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С РАЗНЫМ УРОВНЕМ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ

*Л.Д. Попова*

*Харьковский национальный медицинский университет*

Исследовано влияние кинуреновой кислоты на содержание глутамата, ГАМК, катехоламинов в головном мозге крыс с разным уровнем судорожной готовности. Кинуреновая кислота вызывала значительные изменения в содержании катехоламинов в головном мозге крыс с высокой и низкой судорожной готовностью, а также снижение уровня ГАМК в височной коре и мозжечке крыс с высокой судорожной готовностью. Особенно значительным было влияние кинуреновой кислоты на содержание норадреналина. Введение кинуреновой кислоты приводило к устранению различий между группами по большинству исследованных параметров.

**Ключевые слова:** кинуреновая кислота, глутамат, ГАМК, норадреналин, дофамин.

Судорожная готовность головного мозга зависит от соотношения между процессами возбуждения и торможения. В последние годы всё больше внимания уделяется исследованию влияния на это соотношение эндогенных биорегуляторов вненейронального происхождения.

Среди таких эндогенных метаболитов особое внимание привлекают интермедиаты кинуренинового пути обмена триптофана. Они синтезируются в головном мозге. Некоторые из них (в частности L-кинуренин, 3-гидрокскинуренин, антраниловая кислота), синтезированные на периферии, могут существенно влиять на соответствующий церебральный пул. Некоторые кинуренины (в частности кинуреновая и хинолиновая кислоты) имеют нейротропную активность.

Одним из механизмов участия кинуренинов в генезе судорожной готовности головного мозга может быть их влияние на содержание медиаторов. По мнению авторов [1, 2], нормальные колебания в содержании нейроактивных интермедиатов кинуренинового пути обмена триптофана в головном мозге могут модулировать нейротрансмиттерные системы.

В настоящее время глутаминовая кислота рассматривается как основной медиатор

возбуждения в ЦНС [3]. ГАМК является наиболее распространённым нейротрансмиттером торможения в мозге млекопитающих [4], хотя при определённых условиях это вещество приводит к возбуждению нейронов [3]. Основное значение в регуляции двигательной активности имеют дофаминергические системы мозга [5]. Основная часть дофаминергических нейронов расположена в компактной зоне substantia nigra. Именно нигростриарный дофаминергический путь играет ведущую роль в регуляции двигательной функции [5]. Есть данные, указывающие на существование норадренергического пути от locus coeruleus к substantia nigra, через который осуществляется модуляторный контроль активности дофаминергического нигростриарного пути [5].

В связи со сказанным целью данной работы было исследование влияния кинуренинов на содержание в головном мозге крыс глутамата, ГАМК и катехоламинов.

**Материал и методы.** Исследование проводили на крысах линии Вистар, тестированных по аудиогенной чувствительности [6] к звуковому раздражителю (звонок, 96 дБ). Продолжительность действия звука составляла 120 с. Из общей популяции крыс были отобраны две группы животных:

с низкой (группа Н) и высокой (группа В) судорожной готовностью, которых через две недели после тестирования использовали для экспериментов. У крыс с высокой судорожной готовностью наблюдается активация кинуренинового пути обмена триптофана [7] и накопление хинолиновой кислоты [8], поэтому исследование содержания медиаторов у животных группы В можно рассматривать как влияние повышенного уровня эндогенно образованного хинолината.

Часть животных с разным уровнем судорожной готовности в течение двух недель содержалась на рационе: 75 мг кинуреновой кислоты (КК) на 1 кг массы тела в сутки. КК проходит гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) путём пассивной диффузии [9]. Скорость её поступления в головной мозг в 100 раз меньше по сравнению с L-кинуренином, который проходит через ГЭБ с помощью транспортной системы для нейтральных аминокислот. Авторы [9] считают, что вклад КК крови в пул КК мозга незначителен, однако есть работы, в которых был получен терапевтический эффект при внутривенном введении КК [10, 11], а также данные о влиянии перорально введённой КК на активность индоламин-2,3-диоксигеназы и содержание серотонина в мозге крыс [7]. Это можно объяснить опосредованными эффектами КК, а также изменённой проницаемостью ГЭБ после судорог [12] и вследствие повышенной концентрации хинолиновой кислоты в головном мозге [13].

Исследовали следующие структуры головного мозга: височную кору, гипоталамус, мозжечок и ствол. Содержание глутамата и ГАМК определяли методом тонкослойной хроматографии на силуфоловых пластинах [14]. Экстракцию аминокислот проводили 96% -ным этиловым спиртом при

кипячении. Экстракты выпаривали при температуре 60–65 °С. Сухой осадок растворяли в воде в соотношении 1 мг исходной ткани : 1 мкл воды. Для разделения аминокислот использовали смесь бутанол : ледяная уксусная кислота : вода в соотношении 80 : 20 : 20. Для обнаружения пятен аминокислот использовали 0,5% -ный раствор нингидрина в 95% -ном ацетоне, содержащем 1% -ную уксусную кислоту. Элюцию аминокислот проводили 60% -ным спиртом с 0,005% -ным  $\text{CuSO}_4$ . Оптическую плотность измеряли при длине волны 540 нм.

Содержание норадреналина и дофамина определяли по методу Endo и Ogura [15]. Разделение проводили на КМЦ типа CM-52 фирмы Whatman Biochemical (Англия). КМЦ-колонку уравнивали 0,01 М фосфатным буфером (pH 6,2) и вносили нейтрализованный тканевой экстракт в количестве 1–4 мл. Элюцию норадреналина и дофамина проводили при комнатной температуре 15 мл 0,03 М фосфатного буфера (pH 6,2).

Биогенные амины определяли на спектрофлуориметре МПФ-4А фирмы Hitachi. Содержание норадреналина и дофамина определяли после окисления катехоламинов [16]. Длина волн возбуждения и люминесценции составляла для норадреналина 395/485, для дофамина 330/375 нм.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** У крыс с высокой судорожной готовностью наблюдалось уменьшение содержания глутамата в гипоталамусе и повышение в мозжечке по сравнению с группой с низкой судорожной готовностью (рис. 1). Содержание ГАМК у крыс группы В было повышено во всех исследованных структурах (рис. 2).

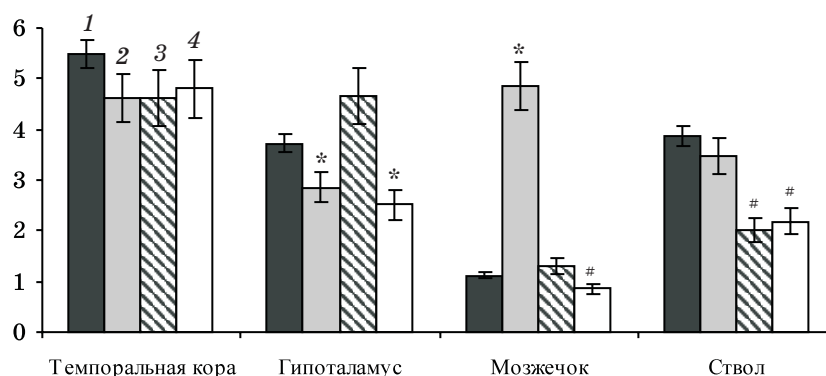


Рис. 1. Содержание глутамата в головном мозге крыс с низкой (1, 3) и высокой (2, 4) судорожной готовностью в зависимости от кинуреновой кислоты (3, 4). Разница достоверна: \* между группами 1 и 2; # между группами 3 и 4

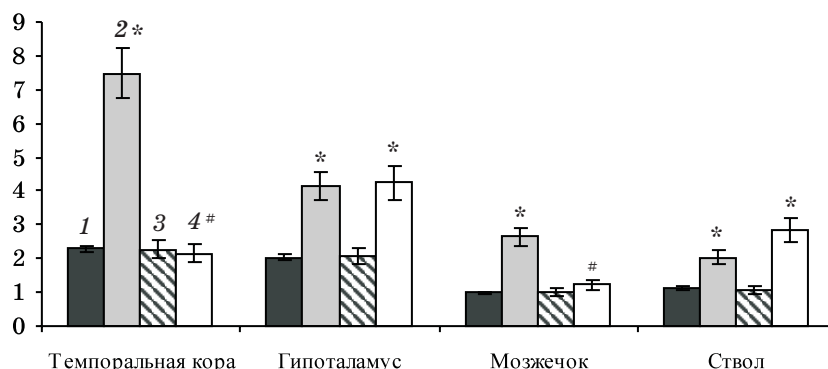


Рис. 2. Содержание ГАМК в головном мозге крыс с низкой (1, 3) и высокой (2, 4) судорожной готовностью в зависимости от кинуреновой кислоты (3, 4). Разница достоверна: \* между группами 1 и 2; # между группами 3 и 4

Полученные данные согласуются с данными [17], согласно которым у крыс со спонтанной эпилепсией уровень ГАМК в коре, гиппокампе и мозжечке был значительно выше, чем у устойчивых к судорогам крыс, а также с данными [18], согласно которым содержание ГАМК и количество ГАМК-эргических нейронов в центральном ядре inferior colliculus (структуре, относящейся к стволу мозга) возрастает у крыс, генетически предрасположенных к судорогам.

По мнению S.R. Snodgrass [19], теория эпилепсии, связанная с дефицитом ГАМК, в настоящее время менее убедительна. Автор приводит ряд фактов, подтверждающих его точку зрения.

В более поздних работах есть данные, которые как подтверждают, так и опровергают это мнение. Так, в работе [20] приведены данные, согласно которым микроинъекция баклофена (агониста ГАМК-В-рецепторов) в inferior colliculus крыс, генетически предрасположенных к судорогам, защищала их от аудиогенных судорог. Ингибирование ГАМК-трансаминазы повышало уровень ГАМК и блокировало чувствительность этих животных к аудиогенным судорогам. В работе [21] показано, что торможение ГАМК-эргических нейронов в substantia nigra приводит к уменьшению судорог на разных моделях эпилепсии, то есть активация этих нейронов способствует их развитию.

Усиление ГАМК-эргической передачи может как понижать, так и повышать возбудимость головного мозга в зависимости от того, в какой структуре это происходит [22]. На наш взгляд, это обусловлено существованием ГАМК-ауторецепторов, ГАМК-эргических интернейронов, возможностью экспрессии разных субъединиц рецепторов

ГАМК, обеспечивающих разную чувствительность к аллостерическим регуляторам. В частности, ГАМК-В-рецепторы расположены, в основном, в пресинаптической мембране [1, 2]. Они являются ауторецепторами, благодаря которым можно уменьшить высвобождение ГАМК и тем самым общий уровень ГАМК-опосредованного ингибирования. Блокада пресинаптических ГАМК-В-рецепторов приводит к угнетению эпилептоформной активности, так как уменьшает ингибиторный аутоконтроль высвобождения ГАМК по принципу обратной связи [23].

Возрастание содержания ГАМК у крыс группы В, возможно, связано с увеличением размера и количества ГАМК-эргических терминалей, в частности в мозжечке, гиппокампе и других структурах, в период развития мозга при условии активации NMDA-рецепторов, о чем свидетельствуют данные [24, 25].

В мозжечке существует несколько механизмов поддержания баланса между возбуждающими и ингибиторными входами в клетки Пуркинью, которые являются исключительно тормозными. Один из механизмов синаптической пластичности реализуется через потенцирование ингибиторной синаптической передачи на клетки Пуркинью [26]. У крыс группы В наблюдалось возрастание содержания ГАМК в мозжечке, а согласно данным литературы, именно в интернейронах развивающегося мозга происходит увеличение размера и количества ГАМК-эргических синапсов, то есть торможение торможения приводит, в конце концов, к возбуждению [27, 28].

При исследовании содержания катехоламинов у крыс с высокой судорожной готовностью наблюдалось существенное снижение содержания норадреналина во всех

исследованных структурах (рис. 3), что хорошо согласуется с многочисленными данными литературы о том, что повышенная судорожная готовность у генетически предрасположенных к эпилепсии крыс частично связана с дефицитом норадренергической передачи в ЦНС [29, 30].

Разница в содержании дофамина у крыс групп Н и В обнаружена только в гипоталамусе. У животных с высокой судорожной готовностью содержание дофамина ниже, чем у животных с низкой судорожной готовностью (рис. 4).

ется с полученными нами результатами о повышении содержания ГАМК в стволе мозга этих животных. Учитывая результаты работы [21], можно предположить, что повышение уровня ГАМК и ГАМК-эргической передачи в стволе головного мозга имеет важное значение для формирования повышенной судорожной готовности головного мозга. Повышение уровня ГАМК в коре и гипоталамусе, очевидно, является компенсаторным механизмом.

КК вызвала значительные изменения в содержании катехоламинов у крыс как с

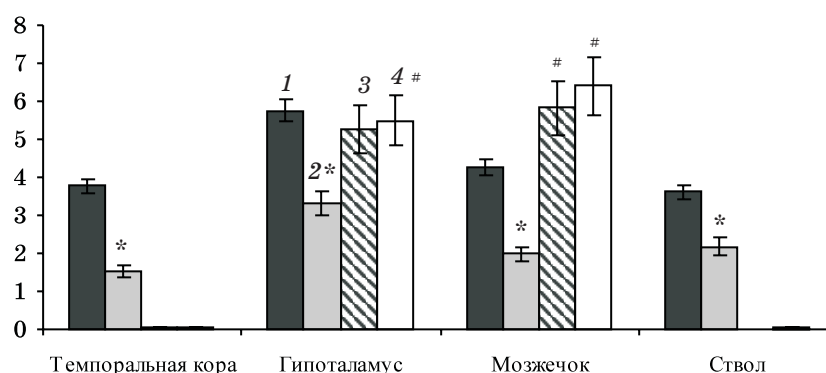


Рис. 3. Содержание норадреналина в головном мозге крыс с низкой (1, 3) и высокой (2, 4) судорожной готовностью в зависимости от кинуреновой кислоты (3, 4). Разница достоверна: \* между группами 1 и 2; # между группами 3 и 4

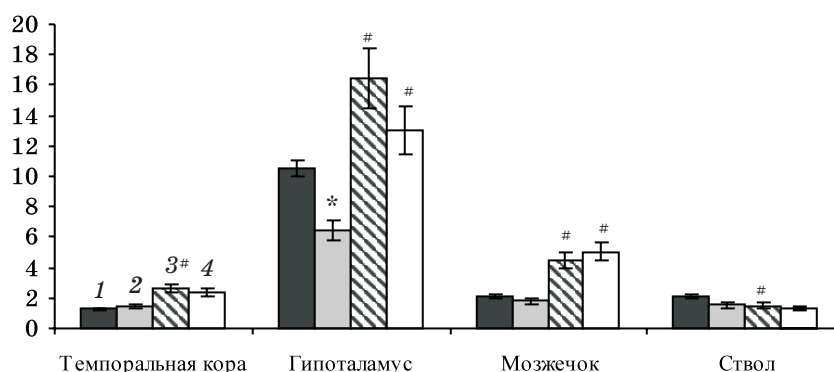


Рис. 4. Содержание дофамина в головном мозге крыс с низкой (1, 3) и высокой (2, 4) судорожной готовностью в зависимости от кинуреновой кислоты (3, 4). Разница достоверна: \* между группами 1 и 2; # между группами 3 и 4

Так как главным механизмом влияния дофамина на нейроны гипоталамуса является модуляция возбуждающего действия глутамата в основном путём ингибирования [31], уменьшение количества дофамина в гипоталамусе приведёт к усилению в этой структуре глутаматергической передачи и, как следствие, к повышению возбуждения в basal ganglia и усилению ГАМК-эргической передачи в substantia nigra. Предположение об усилении ГАМК-эргической передачи в substantia nigra согласу-

ется с полученными нами результатами о повышении содержания ГАМК в стволе мозга этих животных. Введение её приводило к нивелированию разницы между группами в содержании норадреналина и дофамина во всех исследованных структурах. При этом наблюдалось повышение уровня дофамина в трёх структурах крыс группы Н и двух – группы В, а также понижение содержания дофамина в стволе мозга крыс группы Н (рис. 4). Полученные нами результаты согласуются с данными литературы об индуцировании состояния гиперактивности мезокортико-

лимбической дофаминергической системы повышенным уровнем КК [32].

Повышение содержания дофамина ассоциировалось с уменьшением уровня норадреналина в стволе мозга и темпоральной коре крыс обеих групп до значений, находящихся за пределами чувствительности метода (см. рис. 3).

У крыс как группы Н, так и группы В наблюдалось усиление дофаминергической трансмиссии, однако в гипоталамусе (структуре, в которой дофамин осуществляет ингибирующее влияние на возбуждающую трансмиссию глутамата) крыс группы Н содержание дофамина увеличивалось лишь на 50 %, а у крыс группы В – приблизительно в два раза.

При исследовании влияния перорально введенной КК на содержание глутамата было обнаружено уменьшение уровня этой аминокислоты в стволе мозга животных как с низкой, так и с высокой судорожной готовностью, а также снижение concentra-

ции глутамата в мозжечке крыс группы В (см. рис. 1).

КК не влияла на уровень ГАМК у крыс с низкой судорожной готовностью во всех исследованных структурах, а у крыс с высокой – в гипоталамусе и стволе мозга (рис. 4). В темпоральной коре и мозжечке крыс с высокой судорожной готовностью уровень ГАМК уменьшался. Разница между группами в содержании ГАМК в этих структурах полностью устранялась.

Таким образом, кинуреновая кислота устраняла разницу между группами с низкой и высокой судорожной готовностью в содержании ГАМК в коре и мозжечке, в содержании глутамата – в мозжечке. Однако при этом наблюдалось уменьшение всех показателей, что свидетельствует об истощении указанных медиаторных систем. Возможно, это связано со способностью кинуреновой кислоты уменьшать эффективность митохондриального синтеза АТФ.

### Литература

1. Чепурнов С.А., Чепурнова Н.Е. Нейробиологические основы эпилептогенеза развивающегося мозга. *Успехи физиол. наук* 1997; 28, 3: 3–53.
2. Schwarcz R., Pellicciari R. Manipulation of brain kynurenines: glial targets, neuronal effects, and clinical opportunities. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 303, 1: 1–10.
3. Копаниця М.В. Позасинаптичні рецептори нейротрансмітерів: поширення, механізм активації та фізіологічна роль. *Нейрофізіол.* 1997; 29, 6: 448–454.
4. Yogeewari P., Sriram D., Vaigundaravendran J. The GABA shunt: an attractive and potential therapeutic target in the treatment of epileptic disorders. *Curr. Drug. Metab.* 2005; 6, 2: 127–139.
5. Бархатова В.П. Нейротрансмиттеры и экстрапирамидная патология. М.: Медицина, 1988. 176 с.
6. Захария Б.А. Предрасположенность организма к эпилептическим припадкам. К.: Здоров'я, 1974. 200 с.
7. Попова Л.Д. Особенности обмена триптофана у животных с высокой и низкой судорожной готовностью: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1986. 16 с.
8. Попова Л.Д., Стеценко С.А., Павиченко Ю.В. Содержание хинолиновой кислоты и ее предшественников в головном мозге крыс с разной судорожной готовностью. *Експерим. і кліні. мед.* 1998; 1: 148–150.
9. Fukui S., Schwarcz R., Rapoport S.I. et al. Blood-brain barrier transport of kynurenines: implication for brain synthesis and metabolism. *J. Neurochem.* 1991; 56, 6: 2007–17.
10. Wu H.G., Guidetti P., Goodman J.H. et al. Kynurenergic manipulations influence excitatory synaptic function and excitotoxic vulnerability in the rat hippocampus in vivo. *Neuroscience* 2000; 97, 2: 243–251.
11. Zhu S.G., McGeer E.G., McGeer P.L. Effect of MK-801, kynurenate, glycine, dextrorphan and 4-acetylpyridine on striatal toxicity of quinolinate. *Brain Res.* 1989; 481, 2: 356–360.
12. Vezzani A., Stasi M.A., Wu H.Q. et al. Studies on the potential neurotoxic and convulsant effects of increased blood levels of quinolinic acid in rats with altered blood-brain barrier permeability. *Exp. Neurol.* 1989; 106, 1: 90–98.
13. St'astny F., Skultetyova I., Pliss L., Jezova D. Quinolinic acid enhances permeability of rat brain microvessels to plasma albumin. *Brain Res. Bull.* 2000; 53, 4: 415–420.
14. Зайцева Г.Н., Тюленева Н.Н. Метод хроматографического разделения аминокислот. *Лаб. дело* 1958; 3: 24–30.
15. Endo J., Ogura J. Separation of biogenic amines in rat brain on a phosphorylated cellulose column. *Europ. J. Pharmacol.* 1973; 21, 3: 293–298.
16. Schlumpf M., Lichtensteiger W., Langemann H. et al. A fluorimetric micromethod for the simultaneous determination of serotonin, noradrenaline and dopamine in milligram amounts of brain tissue. *Biochem. Pharmacol.* 1974; 23, 17: 2437–46.

17. Fukao K., Momiyama T., Ishihara K. *et al.* Inhibition by gamma-aminobutyric acid system activation of epileptic seizures in spontaneously epileptic rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 1998; 76, 4: 387–396.
18. Ribak C.E., Morin C.L. The role of the inferior colliculus in a genetic model of audiogenic seizures. *Anat. Embryol. Berl.* 1995; 191, 4: 279–295.
19. Snodgrass S.R. GABA and epilepsy: their complex relationship and the evolution of our understanding. *J. Child. Neurol.* 1992; 7, 1: 77–86.
20. Faingold C.L., Marcinczyk M.J., Casebeer D.J. *et al.* GABA in the inferior colliculus plays a critical role in control of audiogenic seizures. *Brain Res.* 1994; 640, 1–2: 40–47.
21. Deransart C., Vercueil L., Marescaux C., Depaulis A. The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizures. *Epilepsy Res.* 1998; 32, 1–2: 213–223.
22. Gale K. GABA and epilepsy: basic concepts from preclinical research. *Epilepsy* 1992; 33, Suppl. 5: 3–12.
23. Sutor B., Luhmann H.J. Involvement of GABA(B) receptors in convulsant-induced epileptiform activity in rat neocortex in vitro. *Eur. J. Neurosci.* 1998; 10, 11: 3417–27.
24. Farias P.A., Low S.Q., Peterson G.M., Ribak C.E. Morphological evidence for altered synaptic organization and structure in the hippocampal formation of seizure-sensitive gerbils. *Hippocampus* 1992; 2, 3: 229–245.
25. Fiszman M.L., Barberis A., Lu C. *et al.* NMDA receptors increase the size of GABA-ergic terminals and enhance GABA release. *J. Neurosci.* 2005; 25, 8: 2024–31.
26. Hirano T., Watanabe D., Kawaguchi S.-Y. *et al.* Roles of inhibitory interneurons in the cerebellar cortex. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 2002; 978, 1: 405–412.
27. Glitsch M.D., Jack J.J. Evidence that glutamate acting on presynaptic type-II metabotropic glutamate receptors alone does not fully account for the phenomenon of depolarization-induced suppression of inhibition in cerebellar Purkinje cells. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2001; 442, 3: 404–408.
28. Hajos N., Freund T.F. Distinct cannabinoid sensitive receptors regulate hippocampal excitation and inhibition. *Chem. Phys. Lipids* 2002; 121, 1–2: 73–82.
29. Nicoletti F., Barbaccia M.L., Iadarola M.J. *et al.* Abnormality of alpha-1-adrenergic receptors in the frontal cortex of epileptic rats. *J. Neurochem.* 1986; 46, 1: 270–273.
30. Yan Q.S., Dailey J.W., Steenbergen J.L., Jobe P.C. Anticonvulsant effect of enhancement of noradrenergic transmission in the superior colliculus in genetically epilepsy – prone rats (GEPRs); a microinjection study. *Brain Res.* 1998; 780, 2: 199–209.
31. Van den Pol A.N., Cao V., Belousov A.B. Dopamine enhancement and depression of glutamate-regulated calcium and electrical activity in hypothalamic neurons. *J. Neurophysiol.* 1996; 76, 6: 3934–48.
32. Erhardt S., Engberg G. Increased phasic activity of dopaminergic neurons in the rat ventral tegmental area following pharmacologically elevated levels of endogenous kynurenic acid. *Acta Physiol. Scand.* 2002; 175, 1: 45–53.

#### ВПЛИВ КІНУРЕНИНІВ НА ВМІСТ НЕЙРОМЕДІАТОРІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З РІЗНИМ РІВНЕМ СУДОМНОЇ ГОТОВНОСТІ

**Л.Д. Попова**

Досліджено вплив кінуренової кислоти на вміст глутамату, ГАМК, катехоламінів у головному мозку щурів з різним рівнем судомної готовності. Кінуренова кислота викликала значні зміни у вмісті катехоламінів у головному мозку щурів з високою і низькою судомною готовністю, а також зниження рівня ГАМК в темпоральній корі і мозочку щурів з високою судомною готовністю. Особливо значним був вплив кінуренової кислоти на вміст норадреналіну. Введення кінуренової кислоти приводило до усунення відмінностей між групами щодо більшості досліджених параметрів.

**Ключові слова:** кінуренова кислота, глутамат, ГАМК, норадреналін, дофамін.

#### THE INFLUENCE OF KYNURENINS ON MEDIATOR CONTENTS IN BRAIN OF RATS WITH DIFFERENT LEVELS OF SEIZURE SUSCEPTIBILITY

**L.D. Popova**

The influence of kynurenic acid on glutamate, GABA and catecholamine levels in brain of rats with different levels of seizure susceptibility was studied. Kynurenic acid caused considerable changes in catecholamines in brain of both group animals, the decrease of GABA content in temporal cortex and cerebellum of rats with high seizure susceptibility. The influence of kynurenate on the norepinephrine level was especially significant. Kynurenic acid caused the elimination of differences in the most of investigated parameters between groups.

**Key words:** kynurenic acid, glutamate, GABA, norepinephrine, dopamine.

Поступила 02.10.09

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА И СЕЛЕЗЁНКИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ НЕСЕЛЕКТИВНОГО БЛОКАТОРА ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ НАЛОКСОНА

**Н.А. Клименко, И.В. Сорокина, И.А. Савенко, Н.И. Горголь**

*Харьковский национальный медицинский университет*

Изучено морфофункциональное состояние тимуса и селезёнки на модели карагиненового острого асептического воспаления с использованием неселективного блокатора опиоидных пептидов налоксона. Показано, что опиоидные пептиды ограничивают функциональную активность иммунной системы, миграцию лимфоцитов в кровь при остром воспалении. Тормозящее действие опиоидных пептидов на иммунную систему при воспалении взаимосвязано с угнетением клеточных и дальнейшим нарастанием роли гуморальных иммунных реакций, дальнейшим усилением хелперной и особенно супрессорной активности.

**Ключевые слова:** воспаление, иммунная система, опиоидные пептиды, налоксон.

Опиоидные пептиды, относящиеся к классу нейро- и иммуномодуляторов, проявляют многочисленные иммунологические эффекты [1]. Они имеют чрезвычайно широкий спектр физиологического действия: влияют на поведенческие реакции, двигательную активность, усиливают аппетит, регулируют работу сердечно-сосудистой, пищеварительной, иммунной, эндокринной систем, стимулируют синтез ДНК и т. д. [2, 3]. Этим объясняется пристальный интерес учёных к данной группе веществ. Действие опиоидов опосредуется специфическими рецепторами, существование  $\mu$ -,  $\kappa$ -,  $\delta$ -типов которых на клетках иммунной системы доказано в исследовании [4]. Опиоидные пептиды обнаружены в различных тканях – как в мозге, так и на периферии. Большинство из них образуется из общих белковых предшественников (проопиомеланокортин, продинорфины и др.), из которых в результате последовательного протеолитического гидролиза (процессинга) образуются физиологически активные молекулы.

Существенный интерес представляет изучение роли опиоидных пептидов в патогенезе воспаления.

Ранее нами была показана роль опиоидных пептидов в реакциях системы крови при воспалении [5]. Установлено их противовоспалительное модулирующее влияние на реакции разных звеньев системы крови (лейкоцитов очага воспаления, костномозговых клеток, лейкоцитов периферической

крови), состоящее в ограничении аккумуляции лейкоцитов (нейтрофилов, моноцитов-макрофагов, лимфоцитов) в очаге острого воспаления, их функциональной активности, гемопоэза, выхода кариоцитов из костного мозга в кровь.

Целью данного исследования было изучение роли опиоидных пептидов в реакциях иммунной системы при воспалении.

**Материал и методы.** Эксперимент проведён на 108 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, которых содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Моделью воспаления служил острый асептический перитонит, вызываемый внутрибрюшинным введением 5 мг  $\lambda$ -карагинена («Sigma», США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [6]. В динамике воспаления начинали с 3-го часа и по 10-е сутки исследовали тимус и селезёнку на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм. Общеморфологические и морфометрические исследования проводили с помощью обзорной окраски гематоксилином и эозином [7]. В тимусе определяли объёмы мозгового вещества и коры и их соотношение, в селезёнке – объёмы белой и красной пульпы. Иммуногистохимические исследования проводили прямым методом Кунса по методике Brosnan [8]. Иммунные клетки дифференцировали с помощью крысиных моноклональных антител (МКА) к различным типам клеток (фирмы «Serotec», Великобритания). Ис-

пользовали МКА к CD3-антигенам (общие Т-лимфоциты), CD4 (Т-лимфоциты-хелперы), CD8 (Т-лимфоциты-супрессоры), CD45RA (В-лимфоциты), ED1 (макрофаги). Подсчитывали отношение CD4/CD8 (иммунорегуляторный индекс). В качестве люминесцентной метки использовали F(ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-И2 с использованием светофильтров ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

В качестве блокатора опиоидных пептидов был использован налоксон – неселективный антагонист опиоидных рецепторов (для эндорфинов и энкефалинов), который в дозе 2 мг/кг вводили подкожно за 15 мин до воспроизведения воспаления [9].

Статистическую обработку результатов производили по непарному критерию Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Под влиянием налоксона в тимусе животных уже в контроле и при воспалении усиливаются пролиферативные процессы в корковом веществе. Они проявляются либо диффузной гиперплазией, либо гиперплазией с образованием фолликулов и сохраняются вплоть до окончания эксперимента, превышая показатели животных с естественным течением воспаления и интактных животных. Во все сроки наблюдений отмечаются признаки акцидентальной трансформации разных фаз (от I до III). До первых суток преобладает акцидентальная трансформация фаз I и II, в более поздние сроки – фаз I и III. К 5-м – 10-м суткам на фоне сохраняющейся диффузной гиперплазии отмечается практически полное восстановление структуры тимуса, а проявления акцидентальной трансформации не выходят за рамки фазы I.

По сравнению с естественным течением воспаления объём коры во все сроки больше, достоверно – на 10-е сутки (рис. 1), соответственно объём мозгового вещества меньше, отношение объёмов коры и мозгового вещества достоверно больше практически во все сроки, что указывает на ещё большее развитие гиперплазии и преобладание её над акцидентальной трансформацией тимуса, чем при обычном течении воспаления, и это при том, что более выражена и сама акцидентальная трансформация – в более ранние сроки воспаления отмечается акцидентальная трансформация более выраженных фаз.

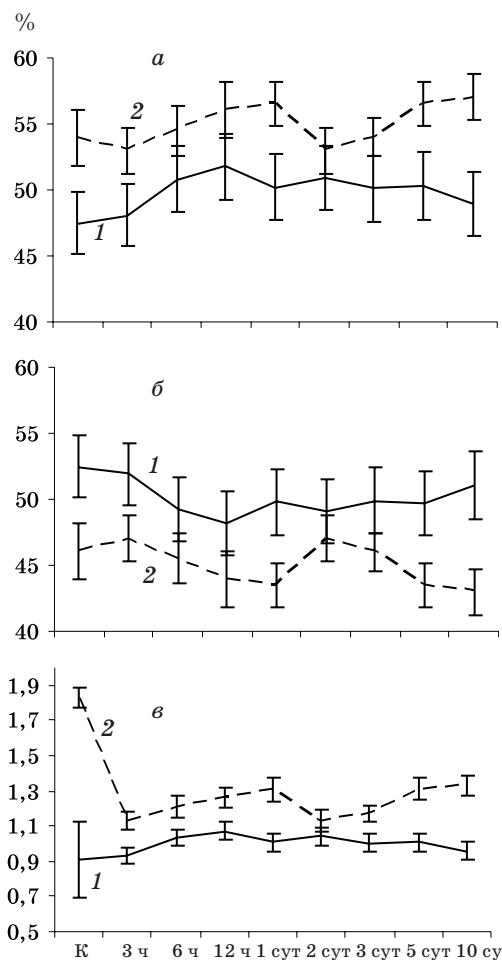


Рис. 1. Относительные объёмы коркового (а) и мозгового (б) вещества тимуса и их отношение (в) у крыс при воспалении (1) на фоне действия налоксона (2)

Иммуногистохимические изменения в тимусе при воспалении на фоне действия налоксона по сравнению с контролем на введение этого препарата состоят в некотором снижении количества CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток, особенно на 1-е–3-и сутки; при этом иммунорегуляторный индекс несколько возрастает на 6-й час, достоверно – на 2-е и 3-и сутки, и снижается на 10-е сутки, то есть преимущественно снижается супрессорная активность. Содержание CD45RA<sup>+</sup>-лимфоцитов возрастает, достоверно – на 1-е и 3-и сутки, ED1<sup>+</sup>-клеток – также несколько увеличивается (рис. 2).

По сравнению с естественным течением воспаления содержание CD3<sup>+</sup>-клеток сначала (до 12-го часа) несколько отстаёт, а затем (с 1-х до 10-х суток) превышает, что в целом указывает на относительное усиление клеточных иммунных реакций. Содержание CD4<sup>+</sup>-клеток сначала (до 6-го часа) несколько больше, чем при обычном течении воспа-

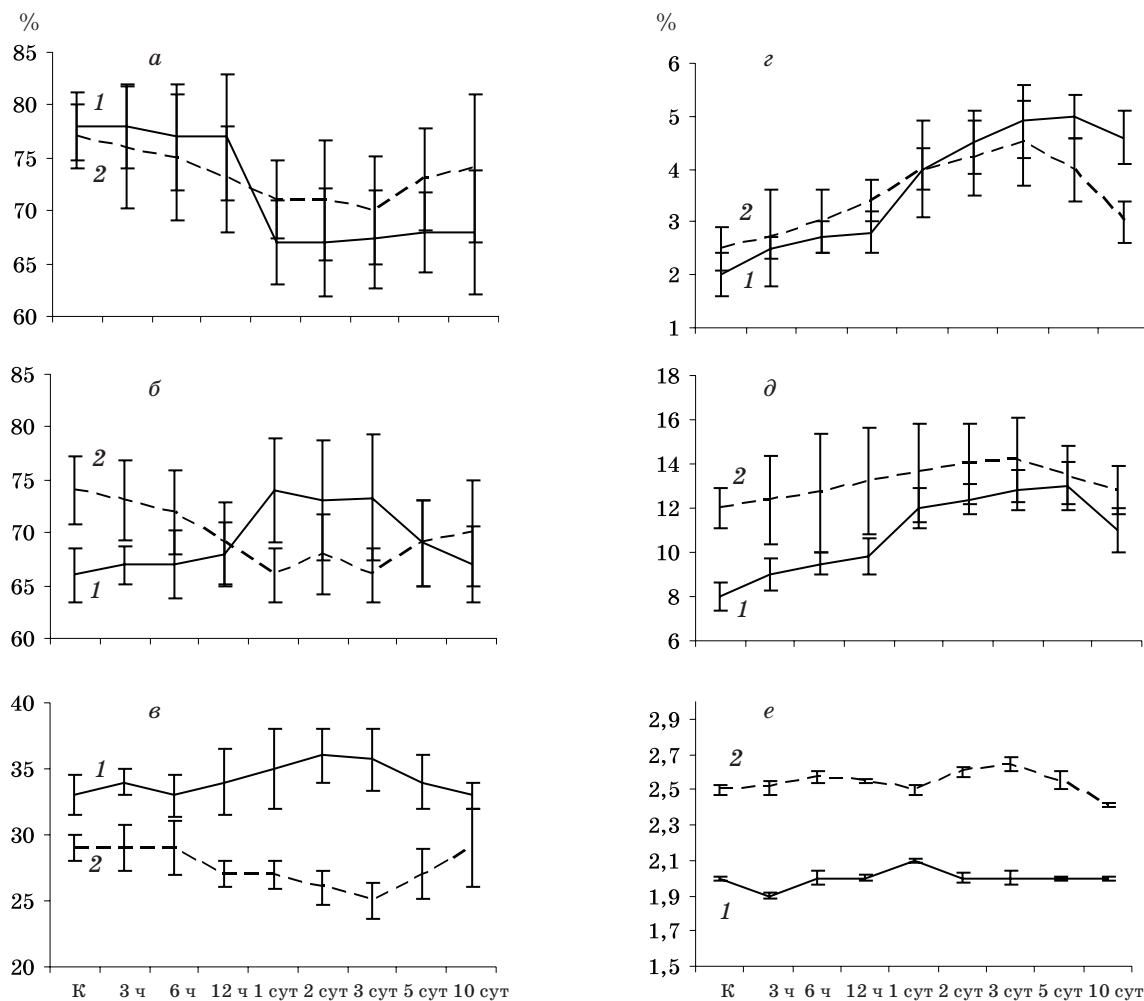


Рис. 2. Относительные объёмы основных клонов иммунных клеток в тимусе у крыс при воспалении (1) на фоне действия налоксона (2): а – CD3; б – CD4; в – CD8; г – CD45RA; д – ED1; е – CD4/CD8

ления, на 1-е–3-и сутки меньше, а на 10-е вновь больше, однако эти изменения недостоверны. В то же время количество  $CD8^+$ -клеток достоверно меньше во все сроки исследования, особенно на 2-е–3-и сутки, что свидетельствует о преимущественном снижении супрессорной активности. Это подтверждается достоверным превышением во все сроки, особенно опять-таки на 2-е–3-и сутки, иммунорегуляторного индекса.

Количество  $CD45RA^+$ -клеток до 12-го часа несколько больше, чем при естественном течении воспаления, а со 2-х по 10-е сутки меньше, что указывает на некоторое относительное снижение гуморальных иммунных реакций. Число  $ED1^+$ -клеток достоверно больше уже в контроле и несколько больше во все сроки воспаления, отражая усиление активности макрофагальной системы в тимусе по сравнению с обычным течением воспаления.

В селезёнке при воспалении на фоне действия налоксона, по сравнению с контролем на введение этого препарата, в первые часы отмечаются умеренно выраженные процессы гиперплазии белой пульпы с усилением миграции иммунных клеток, что ведёт к истощению В-компонента. Данный процесс сохраняется вплоть до 2-х суток включительно, а начиная с 3-х суток усиливаются процессы гиперплазии как в Т-, так и В-зонах, хотя в третьей части фолликулов истощение В-зон сохраняется.

По сравнению с естественным течением воспаления объём белой пульпы больше во все сроки исследования, достоверно – на 5-е–10-е сутки; соответственно объём красной пульпы меньше (рис. 3). Это указывает на преобладание гиперплазии селезёнки при воспалении на фоне действия налоксона над таковой при обычном течении воспаления. Усиlena и миграция В- и Т-лимфоцитов в кровь.

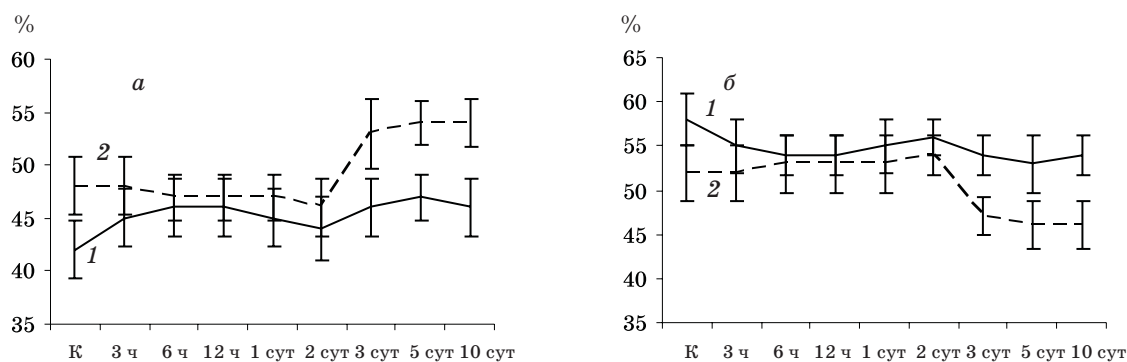


Рис. 3. Относительные объёмы белой (а) и красной (б) пульпы в селезёнке у крыс при воспалении (1) на фоне действия налоксона (2)

Иммуногистохимические изменения в селезёнке при воспалении на фоне действия налоксона, по сравнению с контролем на введение препарата, состоят в незначительном временном снижении количества CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>-клеток; при этом иммунорегу-

ляторный индекс достоверно уменьшается на 12-й час и увеличивается на 2-е-3-и сутки. Несколько повышается содержание CD45RA<sup>+</sup> и ED1<sup>+</sup>-клеток (рис. 4).

По сравнению с естественным течением воспаления при воспалении на фоне дейст-

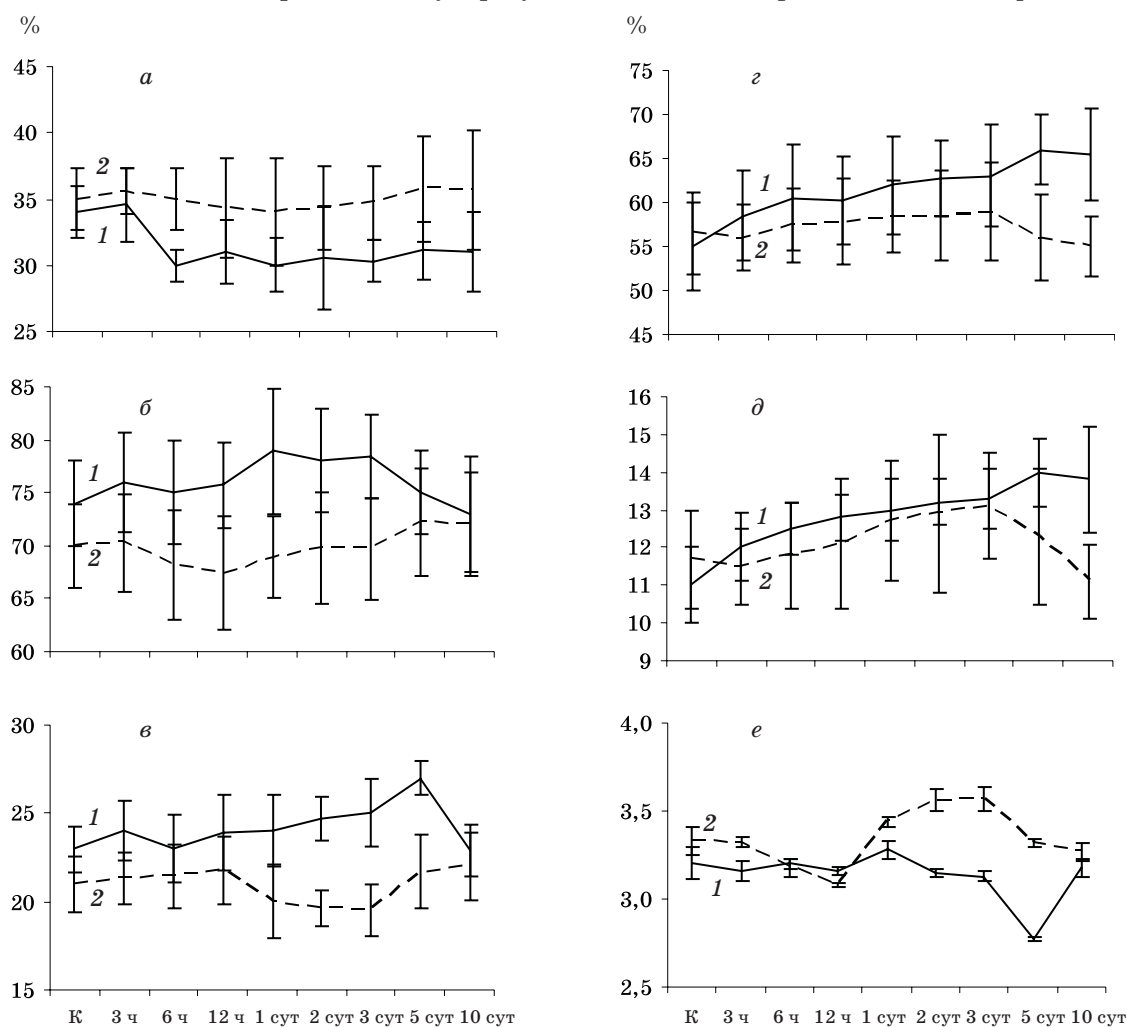


Рис. 4. Относительные объёмы основных клонов иммунных клеток в селезёнке у крыс при воспалении (1) на фоне действия налоксона (2): а – CD3; б – CD4; в – CD8; г – CD45RA; д – ED1; е – CD4/CD8

вия налоксона содержание CD3<sup>+</sup>-клеток в селезёнке несколько больше во все сроки исследования, CD4<sup>+</sup>-клеток – меньше. Количество CD8<sup>+</sup>-клеток уменьшается ещё больше, так что достоверно меньше на 2-е–5-е сутки. Иммунорегуляторный индекс достоверно больше на 3-й час и с 1-х по 5-е сутки и меньше на 12-й час. Содержание CD45RA<sup>+</sup>- и ED1<sup>+</sup>-клеток несколько меньше во все сроки.

Таким образом, при действии налоксона уже в контроле происходит усиление гиперпластических процессов в тимусе и селезёнке, то есть повышение их функциональной активности, что свидетельствует о том, что в нормальных условиях опиоидные пептиды тормозят активность иммунной системы. Эта закономерность сохраняется и при воспалении.

При воспалении на фоне действия налоксона, по сравнению с естественным его течением, гиперплазия тимуса и селезёнки выражена больше, в тимусе она больше преобладает над усиленной акцидентальной трансформацией; в селезёнке более выражена миграция В- и Т-клеток в кровь. Это указывает на то, что при обычном течении воспаления опиоидные пептиды ограничивают функциональную активность иммунной системы, миграцию лимфоцитов в кровь.

Происходит усиление клеточных и ослабление гуморальных иммунных реакций. При этом снижается хелперная и супрессорная активность, причём опережающими темпами уменьшается супрессорная.

Макрофагальная реакция в тимусе выражена несколько больше, в селезёнке – меньше, чем при естественном течении воспаления.

Таким образом, по сравнению с интактными крысами при воспалении на фоне действия налоксона гиперплазия тимуса и селезёнки и усиление выхода Т- и В-клеток в кровь выражены ещё больше, чем при естественном течении воспаления; происходит дальнейшее снижение выраженности по сравнению с воспалением без введения налоксона гуморальных иммунных реакций; хелперная и супрессорная активность не нарастает, а снижается по сравнению с обычным течением воспаления, особенно супрессорная. Это может свидетельствовать о том, что дальнейшая активация иммунной системы, наблюдающаяся при воспалении на фоне действия налоксона по сравнению с естественным течением процесса, свя-

зана с нарастанием роли клеточных и, напротив, ослаблением роли гуморальных иммунных реакций, ослаблением хелперной и особенно супрессорной активности.

Приведённые данные согласуются с ранее полученными результатами о том, что опиоидные пептиды сдерживают лимфоцитарную реакцию (накопление лимфоцитов в очаге, лимфопоз, поступление лимфоцитов из костного мозга в кровь, функциональную активность лимфоцитов) при воспалении [5]. Как показывают наши данные, соответствующие изменения происходят в тимусе и селезёнке.

Суть этого, по-видимому, состоит в том, что филогенетически при обычном течении острого воспаления нет необходимости в выраженной лимфоидной реакции, поскольку такое воспаление – защитно-приспособительное явление, а лимфоцитарная реакция – это компенсаторная реакция при необычном течении воспаления. Лимфоциты, как известно, – «дирижёры» других клеточных реакций при воспалении. Введение налоксона (устранение обычных эффектов эндогенных опиоидных пептидов) приводит к нарушению естественной клеточной динамики воспаления, что требует «вмешательства» лимфоцитов, то есть усиления лимфоцитарной реакции. Как видно из наших результатов, это осуществляется не просто на уровне механизмов воспаления (усиление эмиграции циркулирующих лимфоцитов, повышение их функциональной активности), а на уровне всей иммунной системы.

Механизм вовлечения иммунной системы при этом является, по-видимому, стандартным для всех общих проявлений воспаления – на неё действуют цитокины, высвобождаемые активированными лейкоцитами очага и периферической крови. Тормозящее действие опиоидных пептидов на лимфоцитарную реакцию при воспалении также, по-видимому, осуществляется по стандарту – через специфические рецепторы на лимфоцитах.

Имеются данные о том, что при воспалении продукция опиоидных пептидов возрастает, благодаря чему, по-видимому, они могут осуществлять свою функцию противовоспалительных модуляторов [10]. Однако стимулирующий эффект цитокинов, вероятно, превышает тормозящее действие опиоидных пептидов.

Наши данные также показывают, что тормозящее действие опиоидных пептидов

на иммунную систему при воспалении взаимосвязано с угнетением клеточных и дальнейшим нарастанием роли гуморальных иммунных реакций, дальнейшим усилением хелперной и особенно супрессорной активности.

Перспективы дальнейших исследований в этом направлении могут заключаться в выяснении роли отдельных опиоидных рецепторов во влиянии опиоидных пептидов на иммунную систему при воспалении.

### Литература

1. Дубинин К.В., Захарова Л.А. Факторы, опосредующие иммуномодулирующий эффект мет-энкефалина: влияние дозы митогена, стадии клеточной активации и времени внесения опиоида. Бюл. эксперим. биол. и медицины 1995; 4: 398–401.
2. Ахмедов Г.Э. Роль аналогов энкефалина в регуляции ферментовыделительной деятельности желудочных желез: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент, 1993. 17 с.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Захарова О.Ю. Роль опиоидных пептидов в регуляции гемопоэза. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1990. 136 с.
4. Масюк Т.В. Енкефаліни як регулятори фізіологічних функцій. Фізіол. журн. 1998; 44, 1–2: 112–122.
5. Клименко Н.А., Литвиненко Е.Ю., Золотухин В.В. Патогенетическое обоснование возможности применения лигандов и блокаторов опиоидных рецепторов при воспалении. Харк. хірург. шк. 2009; 3.1 (35): 270–274.
6. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления. Бюл. эксперим. биол. и медицины 1993; 116, 9: 249–253.
7. Меркулов Г.А. Курс патогистохимической техники. Л.: Медгиз, 1961. 340 с.
8. Brosman M. Immunofluorescencne vysetrovanie formal-parafinovego material. Čs. Patol. 1979; 15, 4: 215–220.
9. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. 276 с.
10. Holaday J.W. Cardiovascular effects of endogenous opiate system. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1983; 23: 541–594.

### МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА Й СЕЛЕЗІНКИ ПРИ ЗАПАЛЕННІ НА ТЛІ ДІЇ НЕСЕЛЕКТИВНОГО БЛОКАТОРА ОПІОЇДНИХ ПЕПТИДІВ НАЛОКСОНУ

**М.О. Клименко, І.В. Сорокіна, І.О. Савенко, Н.І. Горголь**

Вивчено морфофункціональний стан тимуса й селезінки на моделі карагієнового гострого асептичного запалення з використанням неселективного блокактора опіоїдних пептидів налоксону. Показано, що опіоїдні пептиди обмежують функціональну активність імунної системи, міграцію лімфоцитів у кров при гострому запаленні. Гальмуюча дія опіоїдних пептидів на імунну систему при запаленні взаємопов'язана з пригніченням клітинних і подальшим наростанням ролі гуморальних імунних реакцій, подальшим посиленням хелперної й особливо супресорної активності.

**Ключові слова:** запалення, імунна система, опіоїдні пептиди, налоксон.

### MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THYMUS AND SPLEEN AT INFLAMMATION ON BACKGROUND OF ACTION OF UNSELECTIVE BLOCKER OF OPIOID PEPTIDES NALOXONE

**N.A. Klimenko, I.V. Sorokina, I.A. Savenko, N.I. Gorgol'**

The morphofunctional state of thymus and spleen is studied on the model of carrageenan-induced acute aseptic inflammation with the use of unselective blocker of opioid peptides naloxone. It is shown that opioid peptides limit functional activity of the immune system, migration of lymphocytes into the blood at acute inflammation. Inhibiting action of opioid peptides on the immune system at inflammation is associated with inhibition of cellular and further increase in role of humoral immune reaction, by the further increase in helper and, especially, in suppressor activity.

**Key words:** inflammation, immune system, opioid peptides, naloxone.

Поступила 11.01.10

## ДИСБАЛАНС СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ МОНОАМИНОВ КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ВЕГЕТАТИВНО- ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

**Е.Л. Товажнянская**

*Харьковский национальный медицинский университет*

У 281 больного с первичным гипотиреозом (ПГ) лёгкой, средней и тяжёлой степени было исследовано состояние вегетативно-эмоциональной сферы и содержание биогенных моноаминов в крови. Дисбаланс системы биогенных моноаминов при лёгкой степени ПГ отражал повышение активности симпатoadреналовой системы с прева-лированием гормонального её звена, что сочеталось с относительной симпатической направленностью вегетативной дисфункции и умеренной астенией. Прогрессирова-ние тяжести ПГ сопровождалось ухудшением состояния системы биогенных моно-аминов, истощением симпатoadреналовой системы с прева-лированием медиаторного её звена и формированием относительной парасимпатикотонии, увеличением частоты встречаемости и тяжести депрессивного синдрома.

**Ключевые слова:** *первичный гипотиреоз, биогенные моноамины, симпатoadренало-вая система, вегетативная дисфункция, депрессивный синдром.*

В настоящее время проблема первичного гипотиреоза является актуальной не только с позиции эндокринологии, но и с точки зрения неврологической науки и практики. Последнее связано с тем, что в большинстве случаев на этапе клинической манифеста-ции заболевания неврологическая симпто-матика является доминирующей, опреде-ляя тяжесть общего состояния больных. При этом ранними и облигатными невроло-гическими проявлениями первичного гипо-тиреоза являются вегетативная дисфунк-ция и психоэмоциональные нарушения, развитие которых традиционно связывают с тиреоидным дисбалансом [1–4]. Однако исследования последних лет показали, что патогенез поражения нервной системы у больных с первичным гипотиреозом имеет многофакторный характер и включает це-лый спектр метаболических расстройств, которые инициируются в условиях недо-статка тиреоидных гормонов в организме и могут создавать патологическую основу для закрепления и усугубления неврологи-ческого дефицита [5, 6].

В этом процессе важную роль играют на-рушения в системе биогенных моноаминов, так как их обмен тесно связан с метаболиз-мом тиреоидных гормонов. Установлено, что нейромедиаторные биоамины могут мо-дифицировать продукцию тиреоидных гор-

монов как на уровне щитовидной железы, так и через гипоталамо-гипофизарные ме-ханизмы, влияя на процессы синтеза и сек-реции тиреоидных гормонов, тиреоидный кровоток, тканевое дейодирование тиреоид-ных гормонов и др. [7–10].

В то же время изменение тиреоидного статуса в организме может приводить к на-рушению функционирования системы био-генных моноаминов. Так, в условиях дефи-цита тиреоидных гормонов наблюдается уменьшение плотности  $\beta$ -адренорецепто-ров, усиление стимуляции катехоламинами  $\alpha$ -адренорецепторов периферических сосу-дов, увеличение секреции и содержания в плазме крови норадреналина [6, 9]. Экспе-риментально доказано, что тиреоидэктомия и последующее гипотиреоидное состояние сопровождаются значительными наруше-ниями метаболизма норадреналина и дофа-мина в структурах головного мозга, в первую очередь в гипоталамусе и гиппокампе [11].

Интерес к изучению системы биогенных моноаминов у больных с неврологическими проявлениями первичного гипотиреоза обу-словлен также возможностью биоаминов влиять на интегративную деятельность и ме-таболизм клеточных элементов мозга, со-стояние вегетативного гомеостаза, эмоцио-нально-волевой сферы и церебральной гемо-динамики. Все описанные аспекты и обусло-

вили актуальность настоящего исследования, целью которого явилось установление роли дисбаланса системы биоаминов в развитии вегетативно-эмоциональных расстройств у больных с первичным гипотиреозом.

**Материалы и методы.** Обследован 281 больной (85,2 % женщин и 14,8 % мужчин) с первичным гипотиреозом, находившиеся на стационарном лечении в эндокринологическом и неврологическом отделениях КУОЗ «ОКЛ» г. Харькова. Возраст больных колебался от 36 до 59 лет (средний возраст составил 47,5 лет). В зависимости от степени тяжести первичного гипотиреоза все больные были разделены на три группы: 1-я – 59 чел. (20,9 %) с лёгкой степенью первичного гипотиреоза, уровень тиреотропных гормонов (ТТГ) крови которых не превышал 6,1 мМЕ/л, а свободного  $T_4$  был незначительно снижен – до  $(10,8 \pm 2,0)$  пмоль/л; 2-я – 125 чел. с первичным гипотиреозом средней тяжести (44,5 %), уровень тиреотропных гормонов у них –  $(11,1 \pm 3,2)$  мМЕ/л, свободного  $T_4$  –  $(8,8 \pm 1,5)$  пмоль/л; 3-я – 97 больных (34,6 %) с тяжёлой степенью первичного гипотиреоза и выраженным тиреоидным дисбалансом, уровень ТТГ колебался в пределах от 15,9 до 35,2 мМЕ/л, а свободного  $T_4$  – от 5,9 до 7,1 пмоль/л. Контрольную группу составили 25 чел. без признаков патологии нервной системы и щитовидной железы, уровень ТТГ в крови которых составил  $(2,1 \pm 1,7)$  мМЕ/л, а  $T_4$  –  $(14,6 \pm 1,9)$  пмоль/л.

Состояние вегетативно-эмоциональной сферы определяли с учётом показателей вегетативного тонуса, вегетативной реактивности и вегетативного обеспечения деятельности, а также балльной оценки по шкалам выраженности вегетативной дистонии, уровня депрессии Гамильтона и общего астенического состояния. Содержание биоаминов и их предшественников (тирозина, ДОФА, дофамина, норадреналина, адреналина) в сыворотке крови изучали на основе измерения их собственной люминесценции на спектрофлуориметре Hitachi MPF-4A после выделения хроматографическим методом Atack and Magnusson.

Результаты исследования были статистически обработаны с использованием t-критерия Стьюдента. Различия принимали достоверными при  $p \leq 0,05$ . Для оценки связи между рядами наблюдений проводили корреляционный анализ с вычислением линейного коэффициента парной корреляции Пирсона (r).

**Результаты и их обсуждение.** Исследование показало, что вегетативно-эмоциональные нарушения являются облигатными в клинической картине первичного гипотиреоза. При этом их структура и выраженность тесно зависели от степени тяжести заболевания.

Так, при лёгкой степени первичного гипотиреоза вегетативная дисфункция характеризовалась преобладанием субъективных жалоб над объективной симптоматикой (47,2 баллов > 38,8 баллов), преимущественно симпатической направленностью в различных системах, положительным индексом Кердо ( $+2,1 \pm 1,2$ ), нормальной (в 66,9 %) и повышенной (в 22,4 %) вегетативной реактивностью и недостаточным вегетативным обеспечением деятельности. Указанные вегетативные нарушения сочетались с умеренным уровнем астении (+47 % баллов относительно контроля) и лёгкой гипотимией (+17 %).

Нарастание тяжести первичного гипотиреоза до средней степени сопровождалось увеличением выраженности депрессивного синдрома (+24 % баллов по шкале Гамильтона) на фоне умеренного уровня астении (+45 % баллов по шкале астенического состояния относительно контроля). Вегетативный дисбаланс проявлялся преобладанием объективных симптомов над субъективными жалобами (48,9 баллов < 55,8 баллов), относительной парасимпатической направленностью во всех исследуемых функциональных системах; отрицательным индексом Кердо ( $-2,1 \pm 1,9$ ), преимущественно повышенной вегетативной реактивностью (у 52,2 %) и недостаточным вегетативным обеспечением деятельности.

Для тяжёлой степени первичного гипотиреоза характерны выраженный уровень депрессивного синдрома (+39 % баллов по шкале Гамильтона относительно показателя в контроле) и умеренный уровень астении (+49 % баллов), дальнейшее нарастание относительной парасимпатикотонии во всех функциональных системах со значительным превалированием объективной симптоматики (36,9 баллов < 57,3 баллов), увеличение индекса Кердо ( $-3,8 \pm 1,4$ ), недостаточные вегетативная реактивность (у 61,4 %) и вегетативное обеспечение деятельности.

Анализ показателей содержания биоаминов в крови больных с первичным гипотиреозом различной степени тяжести выявил нарастающее снижение содержания

предшественников катехоламинов – тирозина и ДОФА – прямо пропорционально тяжести основного заболевания (таблица), что отражало, с одной стороны, несостоятельность и истощение резервов симпатoadrenalовой системы (САС) в условиях гипотиреоза, с другой – ускорение обмена ДОФА для стимуляции биосинтеза катехоламинов. Подтверждением последнего являлось увеличение соотношения дофамин/ДОФА на 20 % вне зависимости от степени тяжести основного заболевания.

ти – на 20,8 и 24,3 %, и к показателю в контрольной группе – на 17,4 и 10,3 % соответственно (таблица). При оценке соотношения амина к его предшественнику было выявлено увеличение соотношения нор-адреналин/дофамин до  $(5,25 \pm 0,10)$  усл. ед. и снижение соотношения адреналин/нор-адреналин до  $(0,070 \pm 0,007)$  усл. ед. по отношению к показателям в контрольной группе и у больных с первичным гипотиреозом лёгкой степени. Это отражало перенапряжение и истощение САС с относительным «восста-

*Содержание биогенных моноаминов у больных первичным гипотиреозом (ПГ) различной степени тяжести ( $M \pm m$ )*

Показатель	ПГ лёгкой степени (n=59)	ПГ средней степени (n=125)	ПГ тяжёлой степени (n=97)	Контроль
Тирозин, мкмоль/л	$81,6 \pm 2,9^*$	$76,6 \pm 2,5^{\#}$	$73,2 \pm 2,1^{\wedge}$	$83,5 \pm 3,4$
ДОФА, нмоль/л	$15,9 \pm 2,7^*$	$13,4 \pm 2,2^{\#}$	$12,1 \pm 2,4^{\wedge}$	$18,3 \pm 2,6$
Дофамин, нмоль/л	$9,0 \pm 0,8^*$	$7,6 \pm 1,1^{\wedge}$	$6,9 \pm 0,7^{\sim}$	$9,3 \pm 0,2$
Норадреналин, нмоль/л	$36,4 \pm 1,8^*$	$41,1 \pm 1,7^{\#}$	$36,6 \pm 1,9^*$	$37,9 \pm 1,9$
Адреналин, мкмоль/л	$3,68 \pm 0,17^*$	$2,90 \pm 0,13^{\#}$	$2,74 \pm 0,16^{\wedge}$	$3,12 \pm 0,11$

*Примечание.* Достоверность по отношению к контрольной группе: \*  $p > 0,05$ ; #  $p < 0,05$ ; ^  $p < 0,01$ ; ~  $p < 0,001$ .

Дисбаланс катехоламинов в крови больных при лёгкой степени первичного гипотиреоза характеризовался повышением уровня адреналина на 28,2 % ( $p < 0,05$ ) в сочетании с недостоверным снижением содержания ДА и норадреналина. При этом наблюдалось снижение соотношения норадреналин/дофамин до  $(3,91 \pm 0,07)$  усл. ед., в контроле –  $(4,17 \pm 0,09)$  усл. ед., и повышение соотношения адреналин/норадреналин до  $(0,110 \pm 0,004)$  усл. ед., в контроле –  $(0,079 \pm 0,003)$  усл. ед., что в совокупности отражало ускорение обмена дофамина и повышение активации САС с преобладанием гормонального её звена над медиаторным и совпадало с полученными нами клиническими данными в плане симпатической направленности вегетативной дисфункции и развития умеренной астении в данной группе больных.

У больных с первичным гипотиреозом средней степени тяжести было отмечено повышение уровня норадреналина на 12,9 и 10,1 % относительно показателей при лёгкой степени заболевания и контроля в сочетании со снижением содержания дофамина и адреналина по отношению и к аналогичному показателю у больных с первичным гипотиреозом лёгкой степени тяжес-

новлением» её гормонально-медиаторного дисбаланса в результате снижения активности гормонального звена и повышения медиаторного. Тяжёлая степень первичного гипотиреоза характеризовалась снижением уровня всех катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина) в крови относительно контроля на 25,0; 4,7 и 23,1 % соответственно, а также относительно аналогичных показателей у больных с первичным гипотиреозом лёгкой и средней степени тяжести (таблица). Указанные изменения сочетались с повышением соотношения норадреналин/дофамин до  $(5,91 \pm 0,06)$  усл. ед. и снижением соотношения адреналин/норадреналин до  $(0,068 \pm 0,005)$  усл. ед. относительно контроля. В целом изменения в системе биогенных моноаминов при первичном гипотиреозе тяжёлой степени свидетельствовали об истощении САС со сдвигом её гормонально-медиаторного соотношения в сторону относительного повышения активности медиаторного звена. Клинически дисбаланс моноаминов при средней и тяжёлой степени первичного гипотиреоза сопровождался истощением симпатического звена вегетативной нервной системы, нарастанием относительной парасимпатикотонии при исследовании вегетативного тонуса, ре-

активности и обеспечения деятельности, ростом выраженности и частоты встречаемости депрессии на фоне умеренной астении.

Проведённый корреляционный анализ между индексом Кердо, балльной оценкой депрессивного синдрома и содержанием катехоламинов в крови позволил установить роль дисбаланса биогенных моноаминов в формировании структуры и выраженности вегетативно-эмоциональных расстройств при первичном гипотиреозе.

Так, у больных с лёгкой степенью первичного гипотиреоза была выявлена положительная корреляционная связь между относительной симпатикотонией и повышением содержания адреналина ( $r=+0,71$ ;  $p<0,05$ ), дофамина ( $r=+0,22$ ;  $p<0,05$ ), что отражало связь активации системы биогенных моноаминов и развития вегетативной дисфункции с преобладанием эрготропной деятельности. При средней степени первичного гипотиреоза динамика уровней дофамина и адреналина прямо пропорционально коррелировала с отрицательным значением индекса Кердо ( $r=+0,36$ ;  $+0,68$ ;  $p<0,05$ ) и обратно пропорционально была связана с уровнем депрессии по шкале Гамильтона ( $r=-0,49$ ;  $-0,32$ ;  $p<0,05$ ). Тяжёлая стадия первичного гипотиреоза характеризовалась

более тесной связью снижения содержания дофамина и адреналина с преобладанием относительной парасимпатикотонии, по данным отрицательного значения индекса Кердо ( $r=+0,61$ ;  $+0,73$ ;  $p<0,05$ ), и выраженностью депрессивных расстройств ( $r=-0,78$ ;  $-0,64$ ;  $p<0,05$ ). Следовательно, снижение содержания катехоламинов в крови больных по мере нарастания тяжести первичного гипотиреоза способствовало увеличению частоты и выраженности депрессивного синдрома, развитию вегетативной дисфункции с относительным преобладанием парасимпатикотонии.

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод, что у больных с первичным гипотиреозом наблюдаются последовательные активация, перенапряжение и истощение системы биогенных моноаминов (при лёгкой, средней и тяжёлой степени заболевания соответственно) в сочетании с истощением резервных возможностей симпатoadреналовой системы в крови. Выявленный дисбаланс симпатoadреналовой системы способствует нарушению эрготропной деятельности вегетативной нервной системы, развитию дезадаптационного синдрома, формированию структуры и выраженности вегетативно-эмоциональных расстройств.

### Литература

1. Калинин А.П., Котов С.В. Неврологические расстройства при эндокринных заболеваниях. М.: Медицина, 2001. 272 с.
2. Пшук Н.Г., Черный О.М. Клинические особенности депрессивных состояний при гиподисфункции щитовидной железы. Архив психиатрии 2003; 9, 1: 87–89.
3. Фадеев В.В. Гипотиреоз как причина депрессивных состояний. Трудный пациент 2003; 1, 1: 34–37.
4. Haggerty J.J., Prange A.J. Borderline hypothyroidism and depression. Ann. Rev. Med. Select. Top. Clin. Sci. 1995; 46: 37–46.
5. Будневский А.В., Грекова Т.И., Бурлачук В.Т. Гипотиреоз и нетиреоидные заболевания. М.: ИнтелТек, 2004. 169 с.
6. Петунина Н. Сердечно-сосудистые осложнения гипотиреоза. Врач 2007; 4: 2–5.
7. Maayan M.L., Sellitto R.V., Volpert E.M. Dopamine and L-dopa: inhibition of thyrotropin-stimulated thyroidal thyroxine release. Endocrinol. 2001; 118: 632–636.
8. Delumeau J.C., Bentue-Ferrer D., Gandon J.M. et al. Monoamine oxidase inhibitors, cognitive functions and neurodegenerative disease. J. Neurol. Transm. 2001; 41: 259–266.
9. Richelsen B., Sorensen N.S. Alpha 2- and beta-adrenergic receptor binding and action in gluteal adipocytes from patients with hypothyroidism and hyperthyroidism. Metabolism 2004; 36 (11): 1031–39.
10. Lemogoum D., Flores G., Van den Abeele et al. Validity of pulse pressure and augmentation index as surrogate measures of arterial stiffness during  $\beta$ -adrenergic stimulation. J. Hypertens. 2004; 22: 511–517.
11. Масалова О.О. Изучение роли серотонинергической системы в механизмах аффективного поведения крыс разного возраста при экспериментальной патологии щитовидной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2006. 26 с.

**ДИСБАЛАНС СИСТЕМИ БІОГЕННИХ МОНОАМІНІВ ЯК ФАКТОР РОЗВИТКУ ВЕГЕТАТИВНО-ЕМОЦІЙНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ ІЗ ПЕРВИННИМ ГІПОТИРЕОЗОМ****О.Л. Товажнянська**

У 281 хворого із первинним гіпотиреозом (ПГ) легкого, середнього і тяжкого ступенів був досліджений стан вегетативно-емоційної сфери і вміст біогенних моноамінів у крові. Дисбаланс системи біогенних моноамінів при легкому ступені ПГ відображав підвищення активності симпатoadреналової системи з превалюванням гормональної її ланки, що сприяло розвитку симпатичної спрямованості вегетативної дисфункції і помірної астенії. Прогресування тяжкості ПГ супроводжувалося погіршенням стану системи біогенних моноамінів, виснаженням симпатoadреналової системи, відносним превалюванням медіаторної ланки, формуванням відносної парасимпатикотонії, збільшенням частоти зустрічальності і тяжкості депресивного синдрому.

**Ключові слова:** первинний гіпотиреоз, біогенні моноаміни, симпатoadреналова система, вегетативна дисфункція, депресивний синдром.

**DISBALANCE OF BIOGENIC MONOAMINES SYSTEM AS FACTOR OF DEVELOPMENT OF VEGETATIVE-EMOTIONAL INFRINGEMENTS IN PATIENTS WITH INITIAL HYPOTHYROIDISM****О.Л. Tovazhnyanskaya**

At 281 patients with initial hypothyroidism (IH) of a mild, average and serious degree the state of vegetative-emotional sphere and the level of biogenic monoamines (BM) in a blood have been investigated. Revealed disbalance systems BM at mild degree IH reflected rising activity sympathoadrenal systems with a prevalence of its hormonal link above mediator. That promoted development of a sympathetic orientation of a vegetative dysfunction and a moderate asthenia. Progressing of gravity IH was accompanied by increase of infringements in system BM, an attrition sympathoadrenal systems with relative predominance its mediator link, formation of a relative parasympathotonia, augmentation of occurrence and an expressiveness of a depressive syndrome.

**Key words:** initial hypothyroidism, biogenic monoamines, sympathoadrenal system, vegetative dysfunction, depressive syndrome.

Поступила 21.12.09

## КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ МАРКЕРІВ ПУХЛИННОЇ ПРОГРЕСІЇ p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> і p63 ПРИ ТИРЕОЇДНОМУ РАКУ

*О.В. Мужичук, Н.І. Афанасьєва\**

*Харківський національний медичний університет*

*\* ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМН України», м. Харків*

Досліджено 128 зразків тканини видаленої щитовидної залози. В усіх випадках діагностовано диференційований тиреоїдний рак. У зрізах вивчали експресію p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> і p63 з подальшим зіставленням показників експресії зазначених маркерів з клінічним перебігом захворювання. Встановлено, що експресія p53 не впливає на клінічний перебіг раку щитовидної залози. У той же час високий рівень експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в клітинах диференційованого тиреоїдного раку і p63 в клітинах папілярного його варіанта асоційовані з такими показниками агресивності пухлинного росту, як мультицентричність, екстратиреоїдне її розповсюдження, частота виявлення III і IV стадій пухлинного процесу. Імуногістохімічне визначення експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в клітинах папілярного і фолікулярного і p63 в клітинах папілярного тиреоїдного раку може бути використано для оцінки агресивності пухлинного росту.  
**Ключові слова:** рак щитовидної залози, пухлинна трансформація, рівень експресії маркера.

Рак щитовидної залози (РЩЗ) є найбільш поширеною пухлиною ендокринної системи [1, 2]. За останнє десятиріччя темпи приросту РЩЗ становили 131–135 %, що значно перевищує показники інших онкологічних захворювань, і зараз РЩЗ становить близько 1,5–2,0 % від усіх злоякісних новоутворень [3–5].

Одним із механізмів пухлинної трансформації й прогресії є порушення регуляції клітинного циклу з пригніченням апоптозу і активацією проліферації [6]. Найважливішим антионкогеном чи геном-супресором росту пухлини є ген p53. І якщо ген p53 розглядають у якості «стража геному», то думка щодо ролі його гомолога p63 в канцерогенезі (зокрема тиреоїдному) є неоднозначною [7]. Також важливу роль у регулюванні клітинного циклу і, як наслідок, проліферативної активності відіграє p21<sup>WAF1/CIP1</sup> – низькомолекулярний інгібітор циклінзалежних кіназ із сімейства CIP/KIP [8]. Обговорюється питання щодо зв'язку експресії основних маркерів апоптозу з клінічним перебігом різноманітних пухлин взагалі [9, 10] і окремих форм тиреоїдного раку зокрема [11].

Метою роботи була оцінка впливу регуляторних процесів проліферації й апоптозу на клінічний перебіг диференційованого РЩЗ (ДРЩЗ) шляхом зіставлення експресії

ряду маркерів (p53, p63, p21<sup>WAF1/CIP1</sup>) з основними морфофункціональними показниками пухлинного росту.

**Матеріал і методи.** Досліджено 128 зразків тканини видаленої щитовидної залози. Видалену тканину фіксували у 10%-вому розчині нейтрального забуферного формаліну. Гістологічні зрізи товщиною 4–5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. В усіх зразках гістологічно встановлений ДРЩЗ – папілярний або фолікулярний.

Імуногістохімічне виявлення p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> і p63 проводили на депарафінованих зрізах товщиною 4–5 мкм, із попереднім демаскуванням антигену в цитратному буфері (рН 6,0) в мікрохвильовій печі протягом 10 хв. Для візуалізації продуктів реакції застосовували систему En Vision (Dako Cytomation). В якості первинних антитіл використовували моноклональні антитіла до p21<sup>WAF1/CIP1</sup> (клон SX118), p53 (клон DO-7), p63 (клон 4A 4). Інкубацію з первинними антитілами проводили протягом 18 год. Ідентифікацію реакції проводили за допомогою хромогену 3,3'-діамінобензидину тетрахлориду (DAB, Dako Cytomation). Зрізи контрастували за допомогою гематоксиліну Майєра. Результати імуногістохімічного забарвлення оцінювали за допомогою світлового мікроскопа (збільшення 1250, масляна імерсія), а імуногістохімічних ре-

акцій – шляхом підрахунку відсотка позитивно забарвлених клітин із різною інтенсивністю (індекс мітки – ІМ), яку оцінювали візуально. У кожному випадку аналізували від 800 до 1000 епітеліальних клітин. Отримані дані оцінювали за такими параметрами: для p53 ІМ<10,0 % – низький рівень експресії; 10,0 % ≤ ІМ<30,0 % – високий рівень; ІМ≥30,0 % – гіперекспресія; для p21<sup>WAF1/CIP1</sup> ІМ<7,0 % – низький рівень експресії; 7,0 % ≤ ІМ<15,0 % – високий рівень; ІМ≥15,0 % – гіперекспресія [12]. Експресію p63 оцінювали за принципом її наявності [13].

Всі статистичні розрахунки проводили за формулами Гланца [14].

**Результати та їх обговорення.** Середній вік хворих на ДРЦЗ з високим і низьким рівнем експресії p53 був однаковим і складав (44,04±2,05) та (44,64±0,81) року відповідно (табл. 1). У хворих на папілярний варіант РЦЗ з високим рівнем експресії p53

в пухлинній тканині середній вік складав (40,82±3,54) року, а з низьким рівнем – (40,52±1,14) року. При фолікулярному раку середній вік хворих, у яких спостерігався високий рівень експресії p53, склав (47,25±2,40) року, з низьким – (48,75±1,54) року. Тобто фолікулярний рак при низькому рівні експресії p53 в пухлинних клітинах спостерігався в більш пізньому віці (p<0,001).

Статеві розбіжності у хворих на ДРЦЗ ніяким чином не впливали на інтенсивність експресії p53 в пухлинних клітинах. Як при високій, так і при низькій експресії маркера більшість хворих складала жінки – (78,79±7,12) і (74,74±4,46) % відповідно: (86,67±8,78) % хворих на папілярний рак і (72,22±10,56) % хворих на фолікулярний з високим рівнем експресії p53 були жінками. Доля жінок при папілярному й фолікулярному РЦЗ з низьким рівнем p53 була приблизно такою ж і складала (80,36±5,31) і (66,67±7,55) % відповідно.

*Таблиця 1. Аналіз клініко-патологічних даних у хворих на диференційований рак щитовидної залози в залежності від експресії p53 в пухлині*

Показник	Рівень експресії p53					
	високий або гіперекспресія			низький або відсутня		
	ПР	ФР	загалом	ПР	ФР	загалом
Кількість						
n	15	18	33	56	39	95
(P±p) %	(21,13±4,84)	(31,58±6,16)	(25,78±3,87)	(78,87±4,84)	(68,42±6,16)	(74,22±3,87)
Вік, років	40,82±3,54	47,25±2,40	44,04±2,05	40,52±1,14*	48,75±1,54	44,64±0,81
Стать (жін), %	86,67±8,78	72,22±10,56	78,79±7,12	80,36±5,31	66,67±7,55	74,74±4,46
Розмір пухлини, мм	2,30±0,26	2,75±0,23	2,53±0,16	2,25±0,10*	2,90±0,14	2,58±0,09
Мультицентричний ріст пухлини, %	26,67±11,42	11,11±7,41	18,18±6,71	19,64±5,31	7,69±4,27	14,74±3,64
Екстратиреоїдне розповсюдження пухлини, %	20,00±10,33	5,56±5,40	12,12±5,68	14,29±4,68	5,13±3,53	10,53±3,15
Ураження лімфовузлів, %	33,33±12,17	11,11±7,41	21,21±7,12	37,50±6,47*	10,26±4,86	26,32±4,52
Віддалені метастази, %	6,67±6,44	16,67±8,78	12,12±5,68	3,57±2,48*#	17,95±6,15	9,47±3,00
III або IV стадія хвороби за TNM, %	33,33±12,17	11,11±7,41	21,21±7,12	26,79±5,92*	2,56±2,53	16,84±3,84

*Примітки.* 1. ПР – папілярний рак; ФР – фолікулярний. Тут і в табл. 2, 3.

2. Відмінності вірогідні в порівнянні з показником при іншому гістологічному варіанті в тій же групі хворих: \* p<0,001; # p<0,05.

Експресія p53 не впливала на розмір пухлини. При високому рівні експресії маркера середній її розмір дорівнював  $(2,53 \pm 0,16)$  см, а при низькому –  $(2,58 \pm 0,09)$  см. При цьому фолікулярний рак на момент видалення пухлини характеризувався більшими розмірами в порівнянні з папілярним.

Так, середній розмір пухлини з високим рівнем експресії p53 при папілярному раку склав  $(2,30 \pm 0,26)$  см, при фолікулярному –  $(2,75 \pm 0,23)$  см. У той же час у хворих з низькою експресією маркера середній розмір пухлини складав  $(2,25 \pm 0,10)$  см при папілярному раку і  $(2,90 \pm 0,14)$  см при фолікулярному. Тобто при низькому рівні експресії p53 пухлини фолікулярної будови були вірогідно ( $p < 0,001$ ) більшого розміру, ніж папілярної.

Частота мультицентричного росту пухлини при високій експресії p53 складала  $(18,18 \pm 6,71) \%$ , а при низькій –  $(14,74 \pm 3,64) \%$ , тобто була практично однаковою.

Тенденція щодо збільшення випадків мультицентричного росту пухлини, яка спостерігалась при папілярному раку –  $(26,67 \pm 11,42)$  і  $(19,64 \pm 5,31) \%$  відповідно з високою та низькою експресією p53 у порівнянні з  $(11,11 \pm 7,41)$  та  $(7,69 \pm 4,27) \%$  при фолікулярному раку, від рівня експресії маркера не залежала.

Аналогічна ситуація склалась і з розповсюдженням пухлини за межі щитовидної залози. Так, екстратиреоїдне розповсюдження пухлини при високій експресії p53 спостерігалось у  $(12,12 \pm 5,68) \%$  випадків, при низькій – у  $(10,53 \pm 3,15) \%$ , тобто однаково часто. При папілярному раку в обох випадках спостерігалась тенденція щодо збільшення частоти екстратиреоїдного росту пухлини в порівнянні з фолікулярним раком. Так, кількість випадків розповсюдження пухлини за межі щитовидної залози при папілярному раку з високим рівнем експресії p53 в пухлинних клітинах складала  $(20,00 \pm 10,33) \%$ , з низьким –  $(14,29 \pm 4,68) \%$ . При фолікулярному раку ці показники дорівнювали  $(5,56 \pm 5,40)$  і  $(5,13 \pm 3,53) \%$ . Тобто рівень експресії p53 не впливав на частоту екстратиреоїдного росту пухлини.

Метастатичне ураження регіонарних лімфовузлів у хворих з високим і низьким рівнем експресії p53 спостерігалось в однаковому відсотку випадків:  $(21,21 \pm 7,12)$  і  $(26,32 \pm 4,52) \%$  відповідно. Спостерігалась незалежна від рівня експресії p53 тенденція щодо збільшення кількості випадків вияв-

лення метастазів у лімфовузлах при папілярному раку в порівнянні з фолікулярним. При папілярному раку уражені лімфовузли визначали в  $(33,33 \pm 12,17) \%$  при високій експресії p53 і в  $(37,50 \pm 6,47) \%$  при низькій. При фолікулярному раку ці показники складали  $(11,11 \pm 7,41)$  і  $(10,26 \pm 4,86) \%$  відповідно. Звертає увагу, що при низькій експресії маркера відсоток уражених лімфовузлів при папілярному раку був вірогідно вищим, ніж при фолікулярному.

Віддалені метастази при високому рівні експресії p53 спостерігали у  $(12,12 \pm 5,68) \%$  хворих:  $(6,67 \pm 6,44) \%$  при папілярному раку і  $(16,67 \pm 8,78) \%$  при фолікулярному. У хворих з низьким рівнем експресії маркера віддалені метастази спостерігали в  $(9,47 \pm 3,00) \%$  випадках:  $(3,57 \pm 2,48) \%$  при папілярному раку і  $(17,95 \pm 6,15) \%$  при фолікулярному. Тобто при різних рівнях експресії p53 віддалені метастази фіксували з однаковою частотою. Різниця була зафіксована лише між хворими з різними гістологічними варіантами пухлини.

У хворих на ДРЩЗ з високим рівнем експресії p53 III і IV стадія спостерігалась в  $(21,21 \pm 7,12) \%$  випадків, а з низьким – у  $(16,84 \pm 3,84) \%$ , тобто практично з однаковою частотою. При розподілі хворих за гістологічними варіантами встановлено, що при папілярному раку III і IV стадія розвитку пухлини зустрічалась частіше, ніж при фолікулярному раку; так, у хворих на папілярний рак з високим рівнем експресії p53 – в  $(33,33 \pm 12,17) \%$  випадків, а у хворих на фолікулярний з тим же рівнем експресії маркера – в  $(11,11 \pm 7,41) \%$ . У хворих з низькою експресією p53 пухлинними клітинами спостерігали вірогідну ( $p < 0,001$ ) різницю між частотою реєстрації III і IV стадії пухлини у хворих на папілярний і фолікулярний рак:  $(26,79 \pm 5,92)$  і  $(2,56 \pm 2,53) \%$  відповідно.

Отже, впливу рівня експресії p53 в пухлинних клітинах при ДРЩЗ на клінічний перебіг захворювання не встановлено.

При оцінці клініко-патологічних даних у хворих на ДРЩЗ в залежності від рівня експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в пухлині (табл. 2) встановлено, що середній вік хворих, у яких спостерігалась висока експресія цього маркера, становив  $(48,88 \pm 0,99)$  року, а у хворих з низьким рівнем експресії маркера –  $(42,05 \pm 1,34)$  року. Тобто хворі з високим рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> на момент встановлення діагнозу були вірогідно ( $p < 0,001$ ) старшими, ніж з низьким його рівнем. Та-

Таблиця 2. Клініко-патологічні дані у хворих на диференційований рак щитовидної залози в залежності від експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  в пухлині

Показник	Рівень експресії $p21^{WAF1/CIP1}$					
	високий або гіперекспресія			низький або відсутня		
	ПР	ФР	загалом	ПР	ФР	загалом
Кількість						
n	42	24	66	29	33	61
(P±p) %	(59,15±5,83)	(42,11±6,54)	(51,56±4,42)	(40,85±5,83)	(57,89±6,54)	(47,66±4,42)
Вік, років	47,50±1,17 <sup>1#</sup>	50,25±2,00	48,88±0,99 <sup>1^</sup>	37,02±1,87 <sup>1*</sup>	47,08±1,59	42,05±1,34
Стать (жін), %	90,48±4,53 <sup>2#</sup>	79,17±8,29	86,36±4,22 <sup>3^</sup>	68,97±8,59	60,61±8,51	65,57±6,08 <sup>3</sup>
Розмір пухлини, мм	2,24±0,12	2,52±0,16 <sup>4#</sup>	2,38±0,09	2,32±0,18	3,12±0,16	2,48±0,12
Мультицентричний ріст пухлини, %	28,57±6,97 <sup>2#</sup>	12,50±6,75	22,73±5,16 <sup>2^</sup>	10,34±5,65	6,06±4,15	8,20±3,51
Екстратиреоїдне розповсюдження пухлини, %	21,43±6,33	8,33±5,64	19,67±4,89 <sup>3^</sup>	6,90±4,71	3,03±2,98	4,92±2,77
Ураження лімфовузлів, %	38,10±7,49 <sup>4*</sup>	12,50±6,75	28,79±5,57	34,48±7,98 <sup>3*</sup>	9,09±5,00	21,31±5,24
Віддалені метастази, %	4,76±3,29	16,67±7,61	9,09±3,54	3,45±3,39	18,18±6,71	11,48±4,08
III або IV стадія хвороби за TNM, %	35,71±7,39 <sup>1*</sup>	4,17±4,08	24,24±5,27	17,24±7,01	6,06±4,15	11,48±4,08

Примітка. <sup>1</sup> p<0,001; <sup>2</sup> p<0,05; <sup>3</sup> p<0,01; <sup>4</sup> p<0,02; відмінності вірогідні \* в порівнянні з показником при іншому гістологічному варіанті у тій же групі хворих; # в порівнянні з показником в іншій групі хворих при тому ж гістологічному варіанті пухлини; ^ між аналогічними показниками в різних групах хворих.

кож спостерігалась тенденція щодо збільшення віку хворих на фолікулярний рак у порівнянні з папілярним. Так, середній вік хворих на папілярний рак з високим рівнем експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  в пухлинних клітинах склав (47,50±1,17) року, а хворих на фолікулярний рак – (50,25±2,00) року. У хворих з низьким рівнем  $p21^{WAF1/CIP1}$  різниця була вищою й набула вірогідних (p<0,001) розбіжностей: (37,02±1,87) року при папілярному раку і (47,08±1,59) року при фолікулярному. Крім того, спостерігалось вірогідне (p<0,001) збільшення віку хворих на папілярний рак з високим рівнем експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  в пухлині в порівнянні з хворими, у яких експресія маркера була на низькому рівні.

Також мали місце статеві розбіжності у хворих з різним рівнем експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$ . Так, частка жінок серед хворих на ДРЩЗ з високим рівнем експресії цього маркера

складала (86,36±4,22) %, а з низьким – лише (65,57±6,08) %. Тобто низький рівень  $p21^{WAF1/CIP1}$  у чоловіків зустрічався вірогідно (p<0,01) частіше, ніж високий. Переважним чином це обумовлено зниженням відсотка жінок серед хворих на папілярний рак з низьким рівнем експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$ . Так, серед хворих на цей гістологічний варіант тиреоїдного раку з високим рівнем експресії маркера кількість жінок склала (90,48±4,53) %, а серед хворих з низьким рівнем – (68,97±8,59) %, тобто була вірогідно нижчою. У хворих на фолікулярний рак спостерігалась аналогічна тенденція, але вірогідних розбіжностей в показниках зафіксовано не було. Так, кількість жінок серед хворих на фолікулярний рак з високим і низьким рівнем експресії маркера складала (79,17±8,29) і (60,61±8,51) % відповідно.

Щодо розміру пухлини, то між середніми показниками у хворих з високим [(2,38±

0,09) см] і низьким [(2,48±0,12) см] рівнями експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> вірогідних розбіжностей встановлено не було. При папілярному раку розміри пухлин в обох групах хворих були однаковими: (2,24±0,12) і (2,32±0,18) см відповідно, а при фолікулярному спостерігали їх вірогідну ( $p < 0,02$ ) різницю. Так, середній розмір пухлини при цьому гістологічному варіанті у хворих з високим рівнем експресії маркера склав (2,52±0,16) см, з низьким – був вищим – (3,12±0,16) см.

Мультицентричний ріст пухлини у хворих на ДРЩЗ з високим рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> відзначено у (22,73±5,16) % випадків, з низьким – вірогідно ( $p < 0,05$ ) рідше – в (8,20±3,51) % випадків. Це пов'язано зі збільшенням випадків мультицентричного росту при високому рівні експресії маркера при обох гістологічних варіантах пухлини.

У разі фолікулярного раку мультицентричний ріст пухлини при високому рівні p21<sup>WAF1/CIP1</sup> спостерігали в (12,50±6,75) % випадків, при низькому – в (6,06±4,15) %, у разі папілярного раку – відповідно у (28,57±6,97) і (10,34±5,65) % випадків ( $p < 0,05$ ).

Розповсюдження пухлини за межі щитовидної залози при високому рівні експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> спостерігалось у (19,67±4,89) % випадків, при низькому – у (4,92±2,77) %. Тобто при високій експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> екстратиреоїдне розповсюдження пухлини спостерігалось вірогідно ( $p < 0,01$ ) частіше, ніж при низькій. У першу чергу, це пов'язано з більш високим відсотком розповсюдження пухлини за межі щитовидної залози у хворих на папілярний рак з високим рівнем експресії вказаного маркера. Так, у них цей показник склав (21,43±6,33) %, у хворих на папілярний рак з низькою експресією маркера – (6,90±4,71) %. І хоча статистичних розбіжностей при цьому не спостерігалось, виявлена тенденція обумовила зазначені вірогідні відмінності, оскільки при фолікулярному варіанті пухлини частота екстратиреоїдного її розповсюдження у хворих з високим [(8,33±5,64) %] і низьким [(3,03±2,98) %] рівнем p21<sup>WAF1/CIP1</sup> була майже однаковою.

Частота ураження регіонарних лімфовузлів у хворих з високим і низьким рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> не відрізнялась і складала (28,79±5,57) і (21,31±5,24) % відповідно. При обох гістологічних варіантах частота регіонарного лімфогенного метастазування від рівня експресії маркера не залежала й складала при папілярному раку

(38,10±7,49) і (34,48±7,98) %, а при фолікулярному – (12,50±6,75) і (9,09±5,00) % у хворих з високим і низьким його рівнем відповідно. Слід зазначити, що метастази в регіонарні лімфовузли при папілярному раку спостерігали вірогідно ( $p < 0,01$ ) частіше, ніж при папілярному в обох групах хворих.

Віддалені метастази у хворих на ДРЩЗ з високим і низьким рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в пухлині зустрічали однаково часто: в (9,09±3,54) і (11,48±4,08) % відповідно. При папілярній формі захворювання ці показники складали (4,76±3,29) і (3,45±3,39) %, при фолікулярній – (16,67±7,61) і (18,18±6,71) % у хворих з високим і низьким рівнем маркера відповідно.

Вірогідної різниці в частоті реєстрації III і IV стадії пухлинного процесу між хворими на тиреоїдний рак з високим і низьким рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в пухлині зафіксовано не було. Спостерігали лише тенденцію до збільшення частоти розповсюдженого пухлинного процесу у хворих з високим рівнем маркера, особливо при папілярній формі раку. Так, при високій експресії зазначеного маркера цей показник у хворих на ДРЩЗ склав (24,24±5,27) %, при низькій – (11,48±4,08) %. При папілярному раку III або IV стадія пухлини спостерігалась у (35,71±7,39) і (17,24±7,01) %, а при фолікулярному – у (4,17±4,08) і (6,06±4,15) % хворих з високим і низьким рівнем маркера відповідно.

Таким чином, встановлено, що хворі на ДРЩЗ з високим рівнем експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в пухлині були старшими за пацієнтів, у яких експресія зазначеного маркера була на низькому рівні. При низькій експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> зростала частка чоловіків серед хворих, зменшувалась кількість випадків мультицентричного росту і екстратиреоїдного розповсюдження пухлини, особливо при папілярній формі раку.

Наявність експресії p63 була зафіксована лише при папілярній формі тиреоїдного раку. При оцінці клініко-патологічних даних у хворих на папілярний рак в залежності від рівня експресії p63 (табл. 3) встановлено, що при її наявності пухлина розвивалась у більш старшому віці – (43,50±1,50) року при позитивній проти (37,84±1,91) року при негативній експресії маркера.

Наявність експресії p63 не впливала на розвиток пухлини в різних статевих групах хворих. Так, кількість жінок при наявності або відсутності експресії маркера складала (76,74±6,44) і (89,29±5,84) % відповідно.

Таблиця 3. Клініко-патологічні дані хворих на папілярний рак щитовидної залози в залежності від експресії p63 в пухлині

Показник	Експресія p63	
	присутня	відсутня
Кількість		
n	43	28
(P±p) %	(60,56±5,80)	(39,44±5,80)
Вік, років	43,50±1,50*	37,84±1,91
Стать (жін), %	76,74±6,44	89,29±5,84
Розмір пухлини, мм	2,45±0,12	2,10±0,14
Мультицентричний ріст пухлини, %	30,23±7,00* <sup>#</sup>	7,14±4,87
Екстратиреоїдне розповсюдження пухлини, %	20,93±6,20	7,14±4,87
Ураження лімфовузлів, %	39,53±7,46	32,14±8,83
Віддалені метастази, %	6,98±3,89	0,00±0,0
III або IV стадія хвороби за TNM, %	34,88±7,27*	17,86±7,24

Примітка. \* p<0,05; # p<0,01; відмінності вірогідні в порівнянні з показником в іншій групі хворих.

Середній розмір пухлини в обох групах хворих був однаковим і дорівнював (2,45±0,12) і (2,10±0,14) см.

Такі показники «агресивності» пухлини, як екстратиреоїдне її розповсюдження й мультицентричний ріст, частіше зустрічались у хворих з наявною експресією p63 в пухлині. І якщо збільшення відсотка випадків розповсюдження пухлини за межі щитовидної залози було на рівні тенденції – (20,93±6,20) % при наявній проти (7,14±4,87) % при відсутній експресії p63, то збільшення відсотка мультицентричного її росту у хворих з наявною експресією p63 було вірогідним – (30,23±7,00) % проти (7,14±4,87) %, p<0,01.

Також при наявності експресії p63 вірогідно (p<0,05) частіше спостерігали III або IV стадію пухлинного процесу – (34,88±7,27) % при наявній і (17,86±7,24) % при відсутній експресії маркера. Частота регіонарного метастазування в обох групах хворих була на одному рівні й складала (39,53±7,46) і (32,14±8,83) % при наявній і відсутній експресії p63 відповідно. Жодного випадку реєстрації віддалених метастазів при відсутній експресії p63 не було. При її наявності віддалені метастази діагностували лише в (6,98±3,89) % випадків, що не дозволяє зробити висновок про вплив експресії p63 на їх виникнення.

Отже, при оцінці клініко-патологічних даних у хворих на папілярний рак встановлено, що в тих із них, де в пухлинній тка-

нині визначали позитивну експресію p63, мультицентричний ріст і III або IV стадію хвороби за TNM спостерігали вірогідно частіше. Також у цих хворих спостерігали тенденцію до збільшення випадків розповсюдження пухлини за межі щитовидної залози.

Таким чином, встановлено, що експресія p63 не впливає на клінічний перебіг ДРЩЗ. Деякі розбіжності в клінічному перебігу папілярного і фолікулярного варіантів ДРЩЗ, такі як ураження регіонарних лімфовузлів, частота віддалених метастазів, відсоток місцеворозповсюджених форм, відповідали загальновідомим тенденціям щодо розвитку цих пухлин і від експресії маркера не залежали.

Протилежно цьому, при низькому рівні експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> тиреоїдний рак, особливо папілярний його варіант, спостерігали у більш ранньому віці та у більшого відсотка серед чоловіків у порівнянні з хворими, де експресія цього маркера була на високому рівні. Також при низькій експресії p21<sup>WAF1/CIP1</sup> видалені пухлини мали більший розмір, особливо при фолікулярному раку. У хворих з високим рівнем p21<sup>WAF1/CIP1</sup> вірогідно частіше спостерігали збільшення випадків мультицентричного росту пухлини та її екстратиреоїдного розповсюдження, більш виражене при папілярному раку.

З урахуванням того, що p21<sup>WAF1/CIP1</sup> становить собою інгібітор циклінзалежних кіназ, який відповідає за антипроліферативну активність шляхом зупинки клітинного

циклу у фазі  $G_1$ , підвищення його активності можна вважати  $G_1$ -компенсаторним у відповідь на агресивність пухлинного росту. Відомо, що ДРЩЗ у молодому віці має більш сприятливий перебіг, тому молодший вік хворих при низькій експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  є цілком природним. Більший розмір пухлини при низькому рівні експресії маркера пояснюється виключно більшим терміном її існування, оскільки такі показники агресивності пухлини, як наявність регіональних і віддалених метастазів, у цих хворих спостерігались не частіше, а мультицентричність, екстраорганне її розповсюдження та, як наслідок, III і IV стадія захворювання значно рідше, ніж у хворих з високим рівнем експресії цього маркера. Щодо збільшення відсотка жінок, у яких спостерігали високий рівень експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$ , відомо, що крім  $p53$  на рівень експресії можуть безпосередньо впливати інші фактори (епідермальний фактор росту, фактор росту фібробластів, статеві гормони) [15–17]. З урахуванням того, що усі патологічні процеси в щитовидній залозі у жінок зустрічаються в 3–4 рази частіше та характеризуються більш сприятливим перебігом, не виключено, що активація  $p21^{WAF1/CIP1}$  в даному випадку обумовлена саме гормональним впливом.

При наявності у клітинах папілярного раку щитовидної залози експресії  $p63$  виявлення пухлини відбувається в більш старшому віці, збільшується відсоток мультицентричного росту пухлини і частоти реєстрації III і IV стадій пухлинного процесу, що свідчить про несприятливий перебіг захворювання.

### Література

1. Валдина Е.А. Заболевания щитовидной железы. СПб., 2006. 264 с.
2. Плешков В.Г., Корнев С.В., Тугай В.В. Проблемы ранней диагностики и лечения рака щитовидной железы. Рос. онкол. журн. 2002; 5: 49–55.
3. Федоренко З.П., Міщенко А.Н., Гулак Л.О. та ін. Національний канцер-реєстр України. К., 1998. 117 с.
4. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. та ін. Рак в Україні, 2004–2005. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл. нац. канцер-реєстру України. К., 2006; 7. 96 с.
5. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. та ін. Рак в Україні, 2005–2006. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл. нац. канцер-реєстру України. К., 2007; 87. 96 с.
6. Esteve F., Hortobagyi G. Prognostic markers in early breast cancer. Brest Cancer Res. 2004; 6, 3: 109–118.
7. Malaguarnera R., Mandarin A., Mazzone E. et al. The p53-homologue p63 may promote thyroid cancer progression. Endocr.-Relat. Cancer 2005; 12, 4: 953–971.
8. Bar J., Blander G., Damalas A. et al. Understanding the role of p53 in cancer. Cancer Research and Therapy 2002; 92: 174–175.
9. Бондарева В.А., Шпонька И.С. Значение прогностических маркеров опухолевой прогрессии Ki-67 и p53 в опухолях молочной железы. Морфология 2007; 1, 1: 40–44.

У сучасній літературі відзначається не рідке підвищення експресії  $p63$  в пухлинах людини і все частіше з'являється думка, що ізомери  $p63$ , які не мають транс-активаційного домену ( $\Delta N$ -форми), функціонують як природні інгібітори  $p53$ , пригнічуючи його функцію за домінантно-негативним механізмом. Транскрипційно-неактивні тетрамери  $p63$  можуть конкурувати з  $p53$  за місця посадки на ДНК генів-мішеней, а мономери/димери – секвеструвати  $p53$  шляхом зв'язування його молекул і утворення неактивних комплексів. Таким чином,  $p63$  скоріше становить собою протоонкоген [18, 19]. Виявлена тенденція щодо збільшення відсотка випадків реєстрації мультицентричного росту пухлини у хворих з наявністю в ній експресії  $p63$  є доказом його протоонкогенної дії.

### Висновки

1. Експресія  $p53$  в пухлинній тканині диференційованого раку щитовидної залози не впливає на його клінічний перебіг.

2. Високий рівень експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  в клітинах диференційованого раку щитовидної залози й  $p63$  в клітинах папілярного його варіанту асоційовані з такими показниками агресивності пухлинного росту, як мультицентричність, екстратиреоїдне розповсюдження, частота виявлення III і IV стадій пухлинного процесу.

3. Імуногістохімічне визначення експресії  $p21^{WAF1/CIP1}$  в клітинах диференційованого раку щитовидної залози й  $p63$  в клітинах папілярного раку може бути використано для оцінки агресивності пухлинного росту.

10. Ito R., Sasano H., Matsunaga G. et al. Correlation between p21 expression and clinicopathological findings, p53 gene and protein alterations, and survival in patients with endometrial carcinoma. *J. Pathology* 1997; 171: 24–27.
11. Tae Sik Jung, Keun-Sook Kim, Young Lyun Oh et al. p53, p21 and bcl-2 protein expressions and the clinical significance in papillary thyroid carcinoma. *J. Korean Endocr. Soc.* 2007 Apr.; 22 (2): 98–104.
12. Несіна І.П., Воробйова Л.І., Бучинська Л.Г. Дослідження медикаментозної резистентності злоякісних новоутворень ендометрію залежно від агрегації пухлинної патології у родовах хворих. *Онкологія* 2005; 7, 3: 201–204.
13. Unger P., Ewart M., Wang B.Y. et al. Expression of p63 in papillary thyroid carcinoma and in Hashimoto's thyroiditis: a pathobiologic link? *H. Pathology* 2003; 34 (8): 764–769.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 460 с.
15. Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью. *Биохимия* 2000; 65 (1): 34–47.
16. Chen G.G., Vlantis A.C., Zeng Q., van Hasselt C.A. Regulation of cell growth by estrogen signaling and potential targets in thyroid cancer. *Current Cancer Drug Targets* 2008; 8, 5: 367–377.
17. Zhan M., Yu D., Lang A. et al. Wild type p53 sensitive's soft tissue sarcoma cells to doxorubicin by down-regulating multidrug resistance-1 expression. *Cancer* 2001; 92 (6): 1556–66.
18. Москалев А.А. Старение и гены. СПб.: Наука, 2008. 358 с.
19. Keyes W.M., Wu. Y., Vogel H. et al. p63 deficiency activates a program of cellular senescence and leads to accelerated aging. *Genes and Develop.* 2005; 19: 1986–99.

#### КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> И p63 ПРИ ТИРЕОИДНОМ РАКЕ

**А.В. Мужичук, Н.И. Афанасьева**

Исследовано 128 образцов ткани удалённой щитовидной железы. Во всех случаях диагностирован дифференцированный тиреоидный рак. В срезах изучали экспрессию p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> и p63 с дальнейшим сопоставлением показателей экспрессии указанных маркеров с клиническим течением заболевания. Установлено, что экспрессия p53 не влияет на клиническое течение рака щитовидной железы. В то же время высокий уровень экспрессии p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в клетках дифференцированного тиреоидного рака и p63 в клетках папиллярного его варианта ассоциированы с такими показателями агрессивности опухолевого роста, как мультицентричность, экстраклеточное её распространение, частота выявления III и IV стадий опухолевого процесса. Иммуногистохимическое определение экспрессии p21<sup>WAF1/CIP1</sup> в клетках папиллярного и фолликулярного и p63 в клетках папиллярного тиреоидного рака может быть использовано для оценки агрессивности опухолевого роста.

**Ключевые слова:** рак щитовидной железы, опухолевая трансформация, уровень экспрессии маркера.

#### p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> AND p63 TUMOR PROGRESSION MARKERS EXPRESSIONS AND THE CLINICAL SIGNIFICANCE IN THYROID CARCINOMA

**A.V. Muzhichuk, N.I. Afanasyeva**

128 samples of removed thyroid gland tissue were studied. In all cases differentiated thyroid cancer was diagnosed. In the sections we studied the expression of p53, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> and p63 with a further comparison of the expression of these markers with the clinical course of the disease. Established, that the p53 expression does not affect the clinical course of thyroid cancer. At the same time a high level of p21<sup>WAF1/CIP1</sup> expression in differentiated thyroid cancer cells and p63 in it papillary variant cells are associated with tumor multifocality and extrathyroidal invasion. Immunohistochemical stains for p21<sup>WAF1/CIP1</sup> in papillary and follicular and p63 in papillary thyroid carcinoma may be used as a parameter for tumor aggressiveness.

**Key words:** thyroid cancer, tumoral transformation, level at expression markers.

Поступила 06.11.09

## СТАН АДАПТАЦІЙНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ ОРГАНІЗМУ ОСІБ ВІКОМ 18 РОКІВ У РІЗНИХ ХРОНОБІОЛОГІЧНИХ ГРУПАХ

**Г.М. Тимченко**

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна*

Наведений стан адаптаційних можливостей організму студентів віком 18 років з різними хронобіологічними типами працездатності. Виявлено нормальну адаптацію серцево-судинної системи у осіб з ранковим хронобіологічним типом і мобілізацію адаптаційних можливостей серцево-судинної системи до умов життєдіяльності у осіб з вечірнім хронобіологічним типом. Вторинна адаптація системи кровообігу до дії умов життєдіяльності зумовлена зміною природного ранкового біоритму працездатності на вечірній і аритмічний.

**Ключові слова:** хронобіологічний тип, адаптаційні можливості, адаптація серцево-судинної системи.

Напружена розумова робота, прискорення ритму життя, стреси, гіподинамія, інформаційне перенавантаження, недостатність самовираження, відсутність повноцінного відпочинку, низький рівень культури спілкування створюють психоемоційну напругу, яка є додатковим фактором ризику для розвитку ряду хвороб серед осіб віком 18–20 років, що становлять групу студентської молоді. Вступивши до навчального закладу, молода людина опиняється в новому для неї середовищі, тому чинники соціального, психічного і психофізіологічного характеру, з якими вона стикається у цьому середовищі, прямо або опосередковано впливають на неї [1, 2]. Вони порушують фізіологічний стан організму і погіршують показники здоров'я.

Показники біологічних ритмів широко використовують в якості критерію норми і адаптаційних можливостей організму. Наукові дані щодо значення біологічних ритмів у життєдіяльності організму все ширше використовуються при побудові сучасних концепцій медицини [3]. Сучасні наукові розробки в галузях фізіології і медицини свідчать про те, що людина здорова лише тоді, коли в неї збережений внутрішній ритм і коли її біоритми синхронні з ритмами навколишнього середовища.

Метою даної роботи було виявлення рівня адаптаційних можливостей у осіб віком 18 років в залежності від біоритмологічного (хронобіологічного) типу працездатності.

**Матеріал і методи.** Досліджували стан адаптаційних можливостей 110 студентів (58 чоловіків і 52 жінки) Харківського на-

ціонального університету ім. В.Н. Каразіна і студентів Харківського національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва. Визначали антропометричні дані (зріст і масу тіла), показники гемодинаміки (частоту серцевих скорочень – ЧСС і артеріальний тиск – АТ) і зовнішнє дихання (життєву ємність легень). Оцінювали функції фізіологічних систем за допомогою ряду фізіологічних індексів [4, 5]. Після цього в положенні сидячи підраховували пульс, вимірювали АТ і визначали час затримки дихання на звичайному вдиху (проба Штанге) [6]. Методом психологічного спостереження за Остбергом [5] були відокремлені групи з ранковим, вечірнім і змішаним (аритмічним) хронобіологічними типами працездатності. Кількість осіб з вечірнім (53 %) хронобіологічним типом переважала над аритмічним (42 %) і ранковим (15 %) хронобіологічними типами.

Отримані дані статистично обробили з використанням t-критерію Стьюдента. Для аналізу частотного розподілу показників фізіологічних функцій серед різних хронобіологічних груп використовували критерій Gamma ( $\gamma$ ) [7].

**Результати та їх обговорення.** Абсолютні значення антропометричних показників незалежно від хронотипу в групі осіб віком 18 років знаходяться в межах вікової норми (табл. 1). Достовірної різниці між антропометричними показниками обстежених в залежності від біоритмологічного типу працездатності не виявлено ( $p > 0,05$ ).

Розподіл індексу Кетле, який характеризує співвідношення між зростом і масою

Таблиця 1. Антропометричні показники у осіб віком 18 років з різними біоритмологічними типами ( $M \pm m$ )

Показник	Біоритмологічні типи		
	ранковий (n=15)	аритмічний (n=42)	вечірній (n=53)
Зріст, см	170,87 $\pm$ 2,35	167,88 $\pm$ 1,19	168,98 $\pm$ 0,96
Маса тіла, кг	59,47 $\pm$ 2,50	58,88 $\pm$ 1,39	57,50 $\pm$ 1,33

та свідчить про розвиток м'язового апарату досліджуваних осіб з різними біоритмологічними типами, показав, що показники «вище середнього» отримані у 71 % осіб з ранковим хронобіологічним типом, 50 % – з аритмічним і 33 % – з вечірнім (рис. 1).

ного АТ (САТ) й діастолічного (ДАТ) – у досліджуваних осіб виявлена їх відповідність межах вікової норми (табл. 2).

Цікаво відзначити наявність достовірної ( $p \leq 0,05$ ) різниці між хронобіологічними типами за показником ЧСС. Так, у осіб з ран-

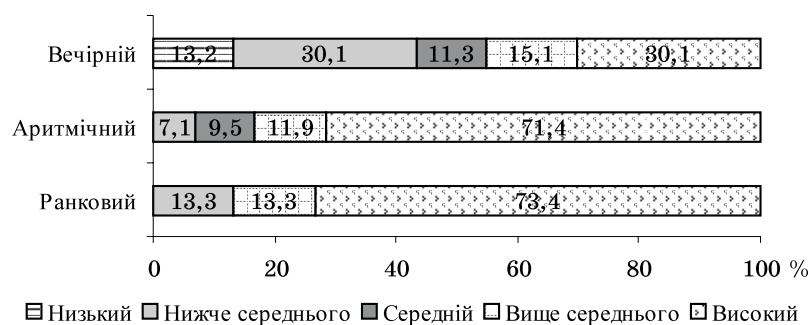


Рис. 1. Розподіл індексу Кетле у досліджуваних осіб віком 18 років з різними хронобіологічними типами

Виявлено достовірний зсув індексу Кетле за критерієм Gamma ( $\gamma$ ) у бік ранкового хронотипу ( $p < 0,05$ ). У зв'язку з тим, що індекс Кетле характеризує співвідношення між масою і зростом людини, можна говорити про те, що саме в групі з ранковим хронобіологічним типом виявлено достатньо виразний розвиток м'язового апарату і достатні фізичні можливості, що відповідають даному віку.

При порівнянні абсолютних значень показників гемодинаміки – ЧСС і систоліч-

ковим хронобіологічним типом ЧСС в 1,12 раза нижча, ніж у осіб з вечірнім, і в 1,1 раза нижча, ніж у осіб з аритмічним хронобіологічним типом.

Показник САТ після виконання проби Штанге мав достовірні ( $p \leq 0,05$ ) відмінності в різних біоритмологічних групах. Так, у осіб з ранковим хронобіологічним типом він був в 1,04 раза вищий, ніж у осіб з аритмічним, і в 1,06 раза вищий, ніж у осіб з вечірнім хронобіологічним типом (табл. 2). Все це свідчить про нормальну адаптацію серце-

Таблиця 2. Гемодинамічні показники у осіб віком 18 років з різними біоритмологічними типами до та після виконання вдишу ( $M \pm m$ )

Показник	Біоритмологічні типи		
	ранковий (n=15)	аритмічний (n=42)	вечірній (n=53)
<i>В покої</i>			
ЧСС, ск/хв	70,20 $\pm$ 2,35	78,64 $\pm$ 2,25 <sup>1</sup>	77,85 $\pm$ 1,48 <sup>2</sup>
САТ, мм рт. ст.	115,80 $\pm$ 3,58	115,31 $\pm$ 2,28	116,40 $\pm$ 1,85
ДАТ, мм рт. ст.	72,73 $\pm$ 2,47	75,12 $\pm$ 2,18	78,32 $\pm$ 1,40
<i>Після виконання проби Штанге</i>			
ЧСС-2, ск/хв	113,60 $\pm$ 3,44	142,57 $\pm$ 23,65	113,68 $\pm$ 2,96
САТ-2, мм рт. ст.	131,93 $\pm$ 3,13	124,48 $\pm$ 1,60	126,92 $\pm$ 1,15 <sup>2</sup>
ДАТ-2, мм рт. ст.	86,80 $\pm$ 2,46	85,74 $\pm$ 1,40	87,13 $\pm$ 1,17

Примітка.  $p \leq 0,05$ : <sup>1</sup> при порівнянні ранкового хронобіологічного типу з аритмічним; <sup>2</sup> при порівнянні ранкового хронобіологічного типу з вечірнім.

во-судинної системи осіб з ранковим хронобіологічним типом до умов життєдіяльності, якими в даному випадку виступають заняття у першу зміну, тобто у першій половині дня.

Абсолютні значення показників зовнішнього дихання (ЖЄЛ) відповідають межах вікової норми досліджуваних осіб з ранковим, аритмічним і вечірнім хронобіологічними типами:  $(3,01 \pm 0,28)$ ,  $(2,83 \pm 0,09)$  і  $(2,99 \pm 0,10)$  л відповідно.

Первинні порушення в діяльності серцево-судинної системи (індекс Робінсона) виявлені у осіб з вечірнім і аритмічним хронобіологічними типами. У осіб з ранковим хронобіологічним типом даний індекс складав  $(81,73 \pm 6,25)$  ум. од., у осіб з аритмічним –  $(91,29 \pm 3,80)$  ум. од. та у осіб з вечірнім –  $(90,96 \pm 2,47)$  ум. од. Високий і середній показники діяльності серцево-судинної системи (індекс Робінсона) властиві для 30 і 47 % осіб відповідно в групі з вечірнім хронобіологічним типом, у 21 і 41 % відповідно з аритмічним і у 7 і 40 % відповідно з ранковим хронобіологічним типом (рис. 2). Крім того, виявлено достовірний зсув індексу Робінсона за критерієм Gamma ( $\gamma$ ) у бік вечірнього хронобіологічного типу ( $p \leq 0,05$ ). Виявлена тенденція свідчить про мобілізацію можливостей серцево-судинної системи до умов життєдіяльності (заняття з 8-ї годи-

ни ранку, досить ранній підйом) саме у осіб з вечірнім хронобіологічним типом.

Достатні функціональні можливості кардіореспіраторної системи (індекс Шаповалової) виявлені у осіб з ранковим, аритмічним і вечірнім хронобіологічними типами:  $(255,33 \pm 14,4)$ ,  $(262,74 \pm 10,46)$  і  $(248,42 \pm 7,49)$  ум. од. відповідно.

У 40 % осіб з ранковим хронобіологічним типом виявлені можливості кардіореспіраторної системи (індекс Шаповалової) нижче середнього рівня. У 26 % осіб з аритмічним хронобіологічним типом виявлені можливості кардіореспіраторної системи низького й середнього рівня. У 34 % осіб з вечірнім хронобіологічним типом виявлені можливості кардіореспіраторної системи середнього рівня. Слід відзначити, що при аналізі функціональних можливостей кардіореспіраторної системи (рис. 3) за критерієм Gamma ( $\gamma$ ) не виявлено залежності ( $p > 0,05$ ) між величиною показника і хронобіологічним типом, тобто функціональні можливості кардіореспіраторної системи не залежать від хронобіологічного типу.

Функціональний стан (адаптаційний потенціал) був задовільним у осіб з ранковим, аритмічним і вечірнім хронобіологічними типами:  $(1,96 \pm 0,09)$ ,  $(2,09 \pm 0,06)$  і  $(2,10 \pm 0,04)$  ум. од. відповідно; 67 % осіб з ранковим хронобіологічним типом мали задовіль-

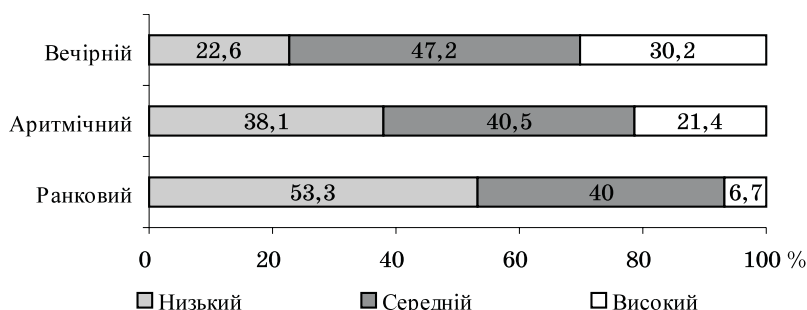


Рис. 2. Частотний розподіл індексу Робінсона у досліджуваних осіб віком 18 років з різними біоритмологічними типами

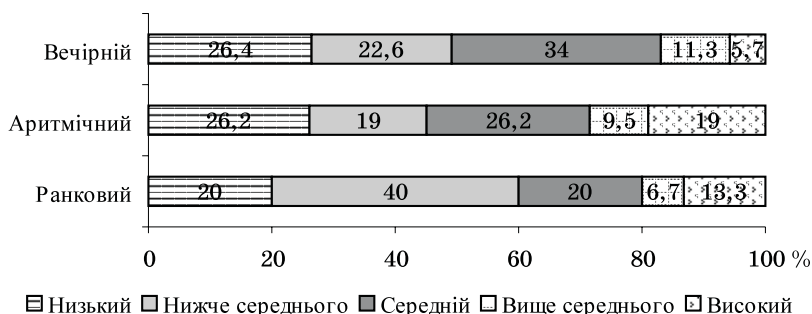


Рис. 3. Частотний розподіл індексу Шаповалової у досліджуваних осіб віком 18 років з різними біоритмологічними типами

ну адаптацію організму до умов навколишнього середовища при високих і достатніх функціональних можливостях у порівнянні з особами з аритмічним (64 %) і вечірнім (51 %) хронобіологічними типами. У 2,4 % осіб з аритмічним хронобіологічним типом виявлена незадовільна адаптація організму (рис. 4).

в роботі серцево-судинної системи. Це свідчить про нормальну адаптацію серцево-судинної системи осіб з ранковим хронобіологічним типом до умов життєдіяльності, якими в даному випадку виступають заняття у першу зміну або у першій половині дня. Мобілізація адаптаційних можливостей серцево-судинної системи до умов життєдіяль-



Рис. 4. Частотний розподіл адаптаційного потенціалу у досліджуваних осіб віком 18 років з різними біоритмологічними групами

Адаптаційні пристосування досліджуваних осіб в різних хронобіологічних групах до дії екзогенних факторів, а саме чинників, що виникають в процесі навчання у ВНЗ, мають певні відмінності.

#### Висовки

У осіб віком 18 років з різними хронобіологічними типами існує достовірна різниця

ності виявлена у осіб з вечірнім хронобіологічним типом.

Виявлена різниця в роботі серцево-судинної системи у осіб з різним хронобіологічним типом працездатності свідчить також про вторинну адаптацію системи кровообігу до дії екзогенних факторів, що зумовлено зміною природного ранкового біоритму працездатності на вечірній і аритмічний.

#### Література

1. Агаджанян Н.А., Петров В.И., Радиш И.В., Краюшкин С.И. Хронофизиология, хронофармакология и хронотерапия. Волгоград: ВолГМУ, 2005. 336 с.
2. Мезенцев С.А., Кузьминых В.Г. Хронобиологический подход как метод объективного прогнозирования адаптации человека: Матер. XI Междунар. симпоз. «Эколого-физиологические проблемы адаптации», 24–28 января 2003 г. М.: Изд-во РУДН, 2003: 355–356.
3. Хетагурова Л.Г. Патологическая десинхронизация: Владикавказ, Мед.-биол. вестник 2005; 5, 9–10: 32–41.
4. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М.: Медицина, 1997. 236 с.
5. Методическое пособие по валеологическим аспектам диагностики здоровья. Под ред. М.С. Гончаренко. Харьков, 2000. 197 с.
6. Апанасенко Г.Л. О возможности количественной оценки здоровья человека. Гигиена и санитария 1985; 6: 55–58.
7. Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. Харків: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2007. 288 с.

#### СОСТОЯНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА В ВОЗРАСТЕ 18 ЛЕТ В РАЗЛИЧНЫХ ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ГРУППАХ

А.Н. Тимченко

Рассмотрено состояние адаптационных возможностей организма студентов в возрасте 18 лет с разными хронобиологическими типами работоспособности. Выведено нормальная адаптация сердечно-сосудистой системы у лиц с утренним хронобиологическим типом и мобилизация адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы к условиям жизнедеятельности у лиц с вечерним хронобиологическим типом. Вторичная адаптация системы кровообращения к

условиям жизнедеятельности обусловлена изменением естественного утреннего биоритма работоспособности на вечерний и аритмический.

**Ключевые слова:** хронобиологический тип, адаптационные возможности, адаптация сердечно-сосудистой системы.

#### STATE OF ADAPTABLE POTENTIAL OF STUDENTS ORGANISM IN 18 YEARS IN DIFFERENT CHRONOBIOLOGICAL TYPES

**A.M. Timchenko**

In article the condition of adaptable possibilities of an organism of students at the age of 18 years with different chronobiologic working capacity types is considered. Normal adaptation of cardiovascular system at persons with morning chronobiological type and mobilization of adaptable possibilities cardiovascular systems to conditions of ability to live at persons with evening chronobiologic type is revealed. Secondary adaptation of blood circulation to ability to live conditions is caused by change of a natural morning biorhythm of working capacity on evening and arrhythmic.

**Key words:** chronobiological types, adaptable potentialities, somatic health.

Поступила 05.10.09

## ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СИСТЕМІ КРОВІ У СПОРТСМЕНІВ ПРИ ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ

**В.П. Корж, І.М. Башкін**

*Харківський національний медичний університет*

Вивчали зміни окремих компонентів системи крові у спортсменів. Визначено зміни кількісних і якісних параметрів червоних клітин крові. Встановлено вплив інтенсивних фізичних навантажень на вміст у периферичній крові різних морфологічних форм еритроцитів і їх вікових популяцій, зміни кислотної й осмотичної резистентності, а також агрегаційної здатності. Отримані результати свідчили про негативний вплив указаних змін на фізичну працездатність і рівень здоров'я спортсменів. Сукупність змін, які було зареєстровано, дозволяє виділити як окрему клінічну форму стан перенапруги системи крові під впливом фізичних навантажень, що є неадекватними функціональними можливостями організму спортсмена.

**Ключові слова:** адаптація, гемоліз, еритроцити, перенапруження системи крові, фізичні навантаження, спортсмени.

В основі досягнення і подальшого зростання спортивного результату лежать адаптаційні процеси, що відбуваються в організмі спортсменів. Тренувальна й змагальна діяльність є основою для їх удосконалення. Зростання об'єму і інтенсивності тренувальних навантажень має відбуватися поступово, щоб дати можливість організму адаптуватися до них й уникнути травматизму (збою системи в результаті перевантаження). Необхідною умовою тренування є чергування підвищеної м'язової діяльності, що викликає деяку міру стомлення, й відпочинку, особливо активного. Стомлення не можна розглядати як щось патологічне, шкідливе для організму: воно є природним станом, що виникає під впливом м'язової діяльності. Власне співвідношення стомлення і відновлення складає фізіологічну основу процесу спортивного тренування.

При надмірному стомленні, що багато разів повторюється, в організмі людини виникає перевтома – сукупність стійких функціональних порушень, що не зникають під час відпочинку. Тривала перевтома є однією з причин розвитку перенапруження роботи різних біологічних систем організму і виникнення різного роду патологічних станів. Однією з основних причин виникнення патологічного стану є дія неадекватних навантажень [1]. У розвитку перенапруження провідну роль відіграє невідповідність функціональних можливостей організму силі провокуючого чинника.

У спортивній медицині традиційно виділяють чотири клінічні форми перенапру-

ження: центральної нервової системи; серцево-судинної системи; печінки (печінково-больовий синдром); нервово-м'язового апарату (м'язово-больовий синдром).

Досить часто у спортсменів набувають розвитку функціональні порушення, які, якщо враховувати особливості їхнього виникнення і етапність, можна охарактеризувати як перенапруження крові на системному рівні. Уявлення про кров як систему, до якої відносяться периферична кров, що циркулює по судинах, органи кровотворення, органи кроворуйнування, регулюючий нейрогуморальний апарат, було створено радянським вченим Г.Ф. Лангом. Кров виконує роль транспортного і комунікативного засобу в інтеграції обміну речовин різних органів, є однією з найважливіших систем життєзабезпечення організму і має низку особливостей. Висока мітотична активність гемопоетичної тканини обумовлює її високу чутливість до дії чинників, що ушкоджують здоров'ю. Генетична детермінованість розмноження, диференціювання, структури і метаболізму кров'яних клітин створюють передумови для порушень геному і негативних змін в процесах генетичної регуляції. Своєрідність системи крові виявляється також у тому, що її патологічні зміни виникають не тільки як наслідок порушення функції окремих її компонентів, але й при розвитку функціональних порушень в інших органах і системах організму. Будь-яке захворювання, патологічний процес, як і низка фізіологічних зрушень, можуть у різній мірі відбиватися на кількісних або

якісних показниках циркулюючого складу крові. Цим визначається величезне значення вивчення системи крові як «кров'яного дзеркала організму», виявлення закономірностей її змін має суттєве діагностичне значення [2].

Етіологічну основу розвитку порушень системи крові серед спортсменів складають неадекватні фізичні навантаження. Вони характеризуються морфофункціональними змінами як на системному рівні, так і на рівні цілісного організму, мають чітку симптоматику, періодичність виникнення і розвитку [3–5]. Літературні дані свідчать, що ступінь змін у системі крові, обумовлений рівнем тренуваності спортсмена, його кваліфікацією, залежить від характеру тренувальних м'язових навантажень [6]. Вивчення названих змін є актуальним завданням.

Метою роботи було вивчення особливостей змін еритроцитів (стану еритроцитів периферичної крові і активності еритропоезу) у спортсменів, які в процесі професійної спортивної діяльності піддавалися надмірним фізичним і психічним навантаженням.

**Матеріал і методи.** В обстеженні брали участь 187 спортсменів високої спортивної кваліфікації, що спеціалізуються в циклічних і ігрових видах спорту. Планове обстеження проводилося поетапно, у різні періоди процесу професійної спортивної діяльності атлетів, відповідно до затвердженої навчально-тренувальної програми і календаря змагань. Для обстеження забиралася цілісна, стабілізована кров (антикоагулянт – ЕДТА), вранці, натщесерце і повторно – після виконання рекомендованого фізичного навантаження. З показників периферичного відділу еритроциту досліджували концентрацію гемоглобіну стандартним ціанметгемоглобіновим методом, кількість еритроцитів – уніфікованим методом підрахунку в камері Горяєва, гематокрит (Ht) – мікрометодом з використанням стандартних гепаринізованих капілярів. Отримані значення вмісту Hb, Ht і кількості еритроцитів дозволили розрахувати додатково деякі морфофункціональні характеристики клітин червоної крові: середній об'єм еритроцита ( $V_{ep}$ ) у фемтолітрах (фл), середню концентрацію Hb в одному еритроциті, середній вміст Hb в окремому еритроциті у фемтомолях (фмоль).

Досліджували резистентність еритроцитів до гемолітичних дій (кислотної, осмотичної). Кислотну резистентність визначали на основі різної стійкості еритроцитів по

відношенню до HCl. Визначали наступні показники: час початку гемолізу ( $t_0$ ); час закінчення гемолізу ( $t_{100}$ ); тривалість гемолізу (tr):  $tr = t_{100} - t_0$ ; час 50% -вого гемолізу ( $t_{50}$ ). Осмотичну резистентність визначали за концентрацією гіпотонічного розчину натрію хлориду. Різні популяції еритроцитів отримували методом фракціонування клітин в градієнті щільності сахарози [7]. Для диференціації отриманих клітинних популяцій у віковому аспекті проводили цитологічний контроль на вміст ретикулоцитів [7].

Здатність еритроцитів до агрегації визначали турбідиметричним методом у суспензії відмитих еритроцитів. Для індукції агрегації еритроцитів використовували альціановий синій [8]. Швидкість агрегації визначали відповідно нахилу кривої світлопропускання.

**Результати.** При проведенні планових досліджень у окремих спортсменів виявляли суб'єктивні і об'єктивні ознаки перевтоми та/або стану перетренованості. У цих спортсменів відзначали відмову від тренувальних занять, скарги на погіршення загального стану (немотивована стомлюваність, головні болі, безсоння, роздратованість тощо), негативну динаміку абсолютних і відносних показників максимального споживання кисню,  $PWC_{170}$ , порушення в роботі нервової і серцевої систем, системи травлення. Виявлені порушення негативно впливали на спортивну результативність, фізичну і психічну працездатність і стан здоров'я спортсменів.

Розвиток цих порушень супроводжувався суттєвими змінами у системі крові. Перш за все у спортсменів з ознаками перевтоми та/або перетренованості, порівняно з показниками здорових атлетів, спостерігалася зниження кількості еритроцитів і концентрації Hb, змінювалися морфофункціональні властивості еритроцитів (збільшувався  $V_{ep}$ , зменшувалися середня концентрація і середній вміст Hb в одному еритроциті), при цьому практично не змінювалися показники Ht.

Підтримка на достатньому рівні загальної кількості еритроцитів здійснюється системою еритроциту – складного комплексу клітин, до складу якого входять ранні клітини-попередники; клітини еритроїдного ряду кісткового мозку, що мають ядра, на різних етапах диференціювання; ретикулоцити; зрілі еритроцити, які можна розподілити на декілька популяцій.

У периферичній крові спортсменів визначали три популяції червоних клітин: 1 – «фізіологічно старі» еритроцити (містили 0–5 ‰ ретикулоцитів); 2 – «фізіологічно зрілі» (містили 8–13 ‰ ретикулоцитів); 3 – «фізіологічно юні» (містили 20–23 ‰ ретикулоцитів). За отриманими результатами констатовано, що протягом тренувально-змагальної діяльності оптимальний, відносно стабільний функціональний стан частіше за все мають спортсмени з другою популяційною групою еритроцитів у периферичній крові. При виникненні і розвитку у спортсменів проявів дезадаптаційних порушень спостерігалось превалювання першої і/або третьої популяційної групи еритроцитів. Аналіз популяційного вмісту червоних клітин периферичної крові в динаміці тренувальної діяльності може бути одним із об'єктивних діагностичних критеріїв адекватності рекомендованих тренувальних і змагальних навантажень щодо функціональних можливостей організму спортсмена. При дезадаптаційних порушеннях моніторинг динаміки коливання вмісту ретикулоцитів і, відповідно, реєстрація переходу складу периферичної крові спортсмена до другої популяційної групи еритроцитів надають можливість об'єктивно оцінювати ефективність рекомендованих корекційно-відновлювальних заходів.

Важливою властивістю еритроцитів є їх здатність до деформації. При циркуляції крові еритроцити, які взаємодіють один з одним та зі стінками судин, без втрати нативності можуть подовжуватися, перегинатися, закручуватися тощо. Форма еритроцитів і їх висока здатність деформуватися відіграють важливу роль у виконанні спеціалізованих функцій, що мають безпосереднє відношення до газообміну. Еритроцити у формі двовувігнутого диска характеризуються високим співвідношенням площі поверхні до об'єму. Визначення об'єму, товщини і діаметра еритроцитів дає уяву про їх форму: чи наближається вона до форми плоского диска (так званий планоцитоз), чи має форму кулі (так званий сфероцитоз). У наших обстеженнях серед нормально тренуваних спортсменів співвідношення середнього діаметра еритроцитів до їх товщини складало у середньому 3,5–3,9, а в окремих випадках було і трохи вище. Це свідчило про відносну норму із незначною тенденцією до планоцитозу. У спортсменів з ознаками перевтоми або перетренованості співвідношення складало у середньому 3,4–3,7

і нижче, що можна інтерпретувати як тенденцію до сфероцитозу.

У периферичній крові спортсменів із дезадаптаційними проявами превалювали еритроцити із низькою крайовою гемоглобінізацією. Істотних змін зазнавала поверхнева цитоархітектоніка еритроцитів. Кількість дискоцитів знижувалася внаслідок збільшення вмісту як зворотно деформованих клітин, так і не зворотно деформованих (передгемолітичних) форм еритроцитів, переважно еритроцитів з множинними виростами. В процесі циркуляції еритроцитів із кровообігом існує постійний ризик їх спонтанного гемолізу. Достатньо велика кількість досліджень вказує на те, що під час інтенсивних фізичних навантажень відбувається руйнування еритроцитів [9–11]. До особливостей, які сприяють розвитку внутрішньосудинного гемолізу під час регулярних або одноразових фізичних вправ або в процесі відновлення, відносять механічні травми (удари стоп об поверхню – маршова анемія, або компресія еритроцитів у капілярах при скороченні м'язів), збільшення температури тіла, дегідратацію, гемоконцентрацію, оксидативний стрес [10]. Відповіддю на розвиток даного явища є прояви «спортивної анемії», на що вказується в дослідженні [12]. В нашому дослідженні розвиток дезадаптаційних порушень у спортсменів в окремих випадках супроводжувався розвитком анемічного стану.

Результати обстежень свідчили, що у спортсменів, які перебували у стані перевтоми і/або перетренованості, спостерігалось зниження стійкості мембран еритроцитів до кислотного гемолізу еритроцитів практично всіх «вікових» популяцій, що відображалось на зміні часу гемолізу і його максимуму. Найбільш вираженими зміни були у спортсменів із превалюванням у крові еритроцитів першої популяційної групи. Лізис еритроцитів у кислотному середовищі багато в чому обумовлений денатурацією і подальшою агрегацією мембранних білків [11], де важливу роль відіграє олігомеризація білка смуги-3 цитоскелету, найбільш виражена в зрілих і старих еритроцитах [9]. При проведенні планових обстежень практично у всіх спортсменів після інтенсивних фізичних навантажень реєстрували зниження осмотичної стійкості еритроцитів. Виразність змін наданого параметра пропорційно залежала від кількісного вмісту в крові різних морфологічних типів еритроцитів і їхнього якісного складу. Зниження

осмотичної стійкості, збільшення на еритрограмі групи клітин з низькою стійкістю корелювало із превалюванням у крові еритроцитів сферичної форми.

Важливу роль у функціонуванні еритроцитів відіграє стан поверхневої мембрани. Стабільність мембран і реологічні властивості крові визначає негативний поверхневий заряд еритроцитів. Поверхневий заряд еритроцитів оцінювали, використовуючи метод альціан-індукованої агрегації еритроцитів. Альціановий синій – органічний барвник, молекула якого несе позитивний заряд і вступає до електростатичної взаємодії із глікозоаміноліпідами плазматичної мембрани клітин [8]. Отримані дані свідчили, що серед спортсменів, які зазнали негативного впливу фізичних навантажень на функціональний стан організму, мають місце зміни цього показника. У спортсменів у стані перевтоми та/або перетренованості спостерігалось зниження швидкості альціан-індукованої агрегації еритроцитів, що свідчило про зміну поверхневого заряду мембран еритроцитів і, відповідно, неповноцінне їх функціонування. За даними окремих авторів, вказані зміни можуть відбуватися внаслідок впливу низки чинників: мікрооточення, рН-середовища, адсорбції на поверхні різноманітних токсичних сполук [13]. Позитивною динамікою при застосуванні корекційно-відновлювальних заходів було повернення фіксованого негативного заряду мембрани еритроцитів до норми.

### Література

1. Платонов В.Н. Система подготовки спортсменов в олимпийском спорте. Общая теория и ее практические приложения. К.: Олимп. лит-ра, 2004. 808 с.
2. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови. Пер. с англ. М. – СПб.: БИНОМ – Невский Диалект, 2000. 448 с.
3. Brun J.F., Khaled S., Raynaud E. et al. The triphasic effects of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology? Clin. Hemorheol. Microcirc. 1998; 19, 2: 89–104.
4. Neuhaus D., Gaehdgens P. Haemorheology and long term exercise. Sports Med. 1994; 18: 10–21.
5. Varlet-Marie E., Maso F., Lac G. et al. Hemorheological disturbances in the overtraining syndrome. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004; 30, 3–4: 211–218.
6. Вукулов А.Д. Реологические свойства крови у спортсменов высокой квалификации. Физиология мышечной деятельности: Тез. докл. Междунар. конф. М., 2000: 38–40.
7. Сибірна Н.О., Великий М.М. Цитологічні та фізико-хімічні методи дослідження крові: Метод. посібник. Львів: ЛДУ, 1997. 69 с.
8. Громашевская Л.Л. Теоретические и практические вопросы ферментной диагностики болезней печени на современном этапе. Ферменты в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Республ. Межвед. сб. Серия Молек. биол. К.: Наук. думка, 1968: 32–37.
9. Maeda N., Kon K., Imaizumi K. et al. Alteration of rheological properties of human erythrocytes by crosslinking of membrane proteins. Biochim. Biophys. Acta 1983; 735, 1: 104–112.
10. Smith J.A. Exercise, training and red blood cell turnover. Sports Med. 1995; 19, 1: 9–31.
11. Weight L.M., Byrne M.J., Jacobs P. Haemolytic effects of exercise. Clin. Sci. (London). 1991; 81, 2: 147–152.
12. Szygula Z. Erythrocytic system under the influence of physical exercise and training. Sports Med. 1990; 10, 3: 181–197.

### Висновки

Неадекватні фізичні навантаження, які викликають у спортсменів дезадаптаційні порушення, провокують виникнення і розвиток виражених порушень в еритроцитарній системі. До них можна віднести порушення роботи органів кровотворення, на що вказує зниження загальної кількості еритроцитів, їх низька гемоглобінізація і підвищення популяції «фізіологічно старих» форм; в еритроцитах, що циркулюють в периферичній крові, мають місце біохімічні і патоморфологічні зміни, які, вірогідно, призводять до порушень внутрішньоеритроцитарного метаболізму і викликають пошкодження мембранних утворень, про що свідчить перевищення понад рекомендованої норми у периферичній крові кількості зворотно і не зворотно змінених форм еритроцитів, низька кислотна резистентність і агрегаційна здібність червоних клітин. Характер і спрямованість констатованих змін мають негативні наслідки щодо ефективності професійної діяльності і стану здоров'я спортсменів, потребують удосконалення підходів до діагностики і розробки ефективних корекційних заходів з їх усунення. Сукупність наданих змін може скласти основу для виділення у спортивній медицині окремої клінічної форми, а саме перенапруження системи крові, що вимагає подальшого детального вивчення впливу інтенсивних фізичних навантажень на основні складові компоненти системи крові.

13. Пурло Н.В., Попова О.В., Бирюкова Л.С., Козинец Г.И. Электрофоретическая подвижность эритроцитов как показатель оценки функциональной полноценности мембран эритроцитов. Клин. лаб. диагностика 2005; 1: 40–44.

#### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ КРОВИ У СПОРТСМЕНОВ ПРИ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

*В.П. Корж, И.Н. Башкин*

Изучены изменения отдельных компонентов системы крови у спортсменов. Выявлены изменения количественных и качественных параметров красных клеток крови. Установлено влияние интенсивных физических нагрузок на содержание в периферической крови различных морфологических форм эритроцитов, их возрастных популяций, изменение кислотной и осмотической резистентности, а также агрегационной способности. Показано, что данные изменения отрицательно влияют на физическую работоспособность и уровень здоровья спортсменов. Совокупность зарегистрированных изменений позволяет выделить в отдельную клиническую форму состояние перенапряжения системы крови под влиянием физических нагрузок, неадекватных функциональным возможностям организма спортсмена.

**Ключевые слова:** адаптация, гемолиз, эритроциты, перенапряжение системы крови, физические нагрузки, спортсмен.

#### PATHOMORPHOLOGIC CHANGES IN SYSTEM OF BLOOD AT SPORTSMEN AT INTENSIVE PHYSICAL LOADINGS

*V.P. Korzh, I.N. Bashkin*

Changes of separate components of system of blood at sportsmen's are investigated. Changes of quantitative and qualitative parameters erythrocytes are revealed. It is established influence of intensive physical loadings on the contents of different age population's erythrocytes, their acid and osmotic resistance and aggregation abilities. It is shown, that the revealed changes have negative influence on physical serviceability of sportsmen and correction demand. It is offered to allocate the separate clinical form overstrain of system blood under influence of inadequate physical loadings.

**Key words:** adaptation, hemolytic, erythrocytes, overstrain of system blood, physical loadings, sportsmen.

Поступила 10.09.09

## ВИВЧЕННЯ ПАТОГЕННОСТІ СУДИННИХ ІЗОЛЯТІВ *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* НА ДРІБНИХ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

**В.В. Гончаренко**

*ДУ «Інститут дерматології та венерології АМН України», м. Харків*

Проведено вивчення патогенності лабораторних штамів *C. pneumoniae*, ізольованих з атеросклеротичних бляшок судин хворих з серцево-судинною патологією. Показано, що розглянуті штами *C. pneumoniae* проявили потенційну здатність викликати інфекційний процес у білих безпородних мишей, які виявилися сприйнятливою моделлю для вивчення патогенності при різних способах зараження.

**Ключові слова:** штами *C. pneumoniae*, патогенність, дрібні лабораторні тварини, інфекційні хвороби.

Мікроорганізми порядку *Chlamydiales* є високо спеціалізованими грамнегативними внутрішньоклітинними бактеріями з двох-фазним життєвим циклом, у якому елементарні тільця сприяють транзиту між клітинами й метаболічно активними ретикулярними тільцями, відповідальними за внутрішньоклітинну реплікацію. Цикл розмноження хламідій реалізується при їх взаємодії з чутливою клітиною хазяїна. У середині клітини, інфікованої хламідіями, протікають складні біосинтетичні процеси, які характеризують своєрідність відносин паразита і клітини хазяїна, визначену як енергозалежний паразитизм. У результаті розмноження збудника та його патогенної дії виникає патологічний процес. Патологічні прояви хламідійної інфекції досить різноманітні, спектр захворювань, спричинених хламідіями, є достатньо широким. На фоні високої частоти виявлення хламідій, непатогномонічності хламідійної інфекції, схильності до персистентного існування в організмі особливої значущості набувають діагностичні методи, спрямовані на встановлення тригерного фактора захворювання. Ізоляція патогенного агента є найбільш доказовим методом встановлення етіологічного діагнозу і дає можливість подальшого вивчення біологічних властивостей отриманого клінічного ізоляту. При комплексному тестуванні чистої культури мікроорганізму хламідійної природи для оцінки сумарних біологічних особливостей обов'язковим є визначення патогенності виділеного агента на дрібних лабораторних тваринах [1, 2].

У зв'язку зі сказаним у даній роботі з метою одержання уявлень про ступінь патогенності штамів підтвердженої хламідійної етіології, ізольованих з післяопераційних судинних зразків хворих, було проведено зараження дрібних лабораторних тварин.

**Матеріал і методи.** Дослідження проведено на 56 безпородних білих мишах-самцях масою 6–8 г. Тварини були однакового віку, ваги, статі, угодваності. Їх утримували у пристосованому для тварин, вільному від патогенів, окремому приміщенні. Миші знаходилися на стандартному раціоні, одержували харчування, рівнозначне за якісним і кількісним складом. Усі тварини були розподілені на групи: експериментальні і інтактні та на підгрупи в залежності від способу зараження й лабораторного ізоляту. Усі маніпуляції на тваринах здійснювали у віварії Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України. Тварин утримували в умовах, які відповідають правилам «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (1986).

Для дослідження використовували наступні штами *C. pneumoniae*:

- судинний ізолят, позначений як AP1-a, видалений з атеросклеротичної бляшки черевного відділу аорти, отриманої при операційному втручанні у хворого К., який страждав на ішемічну хворобу серця;

- судинний ізолят, позначений як AP2-fa, видалений з атеросклеротичної бляшки стегнової артерії, отриманої при операційному втручанні з приводу облітеруючого

атеросклерозу магістральних судин нижніх кінцівок з вираженою оклюзією хворого К.

Хворі знаходилися на лікуванні у відділенні гострих захворювань судин Інституту загальної і невідкладної хірургії АМН України. Чиста культура мікроорганізмів здобута шляхом сумісного послідовного застосування культури клітин лінії Нер-2 і курячих ембріонів, що розвиваються, у хламідійній групі лабораторії мікробіології Інституту дерматології та венерології [3].

З метою накопичення біомаси збудника штами *C. pneumoniae* культивувались на перещеплюваній клітинній культурі Нер-2 на поживному середовищі 199, збагаченому 10 % ЕТС, 0,5 % глюкози, упродовж трьох пасажів кожний [1]. Після видалення клітинного детриту бактерії були сконцентровані шляхом повторного центрифугування при 1200 g упродовж 25 хв. Осади були ресуспендовані в 0,9% -ому ізотонічному розчині NaCl і застосовані для інокуляції тваринам. Перед виготовленням суспензій культуральні препарати були забарвлені за методом Мая–Грюнвальда–Гімзи. Після підрахунку включень у клітинах у світловому мікроскопі і виправлення на фактор розведення бактеріальні титри були виражені в якості одиниць, що формують включення (IFU/мл), і склали  $2 \times 10^2$  IFU/мл. Для проведення контрольного зараження на інтактних тваринах аналогічні бактеріальні суспензії інактивовані упродовж 45 хв при 75 °C для пригнічення інфективності. Експериментальні й інтактні тварини були інокульовані інтраназально і внутрішньочеревинно. Загибель мишей упродовж трьох діб визнавалась неспецифічною. Усі загиблі миші розтинались, уражені органи (легені, серце, печінка, селезінка) виймалися повністю й відбирались для досліджень.

Для проведення гістологічних досліджень фіксовані в 10%-ому нейтральному формаліні частини різних органів обробляли за загальноприйнятими гістологічними методиками: зневоднення у спиртах висхідної концентрації, заливання в парафін-целлоїдин, забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном і еозином [4].

Методом полімеразної ланцюгової реакції досліджували матеріал, одержаний при розтині загиблих заражених і декапітованих інтактних тварин. Діагностичною мішенню служили ДНК *C. pneumoniae*. ДНК зі зразків видаляли за допомогою спеціального набору з наступною ампліфікацією з використанням тест-систем фірми «Изоген

GenPak DNA PCR test» (Isogen Lab. Ltd, Москва) згідно з інструкцією виробника. Ампліфікацію проводили на термостаті, що програмується, «Терцик» (Москва, ДНК-технология).

Для вивчення патогенності штамів *C. pneumoniae*, видалених з атеросклеротичних бляшок, миші були інокульовані інтраназально 0,02 мл і внутрішньочеревинно 0,5 мл суспензії культури клітин, інфікованої відповідним судинним ізолятом. Тварини знаходились під спостереженням упродовж 5 тижнів. Загальна кількість кожної експериментальної групи дорівнювала 12 шт.

Імуноферментний аналіз для визначення наявності антигену *C. trachomatis* у зразках органів загиблих мишей проводили за допомогою набору «ВектоХлами-антиген-стрип» (Росія) згідно з інструкцією виробника. Результати підраховували на ІФА-аналізаторі «Мультискан ЕХ» (Фінляндія).

Мазки-відбитки органів загиблих мишей були забарвлені за Маккіавелло для світлової мікроскопії.

**Результати та їх обговорення.** Білі миші є високочутливими до респіраторної інфекції, яка виникає при інтраназальному зараженні і перебігає з різними ступенями проявів патології [5]. Одні штами викликають обмежений патологічний процес у легенях і бронхах, без вираженої летальності або з пізньою загибеллю, інші – найбільш патогенні, викликають швидку загибель тварин. За цими ознаками досліджувані штами підрозділяються на слабо- і високовірulentні, які викликають смертельний наслідок експериментально викликані патології у тварин відповідно не раніше 8 діб і на 3-тю–8-му добу [6, 7].

При інтраназальному зараженні білих мишей штамом AP1-а, ізольованим з атеросклеротичної бляшки аорти, спочатку явних ознак захворювання не спостерігалось, перші ознаки виявлялися достатньо пізно і виражались у вигляді незначної млявості, легкої скуйовдженості шерсті, настовбурченості, малорухомості. Перший випадок загибелі тварини відбувся на 21-й день після інокуляції патогенного агента, протягом тижня загинули ще дві тварини, решта мишей залишилася живою.

При аналізі гістологічних препаратів тканин легень була визначена поліморфна картина. На рис. 1 показані зміни структури, яка ущільнилась, відбувся фіброзний набряк строми з накопиченням рідини у просвіті альвеол, у результаті чого збереже-

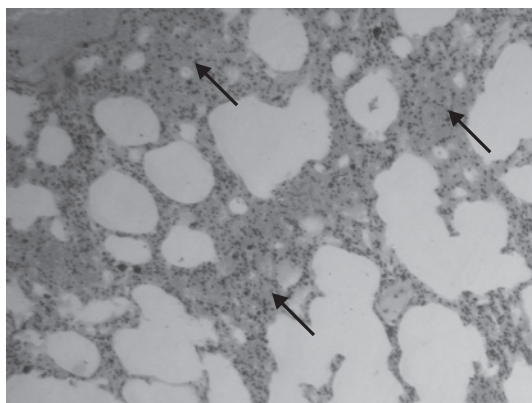


Рис. 1. Тканина легень. Фіброзний набряк стромы (стрілки), компенсаторне розширення альвеол. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

ні альвеоли компенсаторно розширені. На другому препараті альвеолярні епітеліоцити злучені і визначаються у просвіті альвеол. У бронхах позначається вогнищева гіперплазія епітелію, його ослизнення, розпушення апікальних полюсів клітин, злучення частки клітин у просвіт бронхів (рис. 2).

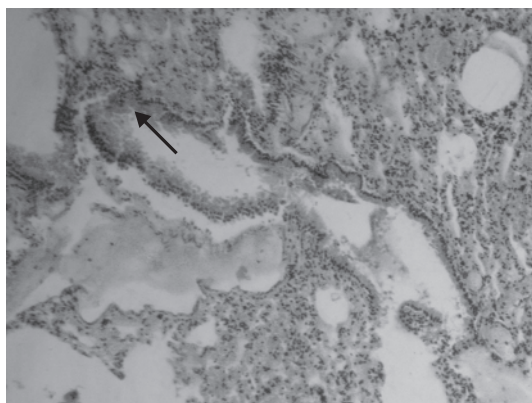


Рис. 2. Тканина бронхів. Накопичення рідини у альвеолярних ходах, гіперплазія епітелію (стрілка), його злучення, набряки. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

У препаратах третьої загиблої тварини стан легеневої тканини можна назвати збереженим відносно описаних зразків: епітелій бронхів практично незмінений, просвіти альвеол чисті, міжальвеолярні перегородки злегка потовщені внаслідок появи клітин запального інфільтрату.

Гістологічна картина зрізів серцевих тканин в окремих зразках розрізнялася (рис. 3–5). Так, у зрізі серця першої загиблої миші відхилень не відзначено, лише інколи зустрічаються повнокровні судини, у тому числі і капіляри. У гістологічних препаратах тварини, яка загинула другою, спостерігається реактивна проліферація мезоте-

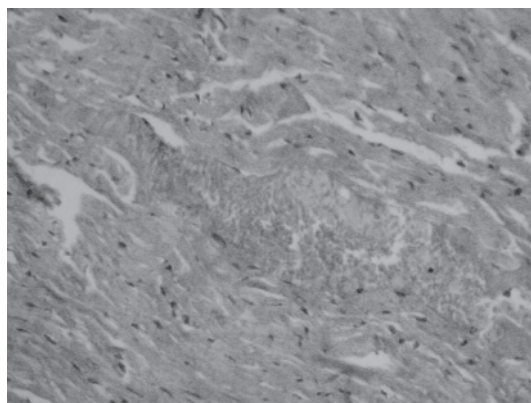


Рис. 3. Нормальна гістоструктура серцевої м'язової тканини міокарда. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

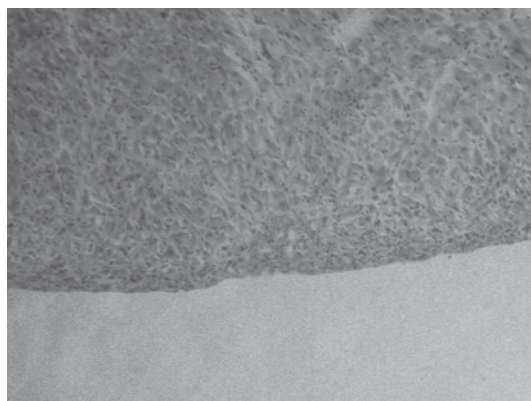


Рис. 4. Реактивна проліферація клітин епікарда, лімфоїдна інфільтрація. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

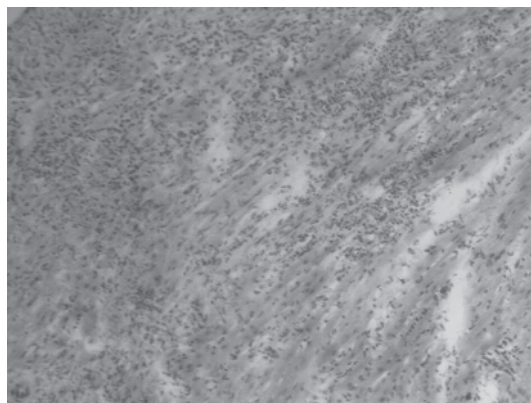


Рис. 5. Масивна клітинна інфільтрація міокарда. Проліферація фіброblastів, фрагменти набряклих кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

ліальних клітин епікарда, їхнє набрякання й інтенсивна лімфоїдна інфільтрація. Найбільш значні порушення гістоструктури тканини міокарда з ознаками міокардиту відмічено у третьої загиблої миші (рис. 5): масивна клітинна інфільтрація тканини (переважно лімфоїдна), проліферація фібро-

бластів. Волокна серцевого м'яза проглядалися лише фрагментарно, при цьому часто були набряклі.

При інтраназальному зараженні тварин інюкулювали штамом AP2-fa, що виділений із стегнової артерії. Перші зовнішні ознаки захворювання спостерігались значно раніше, ніж у тварин попередньої групи. Вже на 3-тю–4-ту добу усі миші проявляли незначну настовбурченість і мали злегка знижену рухомість. З розвитком хвороби у клінічній картині спостерігалися насамперед явища розладів дихання, прогресуючої адинамії й відокремленості. Чотири тварини загинули протягом першого тижня після зараження, починаючи з 4-го дня. Усього впродовж експерименту загинуло 7 мишей, що складає 58,3 %. При дослідженні гістологічних препаратів встановлено, що в легенях спостерігається поліморфна картина. Зміни торкаються як провідного, так і респіраторного відділів. У епітелії середніх і дрібних бронхів підвищено вміст келихоподібних клітин, тому епітелій ослизнений, апікальна частка епітеліоцитів злущена, у просвіті бронхів визначаються слизуваті маси зі значною домішкою лейкоцитів. Місцями десквамаційні процеси підсилюються і у просвіті бронхів відриваються цілі ділянки епітелію (рис. 6).

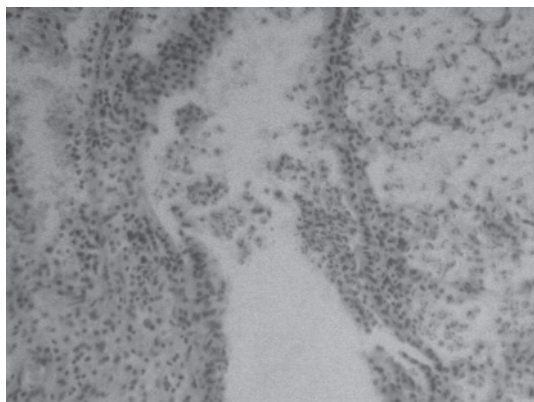


Рис. 6. Епітелій бронха ослизнений, у просвіті – злущений епітелій, слиз, нейтрофіли. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 150$

Зустрічаються бронхи дрібного калібру з епітелієм, що відшарувався повністю. Альвеоли вповнені фібриноідом (рис. 7). У препаратах інших мишей, поряд з масивною лейкоцитарною інфільтрацією, відмічаються ще більш значні зміни, при яких інфільтрат розповсюджується на прилеглі альвеоли по типу інтерстиціальної пневмонії. Межі перибронхіальних альвеол малопомітні (рис. 8).

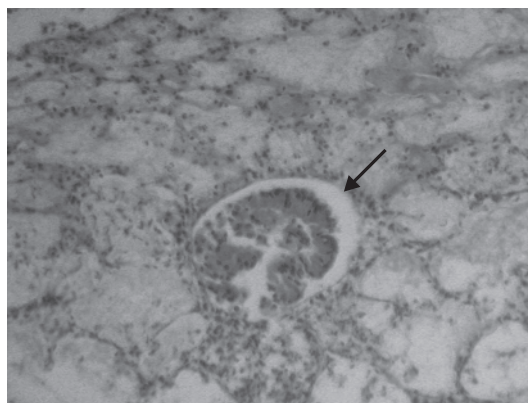


Рис. 7. Епітелій бронха повністю злущений у просвіт (стрілка). Альвеоли заповнені фібриноідом. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 150$

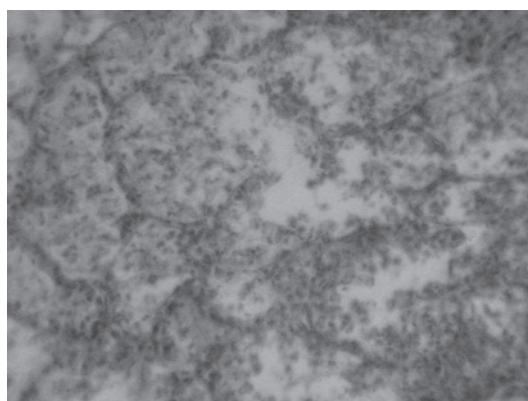


Рис. 8. Просвіти перибронхіальних альвеол, міжальвеолярні септи інфільтровані лейкоцитами. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

Іноді визначені вогнища, у яких тонкі нитки фібрину починають заміщатися колагеном, при цьому міжальвеолярні перегородки просочені ексудатом і розплавлені, клітинні елементи у них практично відсутні. У розширених судинах визначаються скупчення нейтрофілів (рис. 9). Разом з цим

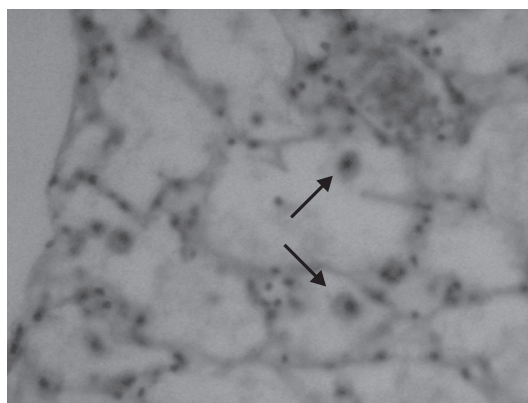


Рис. 9. Альвеолярний епітелій злущений у просвіт (стрілки), міжальвеолярні перегородки тонкі, малоклітинні. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 400$

у препаратах легень тварин, які загинули останніми, домінують циркуляторні порушення, і легенева тканина змінюється по типу червоного опеченіння. Капіляри міжальвеолярних септ поширені, у них визначається стаз еритроцитів, відбувається діapedез останніх у периваскулярний простір і накопичення у просвіті альвеол (рис. 10).

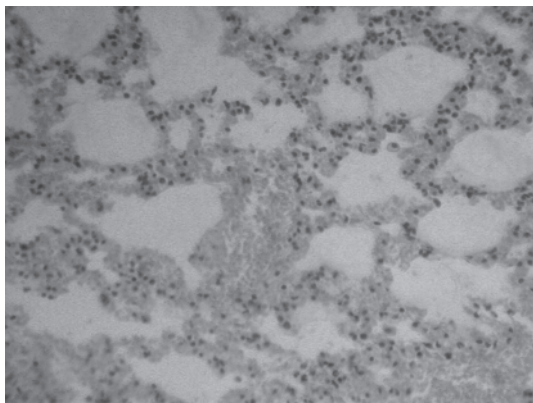


Рис. 10. Червоне опеченіння респіраторного відділу. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

У препаратах серця експериментальних тварин відхилень від норми не знайдено. Міокард має нормальну гістоструктуру, яка не відрізняється від структури інтактних тварин.

При спостереженні мишей, інюльованих штамом AP1-а, відзначені незначні порушення фізіологічного стану тварин. В основному більша частина їх була активною, вони мали нормальну рухливість і вигляд, аналогічний виду інтактних тварин. Упродовж експерименту захворювання з летальним наслідком відзначено у трьох тварин у достатньо пізні строки. Усі ці миші загинули через три тижні після інюляції в інтервалі 2–3 доби. Перебіг хвороби супроводжувався в'ялістю, відсутністю апетиту, відокремленістю, зниженням маси. При дослідженні гістологічних зрізів печінки виявлена схожа картина з інтактними тваринами. Балковий рисунок тканини змазаний, гепатоцити набухлі, клітинні границі визначаються слабо. Синусоїдні простори розширені, відзначена проліферація клітин Купфера. Багато двоядерних гепатоцитів, виражений анізонуклеоз: розміри ядер значно коливаються від дрібних гіперхромних до великих світлих з чималою кількістю ядерець. Виявлена дифузна дрібнокраплинна жирова дистрофія гепатоцитів. Зустрічаються осередкові скупчення клітин, які мають незвичайно великі розміри. У таких осередках іноді зустрічаються мітози, що

дозволяє припустити наявність екстрамедулярного кровотворення в тканині печінки. Судини, як правило, розширені, заповнені еритроцитами зі значною домішкою ядерних елементів крові (рис. 11, 12). У гістологічних препаратах селезінки повністю відсутній поділ на білу й червону пульпу. Представлено єдине кровотворне поле, яке заповнене переважно лімфоцитами (рис. 13). По усьому

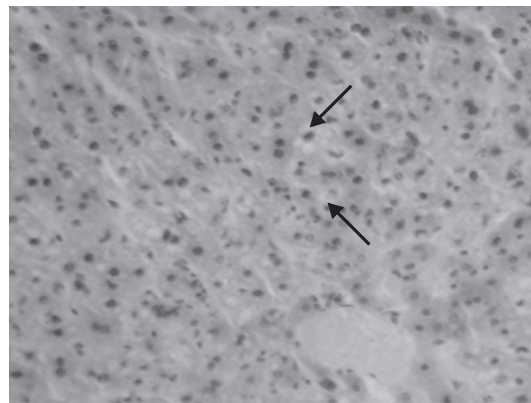


Рис. 11. Ділянка печінки, балковий рисунок порушений, тканина набрякла, дрібно крапельна жирова дистрофія гепатоцитів (стрілки). Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

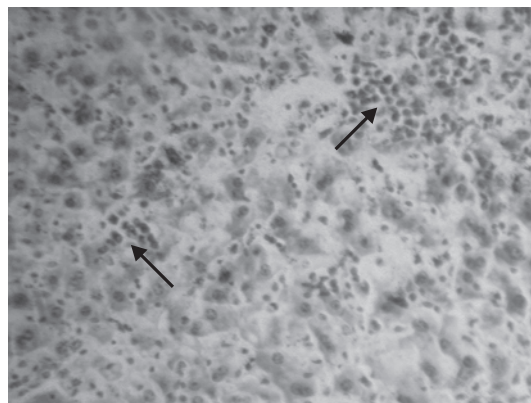


Рис. 12. Осередкові скупчення великих клітин крові в ділянці печінки (стрілки), анізонуклеоз. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

зрізу визначається багато гігантських клітин з сегментованим грубим ядром (рис. 14).

У мишей, заражених штамом AP2-fa, ізолятом стегнової артерії, стан здоров'я був задовільний упродовж експерименту. Полеглі тварини виявлені на 5-й та 8-й дні досліду. Але напередодні ніяких ознак погіршення стану не було відмічено, крім незначної адинамії й легкої скуйовдженості шерсті. Гістологічно у печінці й селезінці не знайдено відхилень, гістоструктура органу має нормальний вигляд. На гістологічному препараті легень відзначені слабкі десква-

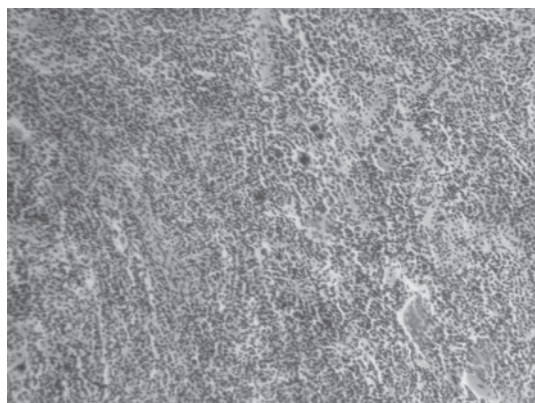


Рис. 13. Ділянка селезінки. Відсутній поділ на білу та червону пульпу, поле заповнене лімфоцитами. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 150$

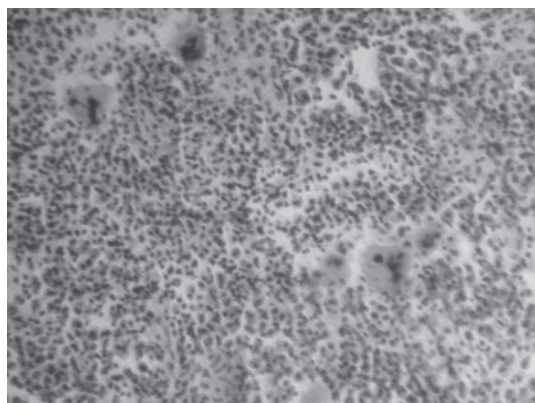


Рис. 14. Гігантські клітини з грубим сегментованим ядром в ділянці селезінки. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 250$

маційні процеси. Спостерігалася гіперплазія слизових клітин, у результаті ослизнення накопичувався слиз у просвіті. Серед слизу – злущений епітелій і фібрин.

Для підтвердження етіологічної ролі ізолятів *S. pneumoniae* в патології мишей була проведена полімеразна ланцюгова реакція для визначення наявності у зразках загинув тварин ДНК-збудника. Для дослідження були вибірково відібрані зразки органів загинув заражених і декапітованих інтактних мишей. При відбиранні органів основна їх частина була призначена для гістологічних досліджень, і не завжди було можливо без пошкодження структури вибрати ділянки, які виглядали макроскопічно ураженими (геморагії, ділянки некрозу тощо). Оскільки дослідження у повному об'ємі здійснювалося не тільки для вказаних зразків, а також для часток органів тварин, котрим інокулювано штами *S. trachomatis* (2-й ряд), то на рис. 15 зразки тканин, досліджуваних на наявність ДНК *S. pneumoniae*, розташовані в 1-му і 3-му рядах.

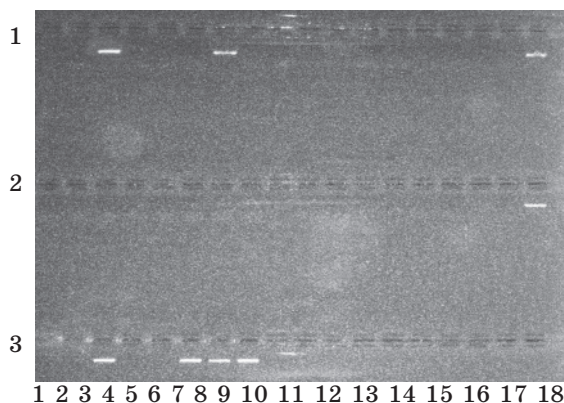


Рис. 15. Зразки тканин, досліджуваних на наявність ДНК *S. pneumoniae*

У першій лунці в усіх рядах розміщений негативний контроль діагностичної тест-системи, у останній – позитивний. У 1-му ряду в ході виконання реакції розміщено матеріал органів мишей, які були заражені штамом AP2-а (позиції 2–9) і інтактних тварин (позиції 10–17). При дослідженні патологічного матеріалу ДНК *S. pneumoniae* знайдено в зразках легень мишей, які мали найбільші ураження тканин (позиції 3 і 7). Патологічна гістоструктура цих органів детально представлена на рис. 8 і 10. Інші зразки (один препарат легень, два – серця, два – печінки і один – селезінки) виявилися негативними. Також негативними були зразки органів інтактних тварин. У 3-му ряду були розміщені частки органів мишей, заражених штамом AP1-а (позиції 2–7). ДНК *S. pneumoniae* виявлені у двох препаратах серцевих тканин і одному препараті селезінки (позиції 3, 6, 7 відповідно). У зразках тканин легень і двох печінок ДНК-збудника не знайдено (позиції 2, 4, 5).

При виконанні імуноферментного аналізу для дослідження наявності антигену *S. trachomatis* були також узяті в постановку чотири зразки патологічного матеріалу від мишей, заражених штамами *S. pneumoniae*. Значення їхньої оптичної щільності було значно нижчим, ніж значення критичної оптичної щільності.

Мазки-відбитки органів, забарвлених за Маккіавелло, регулярно виявляли морфологічні структури мікроорганізму.

### Висновки

Виявлено, що штами *S. pneumoniae* викликають патоморфологічні, патофізіологічні й клінічні зміни у тварин. За умови інтраназальної інокуляції штаму AP1-а, судинного ізоляту аорти, дисемінація збудни-

ка приводила до патологічних уражень тканин серця, а внутрішньочеревинного – селезінки і печінки, з наступною летальністю мишей. Спостерігалися поступове наростання симптомів і повільний перебіг захворювання. Кількість загинув тварин складала 25 %, строки загибелі були запізнілими, інвазійні властивості в тканинах легень мали слабковиражений характер. За викладеними ознаками штаму AP1-а визнано слабковірулентним.

Штам AP2-fa – судинний ізолят стегнової артерії, за патогенними властивостями відрізнявся від судинного ізоляту аорти. Інтраназальне зараження мишей викликало достатньо тяжкий патологічний процес у легенях з розвитком інтерстиціальних пневмоній і бронхітів, які приводили у результаті до швидкої загибелі тварин. Гісто-

патологічні зміни торкалися як провідного, так і респіраторного відділів легень з численними перибронхіальними інфільтра- тами, розплавленням міжальвеолярних перегородок і змінами легеневої тканини по типу червоного опеченіння. При цьому не було визначено уражень тканин серця, а також печінки і селезінки при внутрішньочеревинному зараженні, що свідчить про відсутність дисемінації мікроорганізму. Летальність тварин досягла 58,3 %. Отже, штам AP2-fa має патогенні властивості з середнім ступенем вірулентності.

Розглянуті лабораторні штами *C. pneumoniae* проявили потенційну здатність викликати інфекційний процес у білих беспородних мишей, які виявилися прийнятливою моделлю для вивчення патогенності при різних способах зараження.

### Література

1. Шаткин А.А., Мавров И.И. Урогенитальные хламидиозы. К.: Здоров'я, 1983. 200 с.
2. Мавров Г.И. Хламидийные инфекции: биология возбудителей, патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика. К., 2005. 524 с.
3. Патент України 70136 AG01N 33/00. Спосіб виділення штамів хламідій. В.В. Кутова, Д.І. Маврова, В.В. Гончаренко, О.В. Щоголева, С.К. Джораєва. № 20031212636; заявл. 26.12.2003; опубл. 15.09.2004. Бюл. № 9. 4 с.
4. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Л.: Медгиз, 1961. 340 с.
5. Moazed C., Kuo C.C., Grayston J.T., Campbell L.A. Murine models of Chlamydia pneumoniae infection and atherosclerosis. J. Infect. Dis. 1997; 175 (4): 883–890.
6. Yang Z.P., Kuo C.C., Grayston J.T. Systemic dissemination of Chlamydia pneumoniae following intranasal inoculation in mice. J. Infect. Dis. 1995; 171: 736–738.
7. Barron A.L. Contributions of animal models to the study of human chlamydial infections. Chlamydial infections. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 357–366.

### ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ СОСУДИСТЫХ ИЗОЛЯТОВ CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

**В.В. Гончаренко**

Проведено изучение патогенности лабораторных штаммов *C. pneumoniae*, изолированных из атеросклеротических бляшек сосудов больных с сердечно-сосудистой патологией. Показано, что рассмотренные штаммы *C. pneumoniae* проявили потенциальную способность вызывать инфекционный процесс у белых беспородных мышей, которые оказались чувствительной моделью для изучения патогенности при разных способах заражения.

**Ключевые слова:** штаммы *C. pneumoniae*, патогенность, мелкие лабораторные животные, инфекционный процесс.

### PATHOGENICITY STUDY OF VASCULAR ISOLATES CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ON SMALL LABORATORY ANIMALS

**V.V. Goncharenko**

The pathogenicity study of the laboratory strains *C. pneumoniae*, isolating from atherosclerotic plaques of the patient vessels with cardiovascular pathology was carried out. These strains demonstrated the potential abilities to cause the infectious process in white mice, which turned out the appropriate models for pathogenicity study with the different ways of inoculation.

**Key words:** strains *C. pneumoniae*, pathogenicity, small laboratory animals, infectious process.

Поступила 30.10.09

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО $\alpha$ -2b-ИНТЕРФЕРОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

*Н.В. Кашпур, А.В. Мартынов, Е.А. Романова,  
А.Ю. Волянский, С.Д. Перемот, М.В. Смелянская,  
Н.И. Игумнова, Т.А. Сидоренко, Т.П. Осолодченко*

*ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова  
АМН Украины», г. Харьков*

В работе исследовано действие нативного и модифицированных янтарным ангидридом производных  $\alpha$ -2b-интерферона на стафилококковую инфекцию в эксперименте. Получено подтверждение антитоксического действия интерферона, его способности усиливать фагоцитарную активность нейтрофилов и предотвращать нарушения гемостаза.

**Ключевые слова:** модифицированные производные, стафилококковая инфекция, фагоцитоз.

Повышение активности фагоцитов путём введения экзогенного интерферона создаёт условия для более эффективной элиминации возбудителей из организма хозяина. Многими авторами исследовано влияние экзогенного интерферона на различные инфекции в эксперименте [1]. Показано модулирующее действие интерферона на функциональную активность мононуклеарных фагоцитов [2–4].

Большое значение в патогенезе стафилококковой инфекции имеет синдром интоксикации, во многом обусловленный действием экзотоксинов. Наиболее значительные изменения происходят в микроциркуляторном русле и свёртывающей системе крови [5].

Целью данной работы было исследование действия нативного и модифицированных производных  $\alpha$ -2b-интерферона на стафилококковую инфекцию в эксперименте.

**Материал и методы.** Экспериментальный стафилококковый инфекционный процесс воспроизводили путём внутрибрюшинного заражения мышей линии SHK массой 16–18 г (190 особей) музейным штаммом *Staphylococcus aureus* 25923, LD<sub>50</sub> составила  $5 \times 10^6$  микробных клеток (м. к.). Развитие инфекционного процесса подтверждали при бактериологическом и морфологическом исследовании крови животных. Определяли бактериальный индекс (БИ) крови по методике, описанной В.Л. Троицким [6]. Исследования проводили в динамике инфекционного процесса (на 1, 3, 5, 7, 10 и

20-е сутки). Тромбоэластографию крови заражённых животных проводили по общепринятой методике на тромбоэластографе АГЛМ-1-01 [7]. Использовали промышленный препарат  $\alpha$ -2b-интерферона (ИФ) – «Лаферобион» (Биофарма, г. Киев), выпускаемый в ампулах в виде сухого лиофилизированного порошка. Содержимое ампулы растворяли в 1 мл 0,9% -ного водного раствора NaCl. Для синтеза сукцинизированных производных использовали ангидрид янтарной кислоты фирмы Sigma-Aldrich (USA). Сукцинизирование проводили в слабощелочной среде путём добавления к водному раствору нативных белков разных разведений ангидрида в диоксане [8, 9]. Использовали различную степень модификации пептидов в пересчёте на белок (100% -ное ацилирование соответствовало соотношению 1 г ангидрида на 1 г белка). Нами были получены семь производных, в молекулах которых были сукцинированы от одной до семи лизиновых аминогрупп.

Мышам подкожно вводили 1000 ЕД интерферона (нативного и модифицированного) за 24 ч до заражения. Контрольной группе животных вводили 0,9% -ный водный раствор NaCl. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по стандартной методике. Кровь в количестве 0,1 мл помещали на покровное стекло, выдерживали во влажной камере при 37 °С в течение 45 мин. После удаления сгустка стекло промывали в растворе Хенкса, наносили расчётную до-

зу суточной культуры *E. coli* и снова помещали во влажную камеру при 37 °C на 30 мин. Затем промытый и высушенный препарат окрашивали по Романовскому–Гимзе. В каждом препарате подсчитывали не менее 200 клеток. Определяли фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. Забор крови для определения фагоцитарной активности проводили через двое суток после внутрибрюшинного заражения мышей штаммом *Staphylococcus aureus*.

Статистический анализ результатов выполнен с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные свидетельствуют, что внутрибрюшинное заражение мышей вирулентной культурой *Staphylococcus aureus* сопровождалось длительной бактериемией и генерализацией инфекции (табл. 1). В течение всего срока наблюдения (20 дней) стафилококк высевали из крови животных в значительном количестве –  $10^2$ – $10^5$  колониеобразующих единиц (КОЕ).

кровообращения. Эти изменения сопровождались значительными сдвигами в системе свёртывания крови. На тромбоэластограмме (табл. 2) отмечались выраженные признаки гипокоагуляции, затрагивающие все фазы свёртывания крови (удлинение R, K, T и снижение амплитуды MA, показателей E, MA/c). С увеличением времени от момента заражения явления гипокоагуляции нарастали и достигали максимума к 3-м суткам.

В большей степени защитное действие на организм животных оказали производные ИФ 1 : 4, 1 : 5, 1 : 6. В группе животных, получивших производное ИФ 1 : 5, значительных изменений в системе свёртывания крови не наблюдалось.

Анализ полученных данных показал, что при введении производных ИФ 1 : 4, 1 : 5, 1 : 6 у мышей в 1,5 раза возрастал индекс фагоцитоза. Использование этих соединений также приводило к возрастанию в два раза числа фагоцитируемых частиц.

Применение производных ИФ 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 и нативного интерферона также вы-

Таблица 1. Бактерийный индекс крови заражённых *Staphylococcus aureus* мышей, получавших и не получавших интерферон

День после заражения	Нативный ИФ	Производное ИФ							0,9% -ный водный раствор NaCl
		1 : 1	1 : 2	1 : 3	1 : 4	1 : 5	1 : 6	1 : 7	
1-й	$10^{-5}$	$10^{-5}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
3-й	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
5-й	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
7-й	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
10-й	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	–	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
20-й	–	–	–	–	–	–	–	–	$10^{-2}$

На 20-е сутки в группе животных, получивших 0,9% -ный водный раствор NaCl, БИ составил  $10^{-2}$ . В группах животных, получивших интерферон (нативный и модифицированный), на 20-е сутки стафилококк не высевался. Наилучшие результаты получены при введении производных ИФ 1 : 4, 1 : 5, 1 : 6. Уже на 7-е сутки БИ составил  $10^{-2}$ . В этих группах элиминация стафилококка из организма животных происходила гораздо быстрее. К 5-м–7-м суткам число персистирующих клеток стафилококка в крови заметно снизилось в группе, получавшей производное ИФ 1 : 5, при этом БИ снизился до  $10^{-2}$ .

При морфологическом исследовании в течение первых суток от момента заражения на первый план выступали расстройства

зывало изменение процента фагоцитоза, но практически не влияло на фагоцитарное число (табл. 3).

Увеличение количества и усиление фагоцитарной активности нейтрофилов представляется значимым фактором в оценке влияния изучаемых производных ИФ в связи с новым пониманием антитоксической роли нейтрофилов.

Таким образом, предварительное однократное введение интерферона (1000 ЕД) приводило к ускоренной элиминации стафилококка из крови и органов заражённых мышей. Уже в первые сутки после заражения БИ крови заражённых *Staphylococcus aureus* мышей был на 1–2 порядка ниже, чем БИ крови контрольной группы живот-

Таблица 2. Показатели тромбоэластограммы крови мышей, заражённых *Staphylococcus aureus* после введения интерферона и без него

Показатель	Нативный ИФ	Производное ИФ 1 : 4	Производное ИФ 1 : 5	Производное ИФ 1 : 6	0,9% -ный водный раствор NaCl	Интактные животные
<i>1-е сутки</i>						
R	3,20±0,02	3,00±0,01	2,80±0,01	3,10±0,02	3,90±0,02	2,50±0,01
K	5,30±0,04	4,40±0,03	3,60±0,02	4,20±0,03	4,80±0,03	1,60±0,01
MA	25,0±0,2	29,0±0,2	31,0±0,2	27,0±0,2	29,00±0,07	38,0±0,2
E	30,5±0,2	32,3±0,2	42,3±0,3	37,4±0,2	37,2±0,2	61,3±0,3
T	15,50±0,15	15,8±0,1	16,1±0,1	15,60±0,15	15,80±0,15	17,00±0,15
MA/c	2,00±0,01	2,30±0,01	2,50±0,01	2,40±0,01	2,40±0,03	2,60±0,01
<i>3-и сутки</i>						
R	3,00±0,01	3,30±0,01	2,80±0,01	3,40±0,01	3,60±0,01	2,50±0,01
K	3,40±0,03	4,10±0,01	3,20±0,01	4,10±0,01	4,10±0,01	1,60±0,01
MA	31,0±0,2	32,0±0,2	32,0±0,2	28,0±0,2	34,00±0,15	38,0±0,2
E	55,3±0,3	39,0±0,3	47,5±0,3	40,3±0,3	52,0±0,3	61,3±0,3
T	17,6±0,1	17,00±0,15	16,90±0,15	16,0±0,1	32,3±0,1	17,00±0,15
MA/c	2,00±0,03	2,20±0,01	2,50±0,01	2,30±0,01	1,50±0,03	2,60±0,01
<i>6-е сутки</i>						
R	2,60±0,03	2,50±0,01	2,50±0,01	2,50±0,01	24,70±0,03	2,50±0,01
K	2,20±0,02	3,30±0,01	2,80±0,01	3,60±0,01	5,80±0,04	1,60±0,01
MA	38,0±0,3	33,0±0,2	35,0±0,2	32,0±0,2	27,0±0,1	38,0±0,2
E	63,0±0,4	45,3±0,3	53,0±0,3	43,3±0,3	36,2±0,3	61,3±0,3
T	17,6±0,1	17,2±0,1	17,00±0,15	16,20±0,15	22,1±0,3	17,00±0,15
MA/c	2,40±0,04	2,40±0,01	2,60±0,01	2,40±0,01	1,80±0,01	2,60±0,01

Примечание.  $p < 0,05$ .Таблица 3. Влияние интерферона (нативного и модифицированного) на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Группа	Фагоцитарное число	Фагоцитарный индекс, %
Нативный ИФ	4,0±0,3*	57,9±1,3*
Производное ИФ		
1 : 1	4,3±0,3*	61,4±2,5*
1 : 2	4,5±0,3*	63,4±2,5*
1 : 3	5,2±0,4 <sup>#</sup>	54,9±3,2 <sup>#</sup>
1 : 4	6,4±0,6 <sup>^</sup>	69,4±1,8 <sup>^</sup>
1 : 5	6,5±0,4 <sup>^</sup>	72,3±2,5 <sup>^</sup>
1 : 6	6,2±0,4 <sup>^</sup>	64,9±3,2 <sup>^</sup>
1 : 7	5,3±0,3 <sup>^</sup>	53,4±2,5 <sup>#</sup>
0,9% -ный водный раствор NaCl	3,7±0,2	48,3±2,7

Примечание. Степень достоверности относительно контроля (0,9% -ный водный раствор NaCl): \*  $p < 0,05$ ; <sup>#</sup>  $p < 0,01$ ; <sup>^</sup>  $p < 0,001$ .

ных (см. табл. 1). К 20-м суткам (последний срок наблюдения) стафилококк практически не высевался из крови, тогда как у контрольной группы животных БИ крови составлял  $10^{-2}$ .

Выявлены существенные различия в тромбоэластограммах подопытных и контрольных животных. То есть уже в ранние сроки от момента заражения экспериментально подтверждено антитоксическое действие интерферона, его способность усиливать фагоцитарную активность нейтрофилов и активировать иммунные реакции организма.

Если в первые сутки после заражения различия тромбоэластограммы подопытных и контрольных животных были незначительными, то в последующие сроки у мышей, которым предварительно вводили интерферон, эти показатели значительно улучшались (табл. 2) и к третьим суткам достигали уровня таковых у интактных животных.

Проведённые исследования дают основание считать, что патологические изменения в организме заражённых *Staphylococcus aureus* животных в значительной степени можно ослабить введением препаратов интерферона. Введение интерферона приводит к значительно более быстрому очищению крови заражённых животных от возбудителей, что обусловлено модулирующим действием интерферона на функциональ-

ную активность фагоцитов: повышением поглотительной и переваривающей активности, возрастанием детоксикационной способности, в том числе способности фагоцитировать избыток факторов свёртывания крови. Последнее, по-видимому, и определяет менее выраженные явления гиперкоагуляции у животных подопытной группы.

#### Выводы

1. Введение экзогенного интерферона способствует ускоренной элиминации стафилококка из крови заражённых живот-

ных, тормозит изменения, происходящие в системе свёртывания крови под воздействием экзотоксинов *Staphylococcus aureus*.

2. Получено экспериментальное подтверждение антитоксического действия интерферона, его способности усиливать фагоцитарную активность нейтрофилов и предотвращать нарушения гемостаза на модели стафилококковой инфекции.

3. Производные интерферона с четырьмя и пятью замещёнными янтарным ангидридом группами обладали максимальной протективной активностью.

#### Литература

1. Фильчаков И.В., Зарицкий А.М., Спивак Н.Я. и др. Эффективность интерферона в терапии новорожденных с гнойной инфекцией. Журн. микробиол. 1991; 4: 53–55.
2. Фильчаков И.В., Анисимова Ю.Н., Крамарев С.А., Спивак Н.Я. Изучение протективного действия интерферона I типа на сальмонеллезную инфекцию. ЖМЭИ 1991; 4: 50–53.
3. Спивак Н.Я., Фильчаков И.В., Братусь Е.В. и др. Модулирующее действие интерферона на функциональную активность мононуклеарных фагоцитов. Журн. микробиол. 1988; 5: 81–84.
4. Фильчаков И.В., Спивак Н.Я., Зуева В.С., Кузнецов В.П. Влияние иммуномодуляторов на функциональные свойства лимфоцитов. Журн. микробиол. 1987; 8: 76–79.
5. Elin R.J., Wolf M.S. Influence of toxins of *Staphylococcus aureus* on disorders of circulation of blood. Ann. Rev. Med. 1976; 27: 127–141.
6. Троицкий В.Л. Вопросы химиотерапии бактериальных инфекций. М., 1950: 205.
7. Cheek T.G., Samuels P. Pregnancy-Induced Hypertension. J. Interf. & Cytokine Res. 2005; 25, 5: 381–385.
8. Kuipers M.E., Van den Berg M., Swart P.J. et al. Mechanism of anti-HIV activity of succinylated human serum albumin. Biochem. Pharmacol. 1999; 57, 8: 889–898.
9. Martynov A.V., Smelyanskaya M.V. Antiproliferative properties of chemically modified  $\alpha$ -2 $\beta$ -recombinant interferon. J. Interf. & Cytokine Res. 2005; 25, 7: 414–417.

#### ВИВЧЕННЯ ПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ МОДИФІКОВАНОГО $\alpha$ -2 $\beta$ -ІНТЕРФЕРОНУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ СТАФІЛОКОКОВІЙ ІНФЕКЦІЇ

Н.В. Кашпур, А.В. Мартинов, О.А. Романова, А.Ю. Волянський, С.Д. Перемот, М.В. Смілянська, Н.І. Ігумнова, Т.А. Сидоренко, Т.П. Осолодченко

У роботі досліджено дію нативного і модифікованих бурштиновим ангідридом похідних  $\alpha$ -2 $\beta$ -інтерферону на стафілококову інфекцію в експерименті. Отримано експериментальне підтвердження антитоксичної дії інтерферону, його здатності підсилювати фагоцитарну активність нейтрофілів і запобігати порушенням гемостазу.

**Ключові слова:** модифіковані похідні, стафілококова інфекція, фагоцитоз.

#### STUDY OF PROTEKTIVED ACTION OF MODIFIED $\alpha$ -2 $\beta$ -INTERFERON AT EXPERIMENTAL STAFILOCOCCUS INFECTION

N.V. Kashpur, A.V. Martinov, E.A. Romanova, A.Yu. Volyanskiy, S.D. Peremot, M.V. Smelyanskaya, N.I. Igumnova, T.A. Sidorenko, T.P. Osolodchenko

In the work the action of natively was investigational and modified the succinic anhydride of derivatives of  $\alpha$ -2 $\beta$ -interferon on a staphylococcus infection in an experiment. Experimental confirmation of antitoxic action of interferon is got.

**Key words:** modified derivatives, staphylococcus infection, phagocytosis.

Поступила 09.10.09

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ КЕТАМИНА И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПИРАЦЕТАМА И СУЛЬФАТА МАГНИЯ НА КОРТИКАЛЬНЫЕ НЕЙРОНЫ У КРЫС

*Г.И. Губина-Вакулик, У.А. Фесенко*

*Харьковский национальный медицинский университет*

Кетамин, введенный крысам двухмесячного возраста в дозе 0,1 мг/г, существенно уменьшает количество нейронов участка коры теменной доли, размеры и оптическую плотность ядер кортикальных нейронов с повышением плоидности ядер сохранившихся нейронов. Пирацетам в дозе 2 мг/г нейтрализует токсическое действие кетамина на кортикальные нейроны, ещё более стимулируя полиплоидизацию ядер и обуславливая их гиперплазию. Сульфат магния в дозе 2,5 мг/г приводит к усилению апоптоза среди кортикальных нейронов с активацией полиплоидизации сохранившихся нейроцитов.

**Ключевые слова:** кетамин, пирацетам, сульфат магния, нейрон, кора, крысы.

Общие анестетики, применяемые для наркоза, могут оказывать негативное влияние на головной мозг, особенно в период его интенсивного развития. Апоптотическая нейродегенерация, вызванная ингаляционными и неингаляционными анестетиками, может быть в дальнейшем причиной нарушения когнитивных функций [1–3].

Кетамин – производное фенилциклдина, широко применяется в детской анестезиологии. Он является неконкурентным антагонистом NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторов, которые играют незаменимую роль в возбуждающей синаптической передаче, процессах обучаемости, памяти [4]. В литературе имеется много данных о нейротоксичности кетамина, которая проявляется в виде вакуолизации цитоплазмы, апоптотической нейродегенерации цереброкортикальных нейронов [5].

Методы профилактики нейротоксического действия анестетиков у детей до сих пор не разработаны. У взрослых пациентов с этой целью используют ноотропные препараты, в том числе пирацетам [6, 7]. Некоторые авторы описывают нейропротекторные свойства сульфата магния и объясняют его влиянием ионов магния на разные стадии апоптоза [8].

Целью данного исследования было изучение морфологических изменений в нейронах коры больших полушарий у крыс под действием кетамина и оценка возможных нейропротекторных свойств пирацетама и сульфата магния.

**Материал и методы.** Исследования проведены на 40 двухмесячных крысах линии Вистар обоих полов. Средняя масса тела животных составила (63,6±16,9) г. В экспериментах соблюдены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (1986).

Были сформированы две серии животных: основная (К) – 25 крыс, которым вводили кетамин, и сравнения (Ф) – 15 крыс, которым вводили эквивалентный объём изотонического раствора NaCl. В каждой серии было по три группы: основная (О) и с добавлением пирацетама (П) или сульфата магния (М). Таким образом, в эксперименте сравнивали состояние кортикальных нейронов в шести группах: КО (n=9), КП (n=8), КМ (n=8) и ФО (n=5), ФП (n=5), ФМ (n=5). Дозы препаратов: кетамин – 0,1 мг/г, пирацетам – 2 мг/г, сульфат магния – 2,5 мг/г. Препараты вводили интраперитонеально. Группы были сопоставимы по средней массе тела и распределению по полу. Через час после введения препаратов животных выводили из эксперимента путём декапитации. Головной мозг быстро извлекали из черепа и фиксировали в 10% -ном формалине. После фиксации мозг промывали, обрабатывали спиртом для обезвоживания, потом заливали в парафин. Готовили серии сагиттальных срезов толщиной 7–8 мкм, которые окрашивали галлоцианином по Эйнарсону (для выявления суммарных нуклеиновых кислот). Срезы мозга исследовали с помощью микроскопа Axiostar Plus (Zeiss, ФРГ)

с видеокамерой ProgRes C10<sup>plus</sup>. Фотографировали слой ганглионарных нейронов теменной коры. С помощью программного обеспечения «ВидеоТест» (г. Санкт-Петербург) определяли количество нейронов в 1000 мкм<sup>2</sup> препарата, площадь сечения ядер, оптическую плотность ядер при окраске галлоцианином, содержание нуклеиновых кислот и плоидность ядер [9].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента при уровне достоверности  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При введении животным изотонического раствора NaCl нейроны в изучаемом участке коры больших полушарий головного мозга расположены густо, имеют овально-пирамидальную форму. Ядра округлые, большинство средней степени эухромности, иногда высокой степени эухромности. Хроматин располагается мелкими глыбками. Цитоплазма небольшого объёма, с умеренным содержанием РНК. Нейропил густой, равномерно мелкоячеистый (рис. 1, а).

После введения кетамина наблюдается заметное уменьшение количества нейронов, разрежение их расположения. Ядра большинства нейроцитов гетерохромные, часть – эухромные, крупные. Увеличено количество микроглии. Нейропил менее плотный, с более крупными ячейками (рис. 1, б).

У животных серии сравнения, которым кроме изотонического раствора NaCl дополнительно вводили раствор пиретама, сохранялись нейроны коры, однако доминировали нейроны с гетерохромными ядрами. Нейропил был хорошо сохранён.

В основной серии введение пиретама дополнительно к кетамину (группа КП) визуально также оценивается как позитивное: расположение нейронов в коре плотнее, чем в группе КО. Количество клеток микроглии увеличено незначительно. Обращает внимание наличие близлежащих и соприкасающихся двух или трёх ядер, что можно принять за картину гиперплазии ядер нейронов коры у крыс «детского» возраста (рис. 2, а).

Дополнительное к изотоническому раствору NaCl введение раствора сульфата маг-

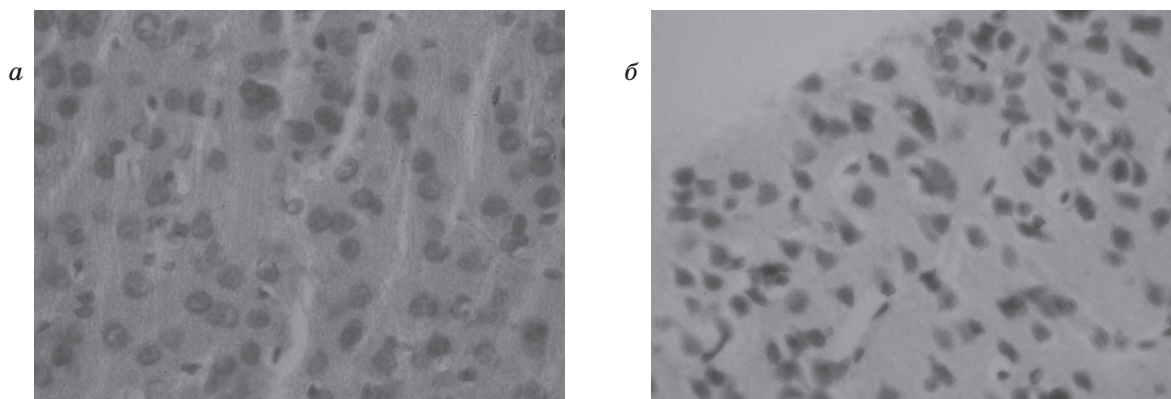


Рис. 1. Ганглионарный слой теменной коры двухмесячной крысы после введения изотонического раствора NaCl (а) и кетамина (б). Окраска галлоцианином по Эйнарсону,  $\times 400$

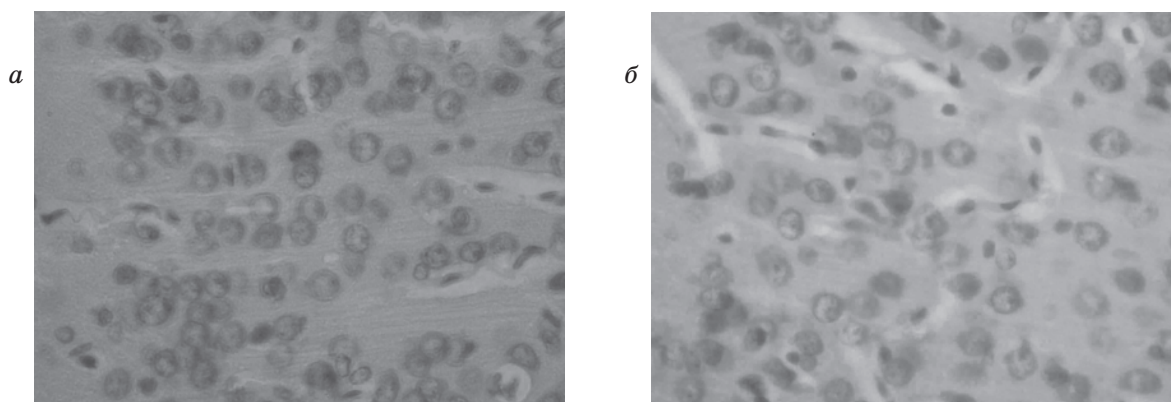


Рис. 2. Ганглионарный слой теменной коры двухмесячной крысы после введения кетамина с пиретамом (а) и кетамина с сульфатом магния (б). Окраска галлоцианином по Эйнарсону,  $\times 400$

ния обуславливает уменьшение плотности расположения нейронов, имеющих более крупные и более светлые ядра по сравнению с группой ФО. Такой же эффект наблюдали в группе КМ, причём ядра некоторых нейроцитов были очень крупных размеров (рис. 2, б).

Морфометрическое исследование позволило объяснить суть происходящих изменений.

Исходя из предполагаемого статистически одинакового содержания нейронов в данной зоне коры у здоровых животных, взятых в эксперимент, и отсутствия какого-либо влияния на состояние коры головного мозга использованного количества изотонического раствора NaCl, введённого интраперитонеально, можно считать, что дополнительное введение пиретама в серии сравнения не влияет на количество нейроцитов в участке коры площадью 1000 мкм<sup>2</sup>, а введение раствора сульфата магния приводит к статистически достоверному его уменьшению (рис. 3). То есть данная доза сульфата магния, очевидно, обуславливает быструю гибель части нейронов коры.

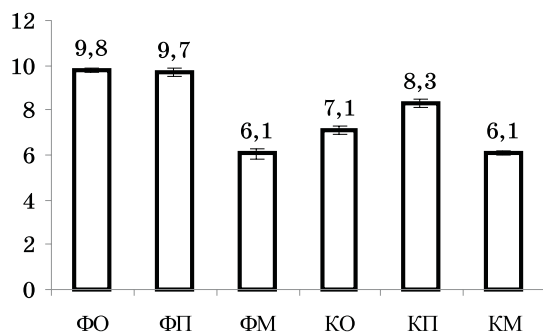


Рис. 3. Количество кортикальных нейронов в 1000 мкм<sup>2</sup>

Введение кетамина по сравнению с введением изотонического раствора NaCl также сочетается с уменьшением количества нейронов коры изучаемого участка, хотя и несколько менее выраженным. Если предполагать, что это уменьшение нейронов происходит в связи с апоптозом отдельных нейронов, то можно говорить, что дополнительное к кетамину введение пиретама несколько уменьшает этот эффект кетамина, однако не нивелирует его (сравнение с группой ФП – разница достоверна,  $p < 0,05$ ), а дополнительное к кетамину введение раствора сульфата магния приводит к максимально выраженному в данном эксперименте уменьшению количества нейронов в участке коры.

Оценивая площадь сечения ядер (площадь ядер нейронов), можно отметить, что

в серии сравнения раствор пиретама обуславливает некоторое уменьшение значения этого показателя, а раствор сульфата магния – существенное увеличение. Введение кетамина по сравнению с группой ФО достоверно уменьшает среднюю площадь ядер коры. Добавление к кетамину пиретама или раствора магния сульфата ещё более увеличивает её (рис. 4).

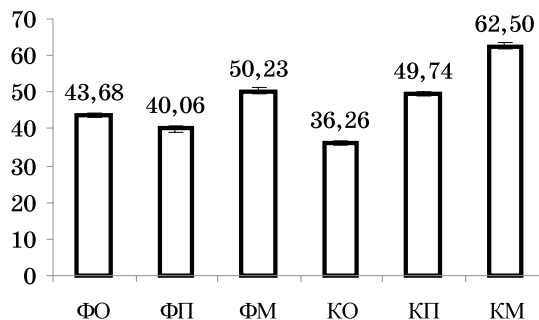


Рис. 4. Площадь сечения ядер нейронов коры, мкм<sup>2</sup>

Оптическая плотность ядер на препаратах, окрашенных галлоцианином, изменяется следующим образом (рис. 5): пиретам, введённый дополнительно к изотоническому раствору NaCl, увеличивает её, а введение раствора сульфата магния в этой же серии сопровождается уменьшением оптической плотности. В основной серии эксперимента во всех группах оптическая плотность ядер оказалась на одинаково низком уровне.

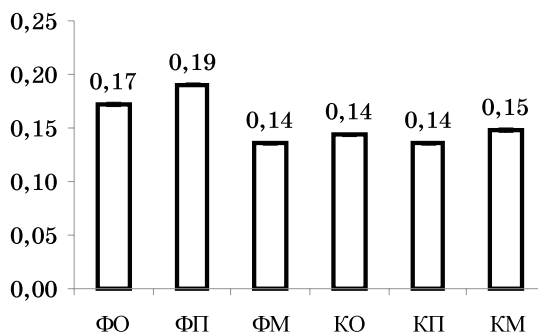


Рис. 5. Оптическая плотность ядер кортикальных нейронов, усл. ед.

Оценивая среднее суммарное содержание нуклеиновых кислот в ядрах нейронов коры (рис. 6), можно отметить недостоверные изменения в серии сравнения, значительное уменьшение – во всех группах основной серии. Совместное с кетаминном введение пиретама увеличивает значение этого показателя, хотя и не нормализует (то есть по сравнению с группами ФО и ФП). Совместное с кетаминном введение раствора

магния сульфата резко увеличивает суммарное содержание нуклеиновых кислот в ядрах.

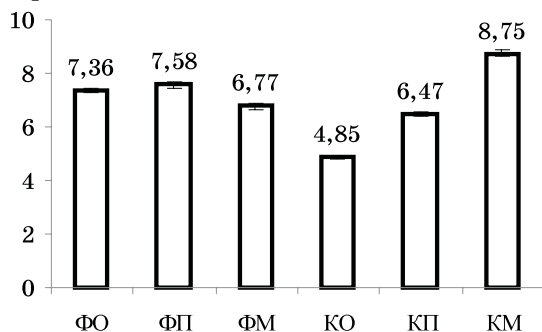


Рис. 6. Содержание нуклеиновых кислот в ядрах нейронов коры, усл. ед.

Принимая ядро микроглиальной клетки на «территории» среза головного мозга диплоидным, мы определили плоидность ядер нейронов и подсчитали среднюю плоидность и относительное количество ядер нейронов разной плоидности. Оказалось, что средняя плоидность ядер в группе ФО составляет около 4с. Вводимые животным лекарственные средства приводят к увеличению плоидности ядер, особенно сильно в группах основной серии (рис. 7).

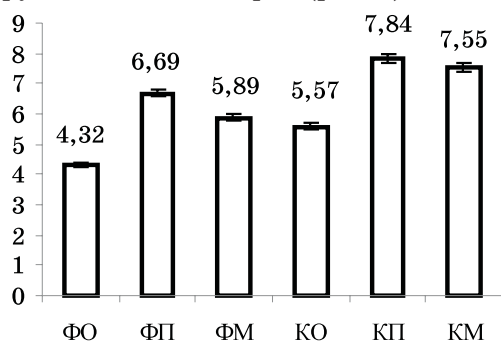


Рис. 7. Средняя плоидность ядер кортикальных нейронов

Очень интересна картина распределения нейронов с ядрами разной плоидности. В группе ФО, то есть при исходном состоянии нейронов коры, наблюдается доминирование нейронов с плоидностью ядер 4с–5с (в сумме 70 %). В группе ФП в большом количестве появляются нейроны с плоидностью ядер 7с и 8с, увеличивается количество нейронов с плоидностью ядер 6с (в сумме 70 % нейронов имеют ядра с плоидностью 6с–7с–8с). В этой группе отсутствуют нейроны с плоидностью 3с, что, скорее всего, обусловлено стимуляцией удвоения хромосом в них и переходом в разряд нейронов с более высокой плоидностью ядер. Свое-

образное, особенное распределение нейронов соответственно плоидности их ядер наблюдается в группе ФМ: увеличивается количество нейронов с ядрами плоидностью 6с и 7с на фоне уменьшения количества нейронов с плоидностью ядер 2с и 5с. Если предположить, что нейроны с 2с ядрами в ходе эксперимента повысили плоидность, то нейроны с ядрами 5с могли не просто повысить плоидность, но и погибнуть путём апоптоза, так как количество нейронов с очень высокой плоидностью ядер (8с и более) невелико (рис. 8).

Введение животным кетамина по сравнению с введением изотонического раствора NaCl сопровождается полиплоидизацией ядер нейронов с увеличением относительного количества нейронов с ядрами плоидностью 6с, появлением нейронов с плоидностью 7с–8с–9с. Совместное с кетамином введение пирacetама ещё более стимулирует полиплоидизацию ядер нейронов коры головного мозга, появляются нейроны с плоидностью до 20с. Совместное с кетамином введение раствора сульфата магния (группа КМ) по сравнению с группой КО сопровождается резким уменьшением количества нейронов с ядрами средней плоидности (6с–7с), увеличением количества нейронов с гиперплоидными ядрами (8с и более): общее количество нейронов с такими ядрами в этой группе – 59 %, тогда как в группе КО – 11 %, в группе КП – 37 %.

При обобщении полученных результатов складывается следующая картина. В серии сравнения пирacetам, введённый на фоне действия изотонического раствора NaCl, не изменяет количества нейронов в изучаемом участке коры, но приводит к повышению гетерохромности хроматина ядер, что, оказывается, обусловлено произошедшей полиплоидизацией. В этой же серии сульфат магния обуславливает достоверное уменьшение количества нейронов, очевидно, стимулируя апоптоз части нейронов; остальные нейроны имеют более крупное и более светлое (эухромное) ядро, чем в группе ФО; анализ плоидности ядер этих нейронов позволяет говорить о полиплоидизации сохранившихся нейронов, что имеет компенсаторное значение в связи с апоптозом части нейронов. При этом можно утверждать, что ядра нейронов коры при введении пирacetама функционально менее нагружены, чем при введении сульфата магния.

Введение животным кетамина по сравнению с введением изотонического раствора

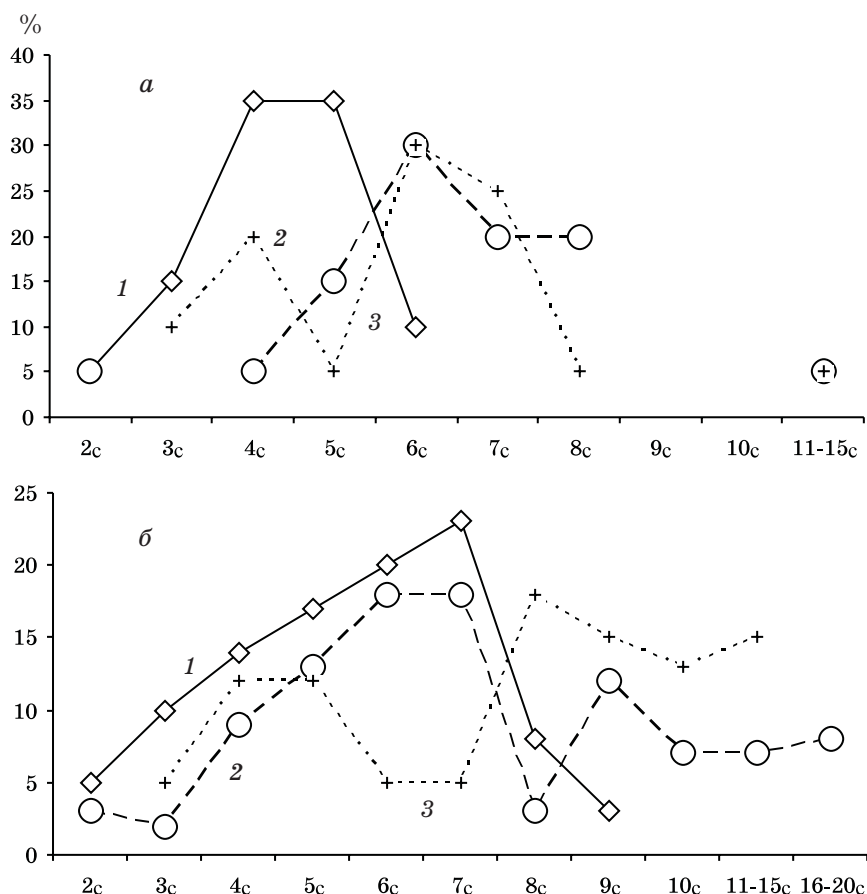


Рис. 8. Удельный вес нейронов с ядрами разной пloidности в коре крыс, которым вводили изотонический раствор NaCl (a) и кетамин (б): 1 – основная; 2 – добавление пирарцетама; 3 – сульфата магния

NaCl также стимулирует апоптоз части нейронов; в среднем ядра сохранившихся нейронов оказались гетерохромнее и мельче, но с явлением полипloidизации. То есть кетамин токсичен и потому угнетает функциональное состояние нейронов коры; полипloidизация, очевидно, имеет компенсаторный характер. Дополнительное к кетамину введение пирарцетама существенно увеличивает сохранность нейронов (количество нейронов на участке коры больше, чем в группе КО) на фоне гетерохромного состояния ядер, то есть низкой функциональной нагрузки на отдельный нейрон. При этом имеет место гиперплазия ядер отдельных нейронов и очень сильная полипloidизация ядер, но даже максимально полипloidные нейроны не погибают. Это служит доказательством протективного действия пирарцетама при использовании кетамина для медицинского наркоза. Побочным его действием, как и в серии сравнения, является стимуляция пloidизации хромосом.

Введение раствора сульфата магния животным, получившим кетаминный наркоз, усугубляет апоптотический процесс, обусловленный кетаминном. Оставшиеся ядра очень крупные, гетерохромные, полипloidные.

Можно предположить, что если полипloidизация в связи с введением кетамина является компенсаторной в ответ на гибель части нейронов, то полипloidизация при введении пирарцетама является не компенсаторной, а, вероятно, стимулированной, что и обуславливает защитное действие пирарцетама при введении кетамина, проявляющееся клинически ускорением сроков восстановления сознания, когнитивных функций [10]. Сульфат магния усугубляет апоптоз нейронов при введении кетамина, оставшиеся нейроны имеют ядра с компенсаторной, очень выраженной полипloidизацией.

Возможно, описываемый негативный результат в связи с введением сульфата магния одновременно с кетаминном нуждается

в объяснении на уровне молекулярной биохимии, поскольку другие авторы обнаружили нейропротекторные свойства сульфата магния в эксперименте при ишемии-реперфузии головного мозга. Этот защитный эффект они связывают с угнетением апоптоза нейронов под действием ионов магния через блокаду NMDA-рецепторов [8, 11–16]. Можно предположить, что доза сульфата магния в нашем эксперименте (2,5 мг/г) оказалась токсичной для крыс. Возможно, это расхождение всё-таки связано с наличием разных повреждающих факторов: ишемии-реперфузии в названных работах и токсического фактора в нашем эксперименте.

### Выводы

1. Кетамин, введённый в дозе 0,1 мг/г крысам двухмесячного возраста, существенно уменьшает количество нейронов в ко-

ре теменной доли головного мозга, что является результатом апоптоза; уменьшает размеры и оптическую плотность ядер сохранившихся кортикальных нейронов с повышением их плоидности.

2. Пирацетам в дозе 2 мг/г нейтрализует токсическое действие кетамина на кортикальные нейроны путём стимуляции полиплоидизации и гиперплазии ядер.

3. Сульфат магния в дозе 2,5 мг/г усугубляет апоптоз кортикальных нейронов, обусловленный введением кетамина. Развивающаяся при этом компенсаторная полиплоидизация нейронов коры достигает 20с.

В перспективе интересным будет иммуногистохимическое исследование изученного в данной работе материала с использованием антител к апоптозоспецифичным антигенам, а также изучение влияния других анестетиков на головной мозг.

### Литература

1. Scallet A.C., Schmued L.C., Slikker W.Jr. et al. Developmental neurotoxicity of ketamine: morphometric confirmation, exposure parameters, and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons. *Toxicol. sciences* 2004; 81, 2: 364–370.
2. Fredriksson A., Ponten E., Gordh T., Eriksson P. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-D-aspartate and gamma-aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. *Anesthesiology* 2007; 107, 3: 427–436.
3. Шнайдер Н.А. Новый взгляд на проблему послеоперационной когнитивной дисфункции. Острые и неотложные состояния в практике врача 2008; 5–6: 64–68.
4. Морган Д.Э., Михаил М.С. Клиническая анестезиология. Кн. 1-я. Пер. с англ. М.–СПб.: Бином–Невский диалект, 2001. 396 с.
5. Ikonomidou C., Bosch F., Miksa M. et al. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science* 1999; 283: 70–74.
6. Мелконян Д.Л., Мещеряков А.В. Возможность прогнозирования и профилактики психотических нарушений при общей анестезии кетамин. *Анестезиол. и реаниматол.* 1989; 3: 15–18.
7. Saba G., Marchi A., Passino N., Martino M.R. Piracetam treatment of pseudohallucinatory phenomena induced by ketamine. *Minerva Anestesiologica* 1983; 49, 4: 215–218.
8. Turkyilmaz C., Turkyilmaz Z., Atalay Y. et al. Magnesium pre-treatment reduces neuronal apoptosis in newborn rats in hypoxia-ischemia. *Brain Res.* 2002; 15: 133–137.
9. Автандилов Г.Г., Саниев К.Б. Плоидометрия в повышении качества патогистологической диагностики. *Архив патол.* 2002; 3, 64: 31–33.
10. Хижняк А.А., Фесенко У.А. Пам'ять у дітей після наркозу. Біль, знеболювання і інтенсивна терапія 2008; 2(д): 323–324.
11. Tang Y.N., Zhao F.L., Ye H.M. Expression of caspase-3 mRNA in the hippocampus of seven-day-old hypoxic-ischemic rats and the mechanism of neural protection with magnesium sulfate. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2003; 41, 3: 212–214.
12. Zhou H., Ma Y., Zhou Y. et al. Effects of magnesium sulfate on neuron apoptosis and expression of caspase-3, bax and bcl-2 after cerebral ischemia-reperfusion injury. *Chin. Med. J.* 2003; 116, 10: 1532–34.
13. Sameshima H., Ikenoue T. Effect of long-term, postasphyxial administration of magnesium sulfate on immunostaining of microtubule-associated protein-2 and activated caspase-3 in 7-day-old rat brain. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2002; 9, 4: 203–209.
14. Ravishankar S., Ashraf Q.M., Fritz K. et al. Expression of Bax and Bcl-2 proteins during hypoxia in cerebral cortical neuronal nuclei of newborn piglets: effect of administration of magnesium sulfate. *Brain Res.* 2001; 901, 1–2: 23–29.
15. Maulik D., Qayyum I., Powell S.R. et al. Post-hypoxic magnesium decreases nuclear oxidative damage in the fetal guinea pig brain. *Brain Res.* 2001; 26: 130–136.
16. Solaroglu I., Kaptanoglu E., Okutan O. et al. Magnesium sulfate treatment decreases caspase-3 activity after experimental spinal cord injury in rats. *Surg. Neur.* 2005; 64, 2: S17–S21.

**МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ДІЇ КЕТАМІНУ Й НЕЙРОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПІРАЦЕТАМУ І СУЛЬФАТУ МАГНІЮ НА КОРТИКАЛЬНІ НЕЙРОНИ У ЩУРІВ****Г.І. Губіна-Вакулік, У.А. Фесенко**

Кетамін, уведений двохмісячним щурам в дозі 0,1 мг/г, суттєво зменшує кількість нейронів ділянки тім'яної кори, розміри та оптичну щільність ядер кортикальних нейронів з підвищенням пліодності ядер нейронів, що залишилися живими. Пірацетам в дозі 2 мг/г нейтралізує токсичну дію кетаміну на кортикальні нейрони, ще більше стимулюючи поліплоїдизацію ядер і обумовлюючи їх гіперплазію. Сульфат магнію в дозі 2,5 мг/г призводить до посилення апоптозу серед кортикальних нейронів з активацією поліплоїдизації нейроцитів, що збереглися.

**Ключові слова:** кетамін, пірацетам, сульфат магнію, нейрон, кора, щури.

**THE MORPHOLOGIC EVALUATION OF INFLUENCE OF KETAMINE AND NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF PIRACETAM AND MAGNESIUM SULFATE ON CORTICAL NEURONS IN RATS****G.I. Gubina-Vaculik, Yu.A. Fesenko**

Ketamine in dose 0,1 mg/g in 2-month rats decreases significantly quantity of cortical neurons in parietal lobe, nucleic diameter, optic density with increasing nucleic ploidy. Piracetam in dose 2 mg/g neutralizes toxic effects of ketamine on cortical neurons by stimulating polyploidization of nuclei and their hyperplasia. Magnesium sulfate in dose 2,5 mg/g causes apoptotic neurodegeneration in cortical neurons with increasing ploidy in alive neurons.

**Key words:** ketamine, piracetam, magnesium sulfate, neuron, cortex, rats.

Поступила 27.11.09

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА TAZALOK ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ РАССТРОЙСТВАХ ЖЕНСКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ

**Н.А. Карпенко, Е.М. Коренева, Н.М. Бречка, О.В. Доленко,  
Э.В. Чистякова, Е.В. Сомова, Н.П. Смоленко,  
Н.Ю. Селюкова, Н.Ф. Величко**

**ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского  
АМН Украины», г. Харьков**

У самок крыс, подвергнутых хронической гипокинезии, исследовали эффективность комплексного растительного препарата Tazalok для предотвращения стресс-индуцированных репродуктивных расстройств. Установлено, что у стрессированных самок, которые получали Tazalok, уменьшались нарушения фазовой структуры эстрального цикла, нормализовалась масса яичников и тимуса, не развивалась гиперэстрогения, на фоне уменьшения концентрации тестостерона в крови увеличивалось содержание прогестерона.

**Ключевые слова:** стресс, самки крыс, Tazalok, эстральный цикл, яичники, стероидные гормоны.

Действие неблагоприятных факторов окружающей среды, искусственное прерывание беременности, другие стрессы часто становятся причиной снижения секреции эстрогенов, что из-за нарушений отрицательных обратных связей между яичниками, гипофизом и гипоталамусом приводит к возникновению ановуляторных циклов [1, 2]. Развивающийся дисбаланс между уровнями гонадотропных гормонов и прогестерона способствует стойкому повышению концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), что провоцирует развитие не только персистирующих фолликулов, но и фолликулярных кист, продуцирующих избыточное количество эстрогенов. Длительная гиперэстрогенизация способствует возникновению ряда дисгормональных заболеваний, сопровождающихся нарушениями менструальной функции, развитием гиперпластических изменений в яичниках, эндометрии, возникновением миом матки, мастопатий [3]. Поэтому патогенетическое лечение этих состояний должно быть направлено в первую очередь на коррекцию обмена половых гормонов.

Среди отечественных препаратов, предназначенных для нормализации менструальной функции, следует отметить фитохимическую композицию Tazalok™ компании PROFARMA (г. Киев), в состав которой

входят спиртовые экстракты шести растений: *Filipendula hexapetalis* Gilib. (radix), *Apium graveolens* L. (radix), *Petroselinum sativum* Hoffm. (radix), *Gallium verum* L. (herba), *Linaria vulgaris* Mill. (herba), *Calendula officinalis* L. (flores). Составные части препарата обеспечивают ему антипролиферативное, противовоспалительное, спазмолитическое и седативное действие. При терапии синдрома предменструального напряжения препарат положительно влияет на гормональный статус женщин [4]. Для исследования некоторых сторон механизма действия данного препарата представляется возможным использование модели дисгормональных репродуктивных расстройств у самок крыс, у которых вследствие хронической гипокинезии развиваются нарушения гормонального баланса, эстрального цикла и поликистоз яичников [5].

Сказанное определило цель работы – исследование в динамике влияния препарата Tazalok™ на гормональный статус самок крыс с репродуктивными расстройствами.

**Материал и методы.** Эксперимент выполнен на 32 самках крыс популяции Вистар в возрасте 10–11 месяцев массой (245,0±3,4) г и с регулярным 4–5-дневным эстральным циклом. Крысы находились в виварии при естественном освещении и получали соответствующий пищевой рацион и воду

без ограничений [6]. Репродуктивные расстройства моделировали путём помещения самок в течение 40 дней на 4 часа (в первой половине дня) в тесные, ограничивающие их движение пеналы [7]. Одна группа стрессированных самок получала per os с помощью зонда по 0,5 мл раствора Tazalok в воде (30 капель в 10 мл водного раствора) на крысу (группа «Тазалок»); другая – такую же дозу референтного негормонального препарата Мастодинон (группа «Мастодинон»), который имеет аналогичные показания к применению – нарушения менструального цикла, предменструальный синдром, мастопатия. Самки группы «Стресс» получали по 0,5 мл водного раствора спирта (30 капель 96%-ного спирта в 10 мл раствора). Дозу рассчитывали на основании Инструкции по применению вводимых препаратов с использованием коэффициента видовой чувствительности [8]. Группа самок, составившая группу «Интактный контроль», не подвергалась никаким воздействиям.

Структуру эстрального цикла изучали по цитологии ежедневных утренних вагинальных мазков [9]. На 19-й–21-й и 39-й–40-й дни опыта у самок в стадии диэструс между 14 и 15 часами дня из хвостовой вены брали кровь. С помощью наборов для иммуноферментного анализа определяли концентрацию эстрадиола ( $E_2$ , набор фирмы DRG, США), прогестерона ( $\Delta_4P$ ) и тестостерона (Т, наборы фирмы АлкорБио, Россия). В конце исследования животные были выведены из опыта цервикальной дислокацией. На аутопсии проводили осмотр органов, определяли массу гипофиза, щитовидной железы, тимуса, надпочечников, селезёнки, яичников, матки. Все эксперименты проведены в соответствии с «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001) [6].

Полученные данные статистически обработали. Вероятность различий между группами оценивали методом множественных сравнений по Шеффе [10].

**Результаты.** Как указывалось, средняя масса самок в начале эксперимента составляла ( $245,0 \pm 3,4$ ) г и в разных группах статистически достоверно не различалась, оставаясь постоянной до конца исследования.

Наблюдение за фазовой структурой эстрального цикла у самок группы «Стресс» показало, что хроническая гипокинезия (+стресс за счёт пероральных введений) привела к увеличению продолжительности межтечки (за счёт увеличения количества дней диэструса на 11 %,  $p < 0,05$ ), уменьшению количества дней эструса (на 14 %,  $p < 0,05$ ), хотя продолжительность течки (проэструс+эструс) не изменилась (табл. 1).

У самок, получавших Tazalok, хотя и наблюдалось достоверно значимое увеличение продолжительности межтечки по сравнению с интактными крысами (на 16,7 %,  $p < 0,05$ ), количество дней эструса и диэструса, а также продолжительность цикла статистически достоверно не отличались от показателей интактных самок. Это было лучшим результатом, чем в группе животных, получавших референтный препарат, у которых наблюдались случаи удлинения эструса, а за счёт увеличения продолжительности межтечкового периода увеличилась продолжительность эстрального цикла (на 69,5 %,  $p < 0,05$ ), то есть применение препарата Tazalok минимизировало действие стресса на продолжительность и фазовую структуру эстрального цикла самок крыс.

Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о существенном влиянии условий опыта на состояние эндокринной и иммунной систем животных. Так, состояние стресса у крыс группы «Стресс» под-

Таблица 1. Продолжительность и фазовая структура эстрального цикла у самок крыс

Группа животных	n	Продолжительность				Количество дней	
		цикла, сут	течки, сут	межтечки, сут	течка/межтечка	эструса	диэструса
Интактные	6	$4,95 \pm 0,23$	$2,01 \pm 0,05$	$2,46 \pm 0,11$	$0,87 \pm 0,05$	$17,7 \pm 0,8$	$22,3 \pm 0,8$
Стресс	8	$5,12 \pm 0,27$	$1,94 \pm 0,03$	$3,15 \pm 0,24^*$	$0,74 \pm 0,06$	$15,3 \pm 0,7^*$	$24,8 \pm 0,7^*$
Стресс+Tazalok	9	$4,79 \pm 0,13$	$1,99 \pm 0,04$	$2,87 \pm 0,10^{\#}$	$0,78 \pm 0,04$	$16,1 \pm 0,4^1$	$25,9 \pm 1,8$
Стресс+мастодинон	8	$6,31 \pm 0,54^{*\sim}$	$2,07 \pm 0,14$	$4,17 \pm 0,59^{*\wedge}$	$0,71 \pm 0,11$	$14,4 \pm 1,7$	$25,6 \pm 1,7$

Примечания: 1.  $^1 n=8$ .

2.  $p < 0,05$ : \* по сравнению с интактными крысами; # с крысами группы «Стресс»; ^ с крысами группы «Стресс+Tazalok»; ~  $p < 0,01$ , с крысами группы «Стресс».

тверждалось развитием гиперплазии надпочечников (увеличение массы на 64,9 %,  $p < 0,05$ ) и гипоплазией тимуса (уменьшение массы на 36,2 %,  $p < 0,05$ ). При этом масса органов репродуктивной системы (яичников и матки) у самок этой группы статистически достоверно увеличилась на 52,7 и 41,6 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Абсолютная масса гипофиза и щитовидной железы существенно не изменилась.

У стрессированных самок введение препарата Tazalok не предотвращало развития гиперплазии надпочечников и селезёнки (увеличение массы на 59,5 и 66,4 %,  $p < 0,05$ ). Однако увеличения яичников и уменьшения тимуса не происходило, так что масса этих органов не отличалась от таковой у intactных самок. Следует только отметить увеличение массы щитовидной железы (на 30,7 %,  $p < 0,05$ ) у самок этой группы по сравнению с таковой в контрольной группе и увеличение гипофиза, масса которого была меньше, чем у самок группы «Стресс», не происходило.

У самок группы «Мастодинон», как и группы «Стресс», увеличивалась масса надпочечников и селезёнки по сравнению с intactными самками. Как видно из данных табл. 2, эта группа по всем массовым показателям не отличалась от группы «Стресс». Обращает на себя внимание наблюдающееся в этой группе увеличение на 54,7 % массы щитовидной железы.

Таким образом, действие препарата Tazalok в большей степени проявлялось в отношении яичников, тимуса и гипофиза, что свидетельствовало об уменьшении последствий хронической гипокинезии.

Статистически достоверных различий в уровне половых гормонов у intactных самок на 20-й и 40-й день обнаружено не было, что позволило сравнивать результаты остальных групп с данными объединённого контроля (табл. 3).

Анализ показал, что у стрессированных самок через 20 дней увеличивается концентрация  $E_2$  (на 47,9 % по сравнению с intactными крысами;  $0,1 < p < 0,05$ ) и к 40-му дню гипокинезии нормализуется (-46,1 % по отношению к первому сроку забора крови,  $p < 0,05$ ). Уровень прогестерона у самок к 40-му дню повышался на 79,8 % ( $p < 0,05$ ), а тестостерона – существенно не менялся.

Введение Tazalok стрессированным самкам препятствовало развитию гиперэстрогемии на 20-й день – концентрация  $E_2$  в их крови была вдвое ниже, чем у контроль-

ных стрессированных самок (-54,7 %), а к концу опыта уровень эстрогена нормализовался. Уровень прогестерона у крыс этой группы на 20-й день повысился по сравнению как с intactными (на 181,9 %,  $p < 0,05$ ), так и со стрессированными животными (на 103,7 %,  $p < 0,05$ ), а на 40-й день он несколько снизился, но остался более высоким, чем у intactных крыс (на 118,5 %,  $p < 0,05$ ). Уровень тестостерона статистически достоверно уменьшался на 20-й день (на 41,2 % по сравнению с группой intactных крыс и на 35,3 % по сравнению с группой «Стресс»,  $p < 0,05$ ) и возвращался к норме к 40-му дню.

При использовании референтного препарата у крыс отмечено снижение уровня эстрогена на 20-й день (на 57,4 и 61,2 % по отношению к intactным и стрессированным самкам;  $p < 0,05$ ), и к концу опыта он оставался более низким, чем у intactных крыс. Уровни прогестерона и тестостерона у животных, получавших мастодинон, существенно не менялись.

**Обсуждение результатов.** В женской репродуктивной системе изменения готовности к копуляции и вынашиванию потомства определяются циклическими изменениями (на основании обратных положительных или отрицательных связей) уровней эстрогенов ( $E_2$ , эстрон), прогестиннов, гипофизарных гонадотропинов – лютеотропного гормона (ЛГ) и ФСГ, гипоталамического гонадолиберина.

Эстрогены у самок преимущественно синтезируются в клетках гранулёзного слоя овариальных фолликулов из предшественников:  $E_2$  – из тестостерона, а эстрон – из андростендиона. Источником андрогенов-предшественников служат интерстициальные клетки и внутренняя оболочка фолликулов яичников и кора надпочечников. Известно также, что стероиды надпочечникового происхождения вносят существенный вклад в пул и эстрогенов, и прогестиннов. Это позволяет объединить яичники и надпочечники в единую функциональную стероидсинтезирующую систему, в которой в условиях стресса происходят разнонаправленные изменения – активация надпочечников и угнетение яичников [11]. Эти изменения опосредуются возрастанием концентрации кортикотропин-рилизинг гормона, АКТГ, пролактина, каждый из которых может тормозить функцию половых желез. Кроме того, происходит ингибирование секреции гонадолиберина и, следовательно, гонадотропинов (преимущественно ФСГ), ко-

Таблица 2. Абсолютная масса некоторых

Группа животных	Масса,		
	яичников	матки	надпочечников
Интактные	70,5±7,8	478,0±18,5	39,7±4,9
Стресс	107,7±3,8*	676,7±43,3*	61,0±8,4*
Стресс+Tazalok	73,3±5,6	510,0±100,2	59,0±3,6*
Стресс+мастодинон	97,7±18,7	600,0±115,5	69,3±8,4*

Примечание.  $p < 0,05$ ; \* по сравнению с интактными; # по сравнению с крысами группы «Стресс»

Таблица 3. Концентрация гормонов в крови

Группа животных	Стат. показатель	Эстрадиол, пмоль/л	
		20-е сут	40-е сут
Объединённый контроль	n	13	
	M±m	186,3±23,5	
Стресс	n	6	7
	M±m	275,6±40,0	148,5±39,9~
Стресс+Tazalok	n	7	9
	M±m	125,9±27,0 <sup>#</sup>	134,2±21,7
Стресс+мастодинон	n	7	8
	M±m	106,8±15,6* <sup>#</sup>	113,7±21,7*

Примечание.  $p < 0,05$ ; \* по сравнению с интактными; # по сравнению с крысами группы «Стресс»;

торое в зависимости от длительности эффекта проявляется либо недостаточностью прогестерона [12], либо усилением образования  $E_2$  вследствие нарушения обратных связей в гипоталамико-гипоталамо-яичниковой системе. В основе этого лежит изменение связывания эстрогена с гипоталамическими рецепторами [13].

В случаях эпизодического ингибирования секреции гонадолиберина может нарушаться овуляция, развиваться недостаточность секреции прогестерона в лютеальную фазу менструального цикла. Нарушение баланса эстрогенов, прогестерона и гонадотропных гормонов лежит в основе образования кист яичников, в которых добавочный синтез  $E_2$  формирует порочный круг, способствуя нарушению менструального цикла и появлению гиперпластических процессов в молочной железе, матке и т. п.

Использованная в работе модель хронической гипокинезии обеспечила развитие классических признаков стресса у самок крыс – увеличение массы надпочечников и уменьшение массы тимуса. Нарушение фазовой структуры эстрального цикла (уменьшение продолжительности течки, дней эструса и увеличение дней диэструса) согла-

суется с данными [13] и подтверждает пригодность этой модели для воссоздания репродуктивных расстройств у самок. Развитием гиперэстрогемии, особенно выраженной через 20 дней, сдвигом соотношения эстрогены/андрогены в сторону эстрогенизации и возрастанием уровня прогестерона можно объяснить существенное увеличение у животных массы яичников и матки.

Анализ данных литературы свидетельствует, что содержание половых гормонов у самок животных отражает фазовые колебания стероидогенной активности системы яичники – надпочечники в зависимости от вида и условий действия стрессовых факторов. Так, острый стресс иммобилизацией вызывает снижение содержания  $E_2$  у самок кролей, а многократное воздействие такого эффекта не имеет [14], хроническая иммобилизация самок павианов сопровождается стойким снижением содержания половых гормонов и возрастанием концентрации кортикостероидов [15]. Также показано, что постоянное освещение или физическая нагрузка у самок крыс могут вызывать гиперэстрогемию [16]. При этом чувствительность аденогипофиза к эстрогенам не уменьшается [17], что указывает на перво-

органов у підопитних крыс ( $n=6$ )

(M±m) мг			
селезінки	тимуса	гипофиза	щитовидної залози
575,0±43,3	263,0±23,1	8,5±1,4	12,7±0,9
833,3±120,2	167,7±34,2*	11,7±0,7	14,7±2,4
956,7±109,7*	272,3±27,7 <sup>#</sup>	6,0±1,2 <sup>#</sup>	16,3±0,3*
1050,0±175,6*	252,3±90,9	9,3±0,9	19,3±1,2 <sup>^</sup>

и ^ группы «Стресс+tazalok».

самок крыс різних груп ( $M\pm t$ )

Прогестерон, нмоль/л		Тестостерон, нмоль/л	
20-е сут	40-е сут	20-е сут	40-е сут
7		11	
33,27±4,45		1,95±0,22	
5	5	7	7
46,03±6,54	59,81±8,56*	1,91±0,24	1,35±0,26
7	7	7	8
93,78±4,60* <sup>#</sup>	72,69±9,93* <sup>#</sup>	1,14±0,14* <sup>#</sup>	2,05±0,29 <sup>~</sup>
7	7	6	8
47,51±9,22 <sup>^</sup>	56,62±10,15	1,88±0,31	1,51±0,28

^ по сравнению с крысами группы «Стресс+Tazalok»; ~ между 20-ми и 40-ми сутками.

причину, а именно нарушение обратной связи между гипоталамусом и  $E_2$  [13].

Относительно циркулирующего в крови прогестерона известно, что существенный вклад в его пул вносят надпочечники [18, 19]. В нашем исследовании обнаруженная концентрация прогестерона отвечала его уровню в стадии позднего диэструса (фолликулиновая фаза) и через 20 дней стрессирования не изменилась. Однако статистически достоверное увеличение её в конце исследования, возможно, свидетельствует о переходе животных в фазу декомпенсации.

Результаты, полученные при исследовании стрессированных самок, получавших растительные препараты, сравнивали с данными самок группы «Стресс», что позволило исключить действие манипуляций и/или этилового спирта (основы препаратов).

Обнаружено, что введение препарата Tazalok практически нивелировало стресс-индуцированные нарушения фазовой структуры эстрального цикла, препятствовало увеличению массы яичников. Снижение концентрации  $E_2$  и Т, особенно на 20-й день опыта, и увеличение концентрации прогестерона позволяет предположить торможение добавочного синтеза стероидов на пути

$\Delta_4 P \rightarrow T \rightarrow E_2$ , что и обуславливает указанные эффекты препарата, в том числе и отсутствие гипоплазии тимуса.

Введение препарата Мастодион не предотвращало развития стресс-индуцированных нарушений эстрального цикла у самок, у которых масса тимуса и яичников соответствовала контрольным величинам. Не влияя на уровни прогестерона и тестостерона, данный препарат, так же как и Tazalok, препятствовал развитию гиперэстрогемии на 20-й день опыта.

Таким образом, выявлено существенное влияние изученного препарата на стероидогенную функцию у стрессированных крыс, что проявляется в предотвращении развития стресс-индуцированной гиперэстрогемии и снижении уровня андрогенизации. Возможно, именно ингибирование компонентами препарата синтеза  $E_2$  и тестостерона в условиях стресса приводит к повышению уровня их предшественника – прогестерона. Можно думать, что именно это свойство фитопрепарата обусловило его способность нормализовать фазовую структуру эстрального цикла и положительно влиять на органы репродуктивной и иммунной систем.

**Выводы**

1. В условиях гипокинезии через 20 дней у самок крыс развивается гиперэстрогенемия, которая в дальнейшем (на 40-й день опыта) сменяется гиперпрогестеронемией.

2. Показано, что одним из возможных механизмов терапевтического действия препарата Tazalok является его влияние на баланс половых гормонов. Его применение

у стрессированных самок крыс на первом этапе опыта (в течение первых 20 дней) препятствует развитию гиперэстрогенемии, способствует уменьшению уровня тестостерона и повышению уровня прогестерона. На 40-й день уровни эстрадиола и тестостерона нормализуются на фоне сохраняющегося повышенного содержания прогестерона.

**Литература**

1. Никитин А.И. Гормоноподобные ксенобиотики и репродуктивная система. Пробл. репродукции 2002; 8, 2: 5–15.
2. Никитин А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека. СПб.: ЭЛБИ, 2005. 215 с.
3. Башмакова Н.В., Бондарь В.Н., Дець В.В. Эффективность эстрогенмодулирующей фитотерапии в лечении артериальной гипертензии у женщин в постменопаузальном периоде. Здоров'я України 2005; 7: 13–15.
4. Татарчук Т.Ф., Калугина Л.В. Новые направления в лечении синдрома предменструального напряжения. Здоровье женщины 2009; 3: 47–49.
5. Игошева Н.Б. Половые различия в стресс-реактивности и стресс-устойчивости у белых крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1997. 26 с.
6. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Ендокринолог. 2003; 8, 1: 142–145.
7. Серов В.Н., Кожин А.А., Прилепская В.Н. Клинико-физиологические основы гинекологической эндокринологии. Ростов-на-Дону: Эверест, 1998: 129–239.
8. Рыболовлев Ю.Р. Прогнозирование действия ксенобиотиков на человека. Фармакол. и токсикол. 1991; 1: 110–114.
9. Бишовець Т.Ф. Експериментальне вивчення ембріотоксичної дії лікарських засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. За ред. О.В. Стефанова. К., 2001: 115–138.
10. Гланц С.А. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
11. Юсфина Э.З., Алтанец С.И., Голобородько А.В., Яковлева А.Н. О противоположной направленности изменений функций стероидсинтезирующих органов при стрессорных состояниях. Стресс и адаптация: Тез. Всесоюз. симпозиум. Кишинев, 1978: 153–154.
12. Berga S.L. Hypothalamic pituitary gonadal axis: Stress-induced gonadal compromise. J. Musculoskelet. Pain. 1998; 6, 3: 61–62.
13. Гладкова А.И. Онтогенетические и половые особенности реакции репродуктивной системы на стресс. Биол. вестник 1997; 1, 2: 32–42.
14. Кузьменко Е.С. Гормональная активность яичников у молодых и зрелых кроликов репродуктивного возраста в условиях стресса. Физиол. журн. 1981; 27, 1: 115–118.
15. Шехова А.Н., Кацян Г.В., Гончаров Н.П. Влияние длительной гипокинезии на функциональную активность половых и надпочечных желез самок павианов гамадрилов. Пробл. эндокринолог. 1985; 6: 70–73.
16. Кушнарєв И.О. Гормональный статус самок крыс, подвергнутых воздействию физических нагрузок разной интенсивности. Гормональная регуляция в норме и при патологии: Тез. докл. Харьков, 1989: 39–40.
17. Collu R., Tache Y., Ducharme J.R. Hormonal modifications induced by chronic stress in rats. J. Steroid Biochem. 1979; 11, 1: 989–1000.
18. Nequin L.G., Alvarez J., Schwartz N.B. Steroid control of gonadotropin release. J. Steroid Biochem. 1975; 6: 1007–12.
19. Nequin L.G., Alvarez J., Campbell C.S. Alterations in steroid and gonadotropin release resulting from surgical stress during the morning of proestrus in 5-day cyclic rats. Endocrinol. 1975; 3: 718–724.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КЛІНІЧНОГО ВЖИВАННЯ ПРЕПАРАТУ TAZALOK ПРИ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ РОЗЛАДАХ ЖІНОЧОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВ'Я**

**Н.О. Карпенко, Є.М. Коренева, Н.М. Бречка, О.В. Доленко, Е.В. Чистякова, О.В. Сомова, Н.Н. Смоленко, Н.Ю. Селюкова, Н.Ф. Величко**

У самок щурів, підданих хронічній гіпокінезії, визначали ефективність комплексного рослинного препарату Tazalok для попередження стрес-індукованих репродуктивних розладів. Встановлено, що у стресованих самок, які отримували Tazalok, зменшувались порушення фазової струк-

тури естрального циклу, нормалізувалась маса яєчників і тимуса, не розвивалася гіперестрогенемія, на тлі зменшення концентрації тестостерону в крові зростав вміст прогестерону.

**Ключові слова:** стрес, самки щурів, Tazalok, естральний цикл, яєчники, стероїдні гормони.

**EXPERIMENTAL GROUNDING FOR THE CLINICAL APPLICATION OF TAZALOK PREPARATION (DRUG) UNDER STRESS-INDUCED DISORDERS OF FEMALE REPRODUCTIVE HEALTH**

***N.A. Karpenko, Ye.M. Koreneva, N.M. Brechka, O.V. Dolenko, E.V. Chistyakova, Ye.V. Solomonova, N.P. Smolenko, N.Yu. Selyukova, N.F. Velichko***

On the female rat under condition of chronicle hypokinesis the efficiency of complex herbal composition Tazalok for prevent of stress-induced reproductive disease has been investigated. The reduction of estrous cycle disorder, the ovary and thymus mass normalization, the prophylaxis of hypo-oestrogenemia, the decrease of testosterone and the increase of progesterone concentration were established at stressed rats, which treated by Tazalok.

**Key words:** stress, rat female, Tazalok, oestrous cycle, ovary, steroid hormones.

*Поступила 29.09.09*

## КОРРЕКЦИЯ АНТАГОНИСТОМ РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

**Э.В. Супрун**

*Харьковский национальный фармацевтический университет*

На модели необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий у крыс в гомогенате мозга изучена динамика показателей углеводно-энергетического обмена и окисления в цикле Кребса (АТФ, АДФ, АМФ и пируват, лактат, малат) на фоне коррекции антагонистом рецепторов интерлейкина-1 – АРИЛ (7,5 мг/кг) в сравнении с тиотриазолином (50 мг/кг). Отмечена активация синтеза АТФ на фоне стабилизации уровня АМФ и нормализация реакций углеводного обмена. В периоде восстановления более эффективным был АРИЛ по сравнению с тиотриазолином.

**Ключевые слова:** ИЛ-1, АРИЛ-1, ишемия мозга, церебропротекция.

Снижение кровотока в ткани мозга приводит к её гипоксии и развитию ишемического инсульта и сопровождается формированием на фоне нарастающей ишемии митохондриальной дисфункции и энергетического дефицита, развитием глутамат-кальциевого каскада и дестабилизацией клеточных мембран. Степень выраженности функционально-метаболических изменений ткани головного мозга прогрессирующе уменьшается от центра повреждения к периферии. В зоне пенумбры более выражено и быстро поражаются элементы глии, менее резко и медленнее – нейроны головного мозга. Дальнейшее развитие повреждения связано с агрессивным воздействием активизированных ишемией клеток глии (в первую очередь микроглии) на жизнеспособные нейроны пенумбры путём вторичного повреждения мозга. Даже в областях, отдалённых от «ядра», обнаруживают вторичные изменения мозгового кровотока и энергетического метаболизма мозга, то есть «отдалённые функциональные депрессии» [1, 2].

В условиях острой мозговой ишемии в первую очередь повышается продукция провоспалительного интерлейкина-1 (ИЛ-1). Он способствует увеличению отёка мозговой ткани, размера инфарктной зоны, количества адгезированных к эндотелию и инфильтрующихся в область ишемии нейтрофилов. Это индуцирует и поддерживает воспалительную реакцию в очаге ишемии и ведёт к отсроченным нейрональным потерям,

изменениям микроциркуляции и гемато-энцефалического барьера. В ответ на экспрессию ИЛ-1 секретируется антагонист рецепторов ИЛ-1 (АРИЛ-1). Он ингибирует действие ИЛ-1 путём конкурентного связывания мембранного типа 1 ИЛ-1-рецепторов и предотвращает их взаимодействие с акцепторным белком, что приводит к отсутствию проведения сигнала от ИЛ-1 внутрь клетки. Это способствует выживаемости нейронов и уменьшает процессы постишемического рубцевания [3–5]. Поэтому оправданными являются разработка и исследование АРИЛ-1 в качестве церебропротектора при ишемическом инсульте.

АРИЛ-1 получен в Санкт-Петербургском НИИ особо чистых биопрепаратов путём генной трансформации бактерий *E. coli*. В предшествующих работах нами было установлено, что в условиях двусторонней перевязки общих сонных артерий применение АРИЛ повышает выживаемость животных и ингибирует процесс экссудации в ткани мозга [6].

Целью данного исследования является изучение динамики показателей энергообеспечения тканей головного мозга крыс с экспериментальным ишемическим инсультом на фоне фармакологической коррекции АРИЛ-1. Препаратом сравнения избран тиотриазолин – известный церебропротектор метаболического действия.

**Материал и методы.** Исследования проводили на белых нелинейных крысах массой 180–200 г, полученных из питомника

Института фармакологии и токсикологии АМН Украины (г. Киев). Животных содержали на стандартном рационе вивария при естественной смене дня и ночи. Все процедуры и оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с «Положением об использовании лабораторных животных в биомедицинских исследованиях». Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) вызывали необратимой двусторонней перевязкой общих сонных артерий под этаминал-натриевым наркозом (40 мг/кг). Посредством хирургического доступа выделяли общие сонные артерии, подводили под них шелковые лигатуры и перевязывали.

Животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой. Первая группа – ложнооперированные животные (интактный контроль – ИК), 2-я – крысы с ОНМК (контрольная – К), 3-я – крысы с ОНМК, которым вводили тиотриазолин в дозе 50 мг/кг, 4-я – крысы с ОНМК с введением АРИЛ в дозе 7,5 мг/кг (ЕД<sub>50</sub> по церебропротекторной активности). Препараты вводили сразу после выхода животных из наркоза (тиотриазолин – внутривенно, АРИЛ – внутримышечно), в дальнейшем один раз в сутки в течение острого периода ишемии (4 дня) и фазы восстановления (18 дней). По истечении указанных сроков животных выводили из эксперимента под этаминал-натриевым наркозом путём декапитации. Мозг быстро извлекали, отделяли височные доли, которые гомогенизировали в жидком азоте. В гомогенате для оценки процессов углеводно-энергетического обмена и окисления в цикле Кребса определяли адениловые нуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ), а также пирuvat, лактат и малат [7].

На основании полученных данных были вычислены следующие показатели энергетического обмена [8]:

энергетический заряд (ЭЗ) по формуле  

$$\text{ЭЗ} = \text{АТФ} + 1/2 \text{АДФ} / (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ});$$

энергетический потенциал (ЭП) по формуле

$$\text{ЭП} = \text{АТФ} / \text{АДФ};$$

индекс фосфорилирования (ИФ) по формуле

$$\text{ИФ} = \text{АТФ} / (\text{АДФ} + \text{АМФ});$$

термодинамический контроль дыхания по формуле

$$\text{ТКД} = \text{АДФ} / \text{АМФ}.$$

Полученные результаты проанализировали с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95 % ( $p \leq 0,05$ ), кото-

рые отмечали как  $p^{\text{ИК}}$  (относительно группы интактных животных),  $p^{\text{К}}$  (относительно контрольной группы),  $p^{\text{Т}}$  (относительно группы, принимавшей тиотриазолин).

**Результаты и их обсуждение.** Двусторонняя перевязка общих сонных артерий в контрольной группе привела к дисбалансу в ткани мозга пула макроэргических фосфатов (рис. 1). Отмечено значительное снижение уровня АТФ к четвертым суткам эксперимента – на 67 % ( $p^{\text{ИК}} < 0,001$ ) с тенденцией к его повышению в периоде восстановления, однако и к 18-м суткам он был в два раза ниже начального ( $p^{\text{ИК}} < 0,01$ ). Изменения уровня АДФ имели сходную динамику. Содержание АМФ в условиях экспериментальной ишемии было повышено на всём протяжении эксперимента: на 64 % в остром периоде ( $p^{\text{ИК}} < 0,001$ ) и на 52 % в восстановительном ( $p^{\text{ИК}} < 0,01$ ). Это связано со снижением в эти периоды содержания АТФ и, вероятно, отражает его усиленный распад при ишемическом повреждении.

% от интакта

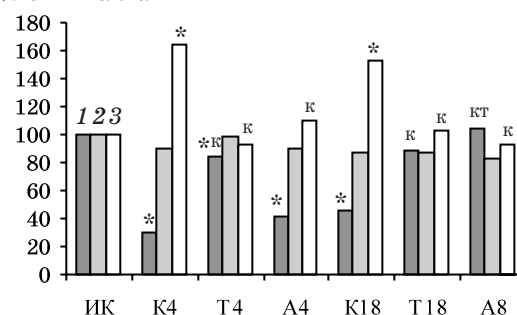


Рис. 1. Содержание адениловых нуклеотидов в мозге крыс с церебральной ишемией:

1 – АТФ; 2 – АДФ; 3 – АМФ. К4 и К18 – контрольная группа, Т4 и Т18 – группа тиотриазолина, А4 и А18 – группа АРИЛ на 4-е и 18-е сутки ( $p < 0,05$ ), \* интактных животных,  $^{\text{К}}$  относительно контроля и  $^{\text{Т}}$  относительно группы, принимавшей тиотриазолин

Введение тиотриазолина в остром периоде ишемии привело к повышению до 80 % уровня АТФ ( $p^{\text{ИК}} < 0,001$ ) и такому же снижению уровня АМФ ( $p^{\text{К}} < 0,001$ ). Применение АРИЛ на фоне двусторонней перевязки общих сонных артерий к 18-м суткам на фоне выраженного снижения содержания АМФ ( $p^{\text{К}} < 0,001$  относительно контрольной группы) привело к увеличению синтеза АТФ практически до уровня интактных животных ( $p^{\text{К}} < 0,001$ ), что превысило эффект тиотриазолина ( $p^{\text{Т}} < 0,05$ ).

В условиях острой мозговой гипоксии повышение продукции ИЛ-1 с последующим формированием цитокинового каскада

сопровождается экспрессией лейкоцитарного адгезивного комплекса CD18/CD11 и эндотелиальных межклеточных молекул адгезии ICAM-1, избыточной продукцией свободных радикалов, что дополнительно ухудшает состояние нейронов в области ишемического или геморрагического повреждения. В глиальных клетках ИЛ-1 экспрессирует iNOS, что ведёт к гиперпродукции NO и токсическим эффектам его избыточных количеств. Избыток NO нитрозилирует белки-ферменты дыхательной цепи митохондрий и цикла Кребса и ингибирует их. В результате происходит снижение синтеза АТФ и активация ядерного фермента поли(АДФ-рибозо)полимеразы (PARP), что ведёт к АДФ-рибозилированию, истощению запасов НАД и АТФ и гибели нейронов по пути апоптоза или некроза. В условиях дефицита кислорода образуется супероксид-анион, который реагирует с NO с образованием высокотоксичного пероксинитрит-радикала. По механизму цепной реакции свободнорадикальные субстраты ускоряют гибель нейронов путём подавления активности железосульфидных ферментов цикла Кребса и цепи переноса электронов [5, 9, 10].

Следствием дефицита кислорода является дисфункция митохондриального аппарата, выражающаяся в последовательных фазных изменениях активности митохондриальных ферментных комплексов, что приводит к подавлению аэробного синтеза энергии, энергозависимых функций и метаболизма клеток, то есть к биоэнергетической гипоксии. Дыхательная цепь в условиях гипоксии выполняет роль регулятора и модулятора потребления кислорода и доставки его из внеклеточного пространства к митохондриям, сигнализирует об изменении содержания кислорода и запускает каскад функционально-метаболических внутриклеточных реакций в ответ на недостаток кислорода [2, 9].

Для углублённого анализа состояния энергообеспечения были оценены дополнительные параметры энергообмена. Показатель энергетического заряда в контрольной группе был достоверно снижен: к четвёртым суткам на 20 % ( $p^{ИК} < 0,001$ ), в восстановительном периоде на 12 % ( $p^{ИК} < 0,001$ ), что отражает значительное снижение степени заполнения высокоэнергетическими связями системы АТФ–АДФ–АМФ (рис. 2). На фоне применения АРИЛ в периоде восстановления отмечается увеличение энергетического заряда до уровня такового в группе ин-

тактных животных ( $p^K < 0,001$ ), соразмерное с уровнем в группе, принимавшей тиотриазолин.

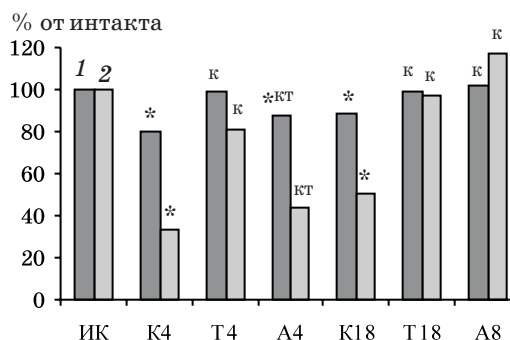


Рис. 2. Величина энергетического заряда (1) и энергетического потенциала (2) в мозге крыс с церебральной ишемией.

Обозначения те же, что и на рис. 1

Изучение энергетического потенциала показало резкое уменьшение его в контрольной группе в остром и восстановительном периодах экспериментальной ишемии ( $p^{ИК} < 0,001$ ), что свидетельствует о значительном снижении активности дыхательной цепи митохондрий (рис. 2). Митохондриальные нарушения, возникшие при гипоксии, коррелируют с фазными изменениями в содержании компонентов аденин-нуклеотидного пула – АТФ, АДФ, АМФ [11].

Применение исследуемых препаратов привело к коррекции митохондриальных нарушений и увеличению энергетического потенциала. Так, на фоне лечения АРИЛ в остром периоде отмечен значительный рост энергетического потенциала ( $p^{ИК} < 0,001$ ,  $p^K < 0,001$ ), который к 18-м суткам достиг уровня такового в группе интактных животных и даже превысил его ( $p^K < 0,001$ ).

Аналогичная динамика отмечена относительно индекса фосфорилирования (рис. 3). В контрольной группе он снижен в разные

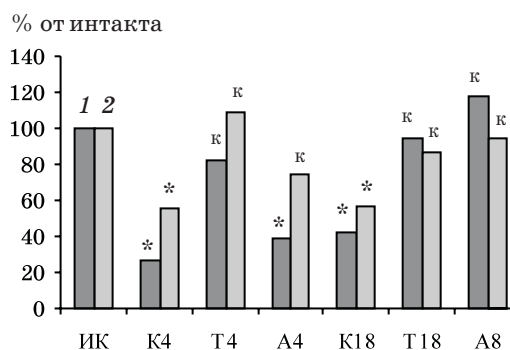


Рис. 3. Индекс фосфорилирования (1) и данные термодинамического контроля дыхания (2) в мозге крыс с церебральной ишемией.

Обозначения те же, что и на рис. 1

сроки наблюдения на 73–57 % ( $p^{\text{ИК}} < 0,01$ ), что свидетельствует о нарушении соотношения между АТФ и пулом АДФ–АМФ. В ткани мозга животных, получавших исследуемые препараты, индекс фосфорилирования значительно увеличился. В группе АРИЛ в восстановительном периоде он превысил уровни у интактных животных ( $p^{\text{К}} < 0,001$ ) и животных группы, принимавшей тиотриазолин, что указывает на коррекцию дисбаланса соотношения отдельных макроэргических фосфатов.

Показатель термодинамического контроля дыхания (рис. 3), отражающий зависимость активности дыхательной цепи митохондрий от интенсивности фосфорилирования в целом, в контрольной группе снижен почти в два раза в течение всего периода наблюдения ( $p^{\text{ИК}} < 0,01$ ). На фоне применения АРИЛ отмечено достоверное повышение этого показателя, к 18-м суткам почти достигающее уровня у интактных животных ( $p^{\text{КП}} < 0,05$ ) и превышающее уровень в группе крыс, принимавших тиотриазолин.

Изменения в пуле макроэргов предшествуют изменениям других функционально-метаболических показателей жизнедеятельности клетки. В период энергетических нарушений происходит увеличение проницаемости мембран и активация свободнорадикальных процессов, в том числе усиление процессов ПОЛ и ОМБ, а также гиперпродукция оксида азота и нарушения углеводного обмена [11, 12].

Так, изучение показателей углеводного обмена (рис. 4) в контрольной группе подтверждает развитие в условиях ишемического повреждения ткани мозга некомпенсированного ацидоза – повышение уровня лактата в 3,7 и 3,0 раза в разные периоды ишемии на фоне снижения содержания пи-

рувата и малата (практически в два раза). Применение АРИЛ на фоне двусторонней перевязки общих сонных артерий привело к увеличению синтеза АТФ вследствие аэробного и анаэробного путей окисления, о чём свидетельствует повышение уровня малата и пирувата к 18-м суткам до значения у интактных животных ( $p^{\text{К}} < 0,01$ ). Содержание лактата при этом снижается: на 30 % к четвёртым суткам ( $p^{\text{ИК}} < 0,001$ ) и почти в два раза к 18-м ( $p^{\text{ИК}} < 0,001$ ,  $p^{\text{К}} < 0,001$ ,  $p^{\text{Т}} < 0,001$ ).

В целом, двусторонняя перевязка общих сонных артерий в контрольной группе привела к типичным энергетическим нарушениям – дефициту в ткани мозга макроэргических фосфатов (снижение концентрации АТФ), дискоординации в цикле Кребса (снижение содержания пирувата и малата) и компенсаторной активации гликолиза (повышение уровня лактата) на фоне развития оксидативного стресса. При этом повышение уровня АТФ происходит на фоне снижения содержания АМФ, который является прооксидантом. Введение АРИЛ стабилизирует указанные показатели в фазе восстановления – снижает степень угнетения окислительных процессов в цикле Кребса, усиливает компенсаторную активацию анаэробного гликолиза, увеличивает внутриклеточный фонд АТФ, повышает уровень пирувата и малата на фоне снижения содержания лактата, то есть стабилизирует метаболизм клеток мозга. Эти эффекты сопоставимы с действием тиотриазолина или превышают его.

Отмеченная нормализация реакций в цикле Кребса может быть объяснена тем, что АРИЛ блокирует развёртывание цитокинического каскада как одного из звеньев формирования воспалительной реакции и энергетического дефицита. Он уменьшает патологическое воздействие на митохондрии АФК торможением окислительной модификации белковых фрагментов митохондрий и гиперполяризации их мембран. Коррекция АРИЛ нарушений окислительного метаболизма в условиях ишемического повреждения тканей головного мозга повышает активность собственных биоэнергетических процессов благодаря использованию дополнительных шунтов энергопродукции (малат-аспартатный, шунт Робертса) и интенсификации аэробных реакций окисления субстрата.

#### Вывод

На модели ишемического (путём двусторонней перевязки общих сонных артерий)

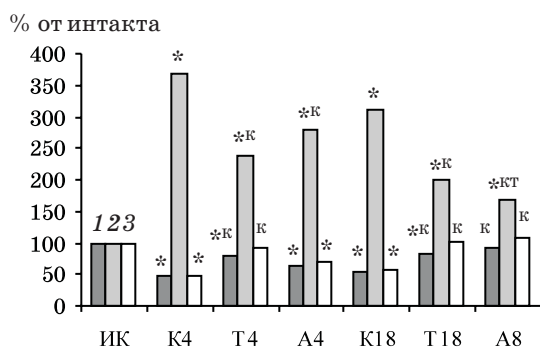


Рис. 4. Динамика окислительных процессов в мозге крыс с церебральной ишемией: 1 – пируват; 2 – лактат; 3 – малат. Обозначения те же, что и на рис. 1

инсульта доказано наличие у АРИЛ энерготропного действия – происходит активация синтеза АТФ на фоне стабилизации уровня АМФ и нормализация реакций в цикле

Кребса (повышение уровня малата и снижение уровня лактата), что свидетельствует о церебропротекторной активности изучаемого препарата.

### Литература

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328 с.
2. Скворцова В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и новые терапевтические стратегии. Инсульт 2003; 9: 20–22.
3. Blum A., Miller H. Role of cytokines in heart failure. Am. Heart. J. 1998; 135, 2: 181–186.
4. Ferrarese C., Mscarucci P., Zoia C. et al. Increase cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1999; 19, 9: 1004–09.
5. Симбирцев А.С. Цитокины: Классификация и биологические функции. Цитокины и воспаление 2004; 3, 2: 16–22.
6. Супрун Е.В., Штриголь С.Ю., Ищенко О.М. Церебро- та кардіопротекторна дія антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі церебральної ішемії у щурів. Клін. фармація 2009; 13, 1: 59–63.
7. Прохорова М.И. Современные методы в биохимии (углеводный и энергетический обмен). Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. 368 с.
8. Мецлер Д. Биохимия: В 3 т. Пер. с англ. М.: Мир, 1980. Т. 2. Химические реакции в живой клетке. 606 с.
9. Friedlander R.M., Gardliardini V., Rotello R.J., Yuan H. Functional role of interleukin-1  $\beta$  in IL-1  $\beta$  converting enzyme-mediated apoptosis. J. Exp. Med. 1996; 184: 717–724.
10. Buttini M., Sauter A., Boddeke H.W. Induction of interleukin-1 beta mRNA after focal cerebral ischemia in the rat. Mol. Brain Res. 1994; 23, 1–2: 126–134.
11. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л. и др. Влияние титотриазолина, глицина, магния и их комбинации на ответ генома и показатели антиоксидантной системы в коре головного мозга крыс с церебральной ишемией. Совр. пробл. токсикол. 2007; 3: 61–65.
12. Сазонтова Т.Г., Жукова А.Г., Анчишина Н.А. и др. Факторы транскрипции HIF-1 $\alpha$ , белки срочного ответа и резистентность мембранных структур в динамике после острой гипоксии. Вестник РАМН 2007; 2: 17–25.

### КОРЕКЦІЯ АНТАГОНІСТОМ РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 ПОКАЗНИКІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ІШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

**Е.В. Супрун**

На моделі незворотньої білатеральної оклюзії загальних сонних артерій у щурів у гомогенаті мозку вивчена динаміка показників вуглеводно-енергетичного обміну й окиснення в циклі Кребса (АТФ, АДФ, АМФ та піруват, лактат, малат) на фоні корекції антагоністом рецепторів інтерлейкіну-1 – АРІЛ (7,5 мг/кг) в порівнянні з тіотриазоліном (50 мг/кг). Відзначена активація синтезу АТФ на фоні стабілізації рівня АМФ і нормалізація реакцій вуглеводного обміну. В період відновлення більш ефективним був АРІЛ в порівнянні з тіотриазоліном.

**Ключові слова:** ІЛ-1, АРІЛ-1, ішемія мозку, церебропротекція.

### THE CORRECTION WITH INTERLEUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST OF ENERGY METABOLISM INDEX IN THE BRAIN OF RATS WITH EXPERIMENTAL ISCHEMIC STROKE

**E.V. Suprun**

On the model of irreversible bilateral occlusion of carotid artery in rats in homogenate of brain was studied the dynamic of induces of carbohydrate-energy metabolism and oxidation in the Krebs cycle (ATP, ADP, AMP and piruvat, lactate, malate) on the background correction of interleukin-1 receptor antagonist – IL-1Ra (7.5 mg/kg) compared to tiotriazolin (50 mg/kg). Marked activation of ATP synthesis on the background of the stabilization the level of AMP and the normalization of the carbohydrate metabolism reactions. In period of rehabilitation the more efficient was IL-1Ra.

**Key words:** IL-1, ARIL, cerebral ischemia, cerebroprotection.

Поступила 24.11.09

## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ВОДНО-ЕТАНОЛЬНИХ ЕКСТРАКТІВ РОСЛИН РОДИНИ *ERICACEAE* В ТЕСТІ ЕЙМСА

**Н.І. Фрич**

*Івано-Франківський національний медичний університет*

Вивчали антимутагенні властивості 90, 70 і 40% -вих водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових (*Ericaceae*) в бактеріальній тест-системі *Salmonella typhimurium*. Модельними мутагенами для штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100 служив біхромат калію. Встановлено, що найвищу антимутагенну дію на індукований біхроматом калію мутагенез у клітинах *S. typhimurium* TA98 проявили 90% -ві екстракти вересу звичайного, мучниці звичайної та 70% -вий екстракт багна болотного. В експерименті зі штамом TA100 найкращі результати дали 90% -вий екстракт чорниці (44 % пригнічення мутагенності), 90 і 40% -ві екстракти мучниці (39 та 38 %), 90 і 70% -ві екстракти рододендрону східнокарпатського (35 і 38 %), 90% -вий екстракт вересу (32 %) і 70% -вий екстракт брусниці (30 %).

**Ключові слова:** антимутагенна активність, рослини родини *Ericaceae*, тест-штами *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100.

Захист людей від дії мутагенних факторів є одним із найбільш важливих напрямків профілактики виникнення спадкових хвороб, уроджених аномалій і злоякісних новоутворень [1]. Більшість синтетичних препаратів, що надходять в організм людини, спричиняють нестабільність ДНК соматичних клітин, перебудову хромосом, змінюють число нуклеотидів [2], що зумовлює спектр їх побічних ефектів [3]. У зв'язку з цим проводяться інтенсивний пошук і виявлення речовин, що володіють антимутагенною й генопротекторною дією. Особлива увага при цьому приділяється речовинам рослинного походження, широке використання яких в медицині зумовлено їх меншою токсичністю, алергенністю та м'якістю дії [4].

Завдяки цінним для медицини сполукам (дубильним речовинам, тритерпенам, флавоноїдам і фенольним глікозидам), давно відомими є антисептичні, кровоспинні, в'язучі і протизапальні властивості рослин родини вересових (*Ericaceae*) [5]. Антимутагенні властивості цих рослин і їхніх субстанцій в літературі висвітлені недостатньо.

Метою даної роботи було встановлення дії водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових (*Ericaceae*) на частоту виникнення індукованих біхроматом калію мутацій у тест-штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100.

**Матеріал і методи.** Досліджували водно-етанольні екстракти надземної частини і

листя семи лікарських рослин: вересу звичайного *Calluna vulgaris* (L) Hull, брусниці *Vaccinium vitis-idaea* (L), багна болотного *Ledum palustre* (L), буяхів *Vaccinium uliginosum* (L), мучниці звичайної *Arctostaphylos uva-ursi* (L) Spreng, рододендрону східнокарпатського *Rhododendron kotschyi* Simonk та чорниці *Vaccinium myrtillus* (L). Рослини заготовляли на території Івано-Франківської області. Із висушеної і подрібненої рослинної сировини виготовляли екстракти на 90, 70 і 40% -вому водному етанолі (співвідношення сировина – екстрагент 1:10) у розведенні 1:128. Екстрагування виконували при кімнатній температурі згідно з вимогами Державної фармакопеї.

Екстракти досліджували у стандартному напівкількісному тесті Еймса згідно з методичними розробками [6]. Тест-об'єктом служили гістидинзалежні штами *Salmonella typhimurium* TA98 (реєструє мутації зсуву рамки зчитування) і TA100 (реєструє мутації заміни пар основ). Всі досліді супроводжувалися негативним (вода) і позитивним (біхромат калію як модельний мутаген) контролюми. Підготовку поживних середовищ і тест-штамів до проведення досліджень здійснювали згідно з методичними рекомендаціями [7].

Для вивчення впливу водно-етанольних екстрактів на спонтанний мутагенез у тест-штамів *S. typhimurium* до напіврідкого агару вносили 0,1 мл досліджуваного екстрак-

ту одночасно із 0,1 мл суспензії клітин тест-штаму. Напіврідкий агар виливали в чашку Петрі на шар мінімального агару без гістидину. Для вивчення впливу на індукований мутагенез разом із суспензією тест-штаму і досліджуваним екстрактом вносили 0,1 мл розчину біхромату калію ( $K_2Cr_2O_7$ ) в концентрації 2 мг/мл. Через 48 годин культивування при 37 °C підраховували кількість колоній His<sup>+</sup>-ревертантів. Наявність власної мутагенної активності екстрактів визначали за відмінностями між кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) ревертантів у досліді й негативному контролі. Антимутагенний ефект визначали за відсотком пригнічення числа ревертантів, індукованих

модельним мутагеном в присутності досліджуваного екстракту, у порівнянні з кількістю ревертантів, індукованих самим біхроматом. Статистичну достовірність результатів оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Першу серію дослідів виконано з метою з'ясування можливого мутагенного ефекту 90, 70 і 40% -вих екстрактів, а також екстрагенту (розчинів спирту). Результати досліджень показали, що етанол, як і всі без винятку досліджувані екстракти, не індукували генні мутації у тестованих штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100 (табл. 1). Про це свідчить кількість колоній, яка у дослідних варіантах була наближеною або дорівню-

Таблиця 1. Вплив різних водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових на спонтанний фон мутацій у тест-штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100

Екстракт	Вміст етанолу, %	Кількість ревертантів, шт.	
		TA98	TA100
Дистильована вода (спонтанний фон)	–	29,14±1,30	158,56±7,60
Етанол (контроль)	90	30,67±2,18	179,00±9,84
	70	31,33±1,76	184,00±13,01
	40	32,33±1,45	179,67±11,14
Багно болотне ( <i>Ledum palustre</i> )	90	30,67±0,88	162,67±9,35
	70	29,67±1,20	161,00±8,54
	40	31,50±0,50	152,33±8,76
Брусниця звичайна ( <i>Vaccinium vitis-idaea</i> )	90	29,33±1,20	159,00±6,11
	70	29,00±1,00	142,00±8,73
	40	28,50±0,50	166,00±6,11
Буяхи ( <i>Vaccinium uliginosum</i> )	90	27,67±2,19	143,33±5,49
	70	31,50±2,50	150,00±1,15
	40	27,33±1,45	173,50±6,50
Верес звичайний ( <i>Calluna vulgaris</i> )	90	26,67±1,86	156,67±0,88
	70	31,67±2,84	162,67±12,17
	40	25,67±0,88	164,00±10,00
Мучниця звичайна ( <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> Spreng)	90	28,00±2,08	142,33±6,94
	70	29,67±1,45	176,00±2,65
	40	31,00±2,00	170,67±8,41
Рододендрон східнокарпатський ( <i>Rhododendron kotschy</i> Simonk)	90	27,33±2,33	145,00±10,69
	70	30,67±3,71	147,33±7,31
	40	31,00±2,65	167,50±12,50
Чорниця ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	90	31,33±2,19	174,50±12,50
	70	30,33±2,03	158,67±8,21
	40	28,00±2,08	157,33±0,88

Примітка. \* Кількість мутацій в усіх випадках достовірно не відрізняється від спонтанного фону мутацій *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100 (p>0,05).

вала спонтанному фону мутування. Разом з тим відсутність достовірного зменшення спонтанного фону дає підстави говорити про нездатність досліджуваних екстрактів усувати колонії-ревертанти, які складають основу спонтанного фону [8].

Результати вивчення антимутагенної активності водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових наведені в табл. 2.

90%-вого екстракту багна болотного, усіх екстрактів рододендрону східнокарпатського та чорниці, достовірно послаблювали індукований біхроматом калію мутагенез у *S. typhimurium TA98*, але з різною ефективністю. Так, 70 і 40%-ві екстракти вересу звичайного зменшували кількість реверсій на 13 і 14 %, 70 і 40%-ві екстракти мучниці звичайної – на 12 і 16 %. Найвищий пози-

Таблиця 2. Вплив різних водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових на індукований біхроматом калію мутагенез у тест-штамів *S. typhimurium TA98* і *TA100*

Екстракт	Вміст етанолу, %	Кількість ревертантів, шт.	Пригнічення мутагенезу, %	Кількість ревертантів, шт.	Пригнічення мутагенезу, %
		TA98		TA100	
Позитивний контроль (біхромат калію)	—	3800,67±132,00	—	4895,23±173,40	—
Багно болотне	90	3605,00±146,00	—*	4956,00±165,71	—*
	70	2498,33±191,00	34	4794,00±131,00	—*
	40	3146,33±223,00	17	4930,33±56,56	—*
Брусниця звичайна	90	3205,67±164,00*	16	3638,67±66,97*	26
	70	3230,00±119,00*	15	3405,67±74,10*	30
	40	3205,33±195,00*	16	4759,00±39,27	—*
Буяхи	90	2917,33±330,00*	23	3513,00±258,85*	28
	70	2998,50±272,00*	21	4855,67±80,00	—*
	40	3241,33±108,00*	15	3624,67±271,80*	26
Верес звичайний	90	2450,67±227,00*	36	3323,00±174,00*	32
	70	3299,67±109,00*	13	3515,67±120,00*	28
	40	3260,00±78,00*	14	3808,00±101,11*	22
Мучниця звичайна	90	2392,30±283,00*	37	3009,33±156,50*	39
	70	3335,30±99,00*	12	3711,33±127,40*	24
	40	3188,33±58,00*	16	3049,33±233,40*	38
Рододендрон східнокарпатський	90	3669,33±69,00	—*	3179,50±117,50*	35
	70	3776,30±131,00	—*	3032,33±6,49*	38
	40	3480,33±223,00	—*	3939,00±278,50*	20
Чорниця	90	3375,00±217,00	—*	2741,00±75,22*	44
	70	3374,67±217,00	—*	4709,33±186,20	—*
	40	3374,67±217,00	—*	4832,00±43,15	—*

Примітки: 1. –\* При відсутності достовірної різниці порівняно з відповідним позитивним контролем ( $p>0,05$ ) відсоток пригнічення не вираховувався.

2. \* Кількість мутацій достовірно відрізняється ( $p<0,001-0,05$ ) від позитивного контролю (біхромат калію) у тест-штамів.

Біхромат калію має виражену мутагенну активність відносно *S. typhimurium TA98* і *TA100*, про що свідчить збільшення частоти появи His<sup>+</sup>-ревертантів відповідно у 130 і 31 рази відносно спонтанного фону. Встановлено, що екстракти рослин, за винятком

тивний результат одержано при використанні 90%-вих екстрактів мучниці звичайної та вересу звичайного. Останні знижували число мутацій, індукованих біхроматом калію, на 37 і 36 % відповідно ( $p<0,001-0,05$ ). Захисна дія усіх екстрактів брусниці

звичайної відносно  $K_2Cr_2O_7$  виявилася слабшою; 90 і 40% -ві екстракти цієї рослини пригнічували мутагенний ефект біхромату калію на 16 %, а 70% -вий – на 15 %. Подібний вплив мав 40% -вий екстракт багна болотного, проте 70% -вий екстракт цієї рослини пригнічував мутагенний ефект біхромату калію на 34 %. Важливо, що 90% -ві екстракти рослинних екстрактів дали достовірно вищі показники, ніж 70 і 40% -ві (табл. 2).

У тесті із *S. typhimurium* TA100 встановлено, що екстракти рослин родини вересових виявляють істотно сильніший генопротекторний ефект на індукований біхроматом калію мутагенез, в основі якого лежить заміна пар основ нуклеотидів. Тенденцію до помітного інгібування дії біхромату калію зберегли 90% -ві екстракти рослин. Так, досліджувані 90% -ві екстракти мучниці звичайної та вересу звичайного, як і в попередньому досліді зі штамом *S. typhimurium* TA98, виявили антимутагенну дію. Відсоток пригнічення під впливом двох останніх названих екстрактів рослин становив 39 і 32 % відповідно. На нашу думку, важливу роль в антимутагенному ефекті цих рослин можуть відігравати фенольні глікозиди й дубильні речовини, яким властива неспецифічна дія [9]. У присутності 90% -вого екстракту рододендрону східнокарпатського цей мутаген індукував на 35 % менше колоній-ревертантів.

Відносно високу антимутагенну дію показали також 70% -вий екстракт рододендрону східнокарпатського і 40% -вий екстракт мучниці звичайної. Внесення 90 і 70% -вих екстрактів брусниці звичайної до клітин

*S. typhimurium* TA100 зменшувало число His<sup>+</sup>-ревертантів відповідно на 26 і 30 %. Під впливом екстрактів багна болотного, 70% -вих екстрактів буяків не було встановлено достовірної різниці пригнічення мутагенезу. Найсильніший антимутагенний ефект проявив 90% -вий екстракт чорниці. Біологічно активні речовини цієї рослини зменшували дію  $K_2Cr_2O_7$  на 44 % (табл. 2). Водночас здатності пригнічувати індукований біхроматом калію мутагенез у *S. typhimurium* TA98 і TA100 70 і 40% -ними екстрактами чорниці не виявлено.

Результати досліджень свідчать, що виявлений пригнічуючий вплив досліджуваних водно-етанольних екстрактів рослин родини вересових на появу індукованих біхроматом калію His<sup>+</sup>-ревертантів *S. typhimurium* TA98 і TA100 може бути пояснений їхньою ДНК-протекторною здатністю.

### Висновки

1. Водно-етанольні екстракти рослин родини вересових володіють здатністю пригнічувати індукований біхроматом калію мутагенез *S. typhimurium* TA98 і TA100.

2. Генопротекторні властивості водно-етанольних екстрактів відносно хімічно індукованих мутацій, пов'язаних із заміною пар основ нуклеотидів, проявляються у більшій мірі, ніж відносно мутацій із зсувом рамки зчитування.

3. Найбільш вираженими антимутагенними властивостями володіють 90 і 40% -ві екстракти мучниці, 90% -вий екстракт вересу звичайного, багна болотного, чорниці, 90 та 70% -ві екстракти рододендрону східнокарпатського.

### Література

1. Барильяк И.Р., Исаева А.В. Антимутагенные и генопротекторные свойства препаратов растительного происхождения. Цитология и генетика 1994; 3: 3–17.
2. Cusido L., Pujol R. Cyclophosphamide-induced synaptonemal complex damage during meiotic prophase of female *Rattus norvegicus*. Mutat. Res. Fund and Mol. Mech. Mutagen. 1995; 329, 2: 131–141.
3. Талакин Ю.Н., Сергеева Л.А., Давыдова С.Ф., Сумская А.Н. Антиоксидантные и антимутагенные свойства растительных экстрактов *Ginkgo Biloba* и пищевой добавки «Биовит». Совр. пробл. токсикол. 2005; 4: 76–79.
4. Блинова О.А., Коростылев С.Л., Марченко С.Д. и др. Антимутагенные свойства сбора «Нормофит». Фармация 2009; 2: 36–38.
5. Фрич Н.І., Вівчарук Л.М., Мізюк Р.М. та ін. Вивчення протимікробної активності рослин родини вересових (Ericaceae Juss). Фарм. журн. 2005; 2: 97–104.
6. Фоништейн Л.М., Калинина Л.М., Полухина Г.Н. и др. Тест-система оценки мутагенной активности, загрязнителей среды на *Salmonella*: Метод. указания. М., 1977. 52 с.
7. Фоништейн Л.М., Абилов С.К., Облапенко Н.Г. и др. Методические рекомендации по применению теста Эймса *Salmonella*/микросомы. М., 1983. 25 с.
8. Дуган О.М., Барильяк І.А., Нестер Т.І. та ін. Дослідження антимутагенної активності екстрактів із біомаси культивованих клітин деяких лікарських рослин у тесті Еймса. Цитология и генетика 1999; 33, 6: 19–25.

9. Мусіяка В.К. Антимутагенні властивості препаратів природного походження. Физиол. и биохим. культ. растений 2001; 33, 3: 216–225.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНО-ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ERICACEAE В ТЕСТЕ ЭЙМСА

**Н.И. Фрич**

Изучали антимутагенные свойства 90, 70 и 40% -ных водно-этанольных экстрактов растений семейства вересковых (*Ericaceae*) в бактериальной тест-системе *Salmonella typhimurium*. Модельным мутагеном для штаммов *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100 служил бихромат калия. Выявлено, что наивысшее антимутагенное действие на индуцированный бихроматом калия мутагенез в клетках *S. typhimurium* TA98 проявили 90% -ные экстракты вереска обыкновенного, толокнянки обыкновенной и 70% -ный экстракт багульника болотного. В эксперименте со штаммом TA100 наилучшие результаты дали 90% -ный экстракт черники (44 % угнетение мутагенности), 90 и 40% -ные экстракты толокнянки (39 и 38 %), 90 и 70% -ные экстракты рододендрона восточно-карпатского (35 и 38 %), 90% -ный экстракт вереска (32 %) и 70% -ный экстракт брусники (30 %).

**Ключевые слова:** антимутагенная активность, растения семейства *Ericaceae*, тест-штаммы *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100.

#### ANTIMUTAGENIC ACTIVITY OF AQUEOUS-ETHANOLIC EXTRACTS OF ERICACEAE FAMILY PLANTS IN EYMS' TEST

**N.I. Frych**

Antimutagenic activity of 90, 70 and 40 % aqueous-ethanolic extracts of *Ericaceae* family plants in the bacterial test-system of *Salmonella typhimurium* have been studied. Bichromate potassium served as model mutagens for *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. It has been established that the greatest antimutagen activity on the mutagenesis, induced by bichromate potassium in cells of *S. typhimurium* TA98 the 90 % extracts of *Calluna vulgaris*, *Arctostaphylos uva-ursi* and *Ledum palustre* are proved. In the experiment with *S. typhimurium* TA100 most effective proved to be the extracts of *Vaccinium myrtillus* (up to 44 % mutagenicity inhibition), 90 and 40 % extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* ( up to 39 and 38 %), 90, 70 % extracts of *Rhododendron kotschyi* Simonk. ( up to 35 and 38 %), 90 % extracts of *Calluna vulgaris* (32 %) and 70 % extracts of *Vaccinium vitisidaea* (30 %).

**Key words:** antimutagenic activity, *Ericaceae* plants, test-cultures of *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

Поступила 08.12.09

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ СБОРА ПЕРВИЧНОЙ ИНФОРМАЦИИ В ГЕНЕТИКЕ ЧЕЛОВЕКА

*А.М. Федота, М.А. Бессонова*

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина*

Сравнительный анализ первичной информации, собранной различными методами в урбанизированной популяции, показал, что наилучшие результаты достигаются при использовании метода личного опроса пробандов в сочетании с изучением их медицинской документации.

**Ключевые слова:** генетический анализ, население, половозрастная структура, популяционная частота, распространённость, генетический мониторинг.

Подбор адекватных методов сбора первичной информации в генетике вообще и в генетике человека в частности является основой объективности полученных результатов, используемых для генетического прогнозирования в медицинской практике, для генетического мониторинга – слежения за состоянием популяционных генофондов, оценки и прогнозирования их динамики во времени и пространстве, определения пределов допустимых изменений. Анализ и слежение за динамикой параметров генетического груза, мутационного и сегрегационного, позволяет оценивать генетическую безопасность популяции и является важным мероприятием по предотвращению нежелательных генетических последствий [1].

Существуют разные способы сбора первичного материала для различных видов генетического анализа. В основе сбора первичной информации о пробанде лежит генеалогический метод. Сбор генеалогической информации может проводиться путём опроса пробанда, его родственников, анкетирования, изучения всей доступной информации о семье [2]. Эти данные используются для выявления наследственной отягощённости пробандов при генеалогическом анализе, проведении сегрегационного анализа для тестирования моногенной модели наследования признака [3–5]. При этом способ вычисления сегрегационных частот определяется типом регистрации семьи. Выделяют единичную [6] и усечённую регистрацию в зависимости от того, только ли по одному индивиду (пробанду) с наличием изучаемого признака была зарегистрирована семья или семья была независимо зарегистрирована столько раз, сколько в ней имелось больных. Это связано с тем, что

многие заболевания выявляются не путём скрининга всего населения, а в условиях обычной клинической практики. На основании информации, полученной генеалогическим методом, рассчитываются такие показатели, как степень антипации, коэффициенты корреляции и регрессии для родственников [7], проводится компонентное разложение общей фенотипической дисперсии, позволяющее оценивать влияние генетических и средовых факторов на межиндивидуальные различия в популяции [8–10].

Показатели распространённости имеют важное значение в организации здравоохранения и отражают частоту заболевания в данной популяции и в данное время, однако для генетического анализа и генетического прогнозирования более корректно использовать популяционные частоты, которые представляют собой накопленные заболеваемости. Популяционная частота – среднее арифметическое этих вероятностей. Эта величина, рассчитанная с учётом половозрастной структуры населения, является не смещённой, поэтому может служить характеристикой генофонда и использоваться для сопоставления с аналогичными показателями других популяций. Для расчётов накопленной заболеваемости необходима информация о количестве лиц, впервые заболевших в каждом году либо в выбранном временном интервале. Данные о популяционной частоте каждого заболевания или порока развития используют для оценки эмпирического риска при сложнаследуемой природе патологии. Известно, что популяционные частоты многих заболеваний человека в популяциях мира могут значительно варьировать [11–13]. Это вызывает необходимость проведения по возможности пол-

ного генетического анализа и, соответственно, сбора первичной информации для каждого анализируемого признака, в каждой конкретной популяции. Наконец, проведение генетического мониторинга популяции требует организации сбора материала таким образом, чтобы субпопуляционная структура была максимально полно охарактеризована по ряду заранее отобранных признаков. Анализ информации о демографической структуре популяции и оценок фенотипа и генотипа особей по возможно большему числу полиморфных генных локусов позволяет установить характер распределения моногенных и полигенных признаков, исследовать их сопряжённую изменчивость, оценить соотношение компонент генного разнообразия и понять состояние генетических процессов в популяции [14].

Однако в настоящее время получение первичной информации в украинских урбанизированных популяциях имеет ряд особенностей. Помимо индивидуальных особенностей пробандов, зачастую психологических, связанных с этносом, полом, возрастом, религиозной принадлежностью, разной информированностью и коммуникабельностью, разным отношением к болезни и обращаемостью за медицинской помощью, существуют и такие особенности заболеваний, как варьирующий возраст манифестации, клинический полиморфизм и генетическая гетерогенность, гено- и фенотипы, варибельная экспрессивность, неполная пенетрантность, особенно сложна наследуемых [13], имеются также и методологические особенности. Например, российскими генетиками [15] на протяжении многих лет рекомендовалась и применялась рассылка анкет с вопросами по почте пробандам и их родственникам и дополнительный опрос по телефону. Если в 70–80-х гг. XX в. к исследователям возвращалось примерно 67 % анкет, то в настоящее время в украинских популяциях ожидаемая эффективность подобного сбора информации вследствие материальных, технических и информационных трудностей гораздо ниже.

В связи с изложенным целью данной работы стало проведение сравнительного анализа эффективности известных методов сбора первичной информации для подбора наиболее адекватных методов или их комбинаций для генетических исследований в современных украинских популяциях.

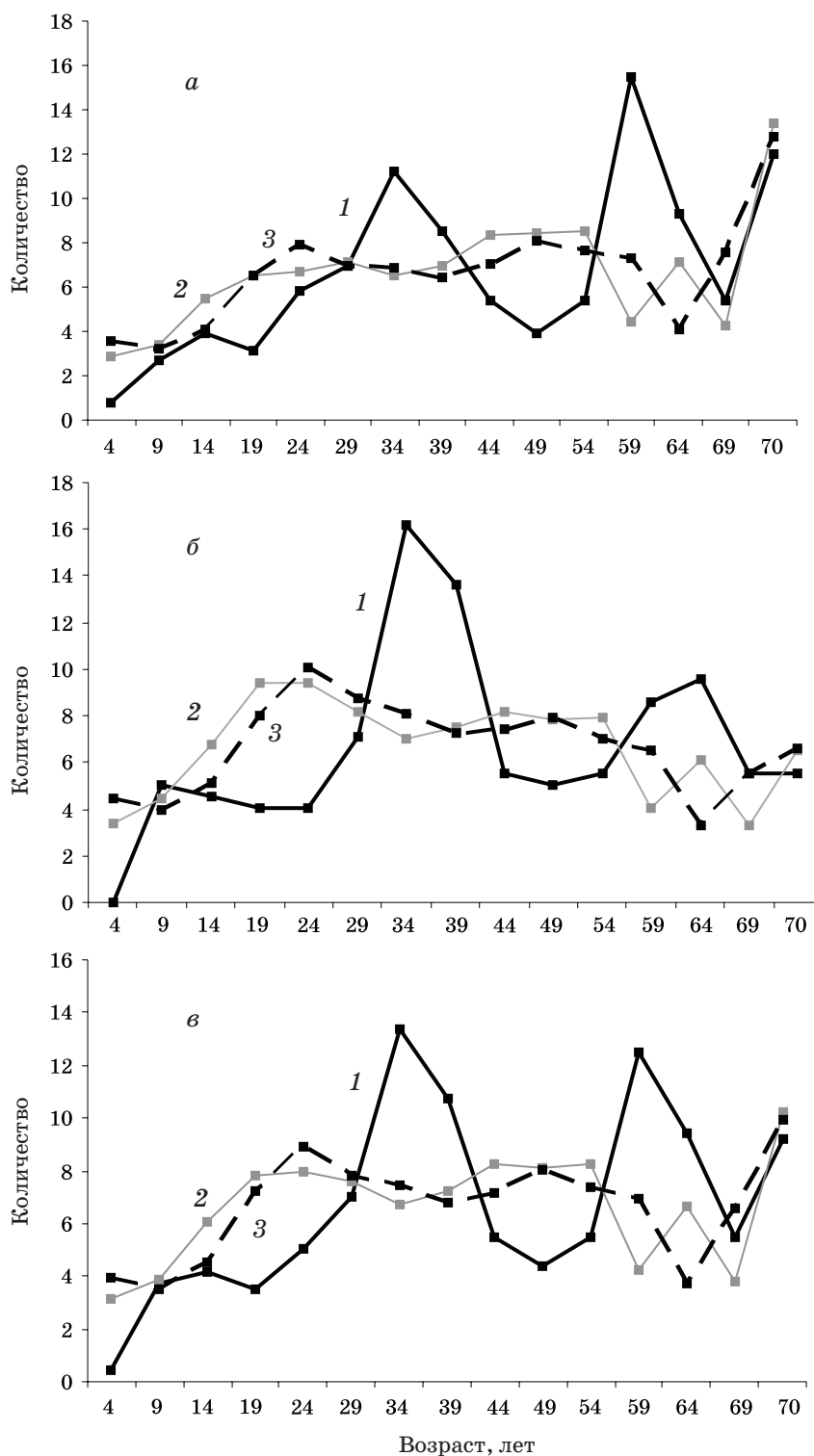
**Материал и методы.** Сбор первичной информации методом личного опроса про-

водился среди жильцов случайно выбранного 152-квартирного дома Ленинского района г. Харькова. При опросе получена информация о 45 детях в возрасте от 0 до 17 лет (22 мальчика и 23 девочки), о 411 жильцах в возрасте от 17 до 85 лет (176 мужчин и 235 женщин). Путём изучения первичной медицинской и архивной документации получена информация о половозрастном составе и заболеваниях 18305 жителей Ленинского района (Залютино) г. Харькова в возрасте от 0 до 85 лет, стоящих на учёте в педиатрическом и терапевтическом отделении городской клинической больницы № 1. Информация о больных генодерматозами была получена в Харьковском городском и районных (Дзержинском, Орджоникидзевском) кожно-венерологических диспансерах.

В Главном управлении статистики в Харьковской области получена информация о половозрастной структуре населения Ленинского, Дзержинского и Орджоникидзевского районов города. Использованы данные медицинской статистики о распространённости сложна наследуемых заболеваний среди населения области. Проверка на нормальность распределения первичных данных осуществлялась оценкой коэффициентов асимметрии и эксцесса. Сравнение рядов распределения, отражающих половозрастной состав населения, проведено с помощью критерия  $\chi^2$  на уровне значимости 0,05. Величины распространённости оценивали с помощью t-критерия Стьюдента методом угловой трансформации долей [16].

**Результаты и их обсуждение.** Распределение мужчин и женщин, всех жителей случайно выбранного типового многоквартирного дома, района и области по возрастным группам с интервалом в пять лет представлено на рисунке. Проверка всех кривых распределения на нормальность показала недостоверность коэффициентов асимметрии и эксцесса ( $As=0$ ,  $Ex=0$ ). Разница между количеством мужчин и женщин в каждой возрастной группе статистически не значима ( $p>0,05$ ), поэтому их можно описать общей кривой распределения.

Кривая возрастного распределения жильцов дома имеет недостоверные пики в интервалах 30–34 и 55–59 лет. Дом построен и заселен в начале 70-х гг. XX в., поэтому второй пик отражает основную часть жильцов – первых квартиросъемщиков, первый – их потомков, проживающих совместно с родителями, что подтверждается и результатами сбора информации о жильцах дома.



Возрастное распределение женщин (а), мужчин (б) и всех жильцов (в) дома (1), района (2) и области (3)

Попарное сравнение рядов распределения жителей дома, района и области (табл. 1) как для женщин, так и для мужчин, а также всех в целом методом  $\chi^2$  показало статистически значимую разницу между ними ( $p < 0,05$ ), табл. 2, то есть случайная выборка

жильцов дома не отражает характер возрастного состава жителей района и области, и половозрастная структура района не отражает таковую по области. Она лишь свидетельствует о генетической подразделённости харьковской популяции и предполагает

Таблиця 1. Структура жителів дома, району, області

Возраст, лет	Жители, чел.		
	дома	района	области
0–4	2	2853	110128
5–9	17	3564	98788
10–14	19	5562	127354
15–19	16	7182	202097
20–24	23	7295	248884
25–29	32	6945	217842
30–34	61	6187	207446
35–39	49	6633	190471
40–44	25	7579	201214
45–49	20	7458	224049
50–54	25	7570	205927
55–59	57	3884	194661
60–64	43	6123	104310
65–69	25	3492	184746
70–74	27	4052	278578
75–79	10	3002	–
80 и более	5	2356	–
Всего	456	91737	2796495

Таблиця 2. Статистические характеристики сравнения рядов распределения жителей дома, района и области

Ряд распределения	$\chi^2_{\text{факт.}}$	$\chi^2_{\text{ст.}}$
Дом–район	171,41	25,30
Дом–область	136,09	25,30
Район–область	513,08	25,30

Примечание.  $p < 0,05$ 

ту или иную степень генетических различий между районами как субпопуляциями.

Таким образом, для проведения генетического анализа при локализованном сборе первичной информации необходимо осторожно использовать обобщённые статистические данные.

Все кривые распределения являются нормальными и отражают определённую долю лиц в каждом возрастном интервале, что имеет значение при анализе заболеваний с варьирующим возрастом манифестации. Поэтому нами проведено сравнение показателей распространённости ряда сложногонаследуемых заболеваний среди жителей дома, района и области, полученных различными способами.

Распространённость сложногонаследуемых заболеваний рассчитывали как общее число больных по отношению к количеству

населения, и она выступала в роли показателя эффективности и информативности разных методов её получения. Распространённость заболеваний у жильцов дома рассчитана на основании генеалогической информации, полученной методом опроса жителей и подтверждённой или уточнённой в медицинской документации районных поликлиник, поскольку заполнение анкет-опросников самими пробандами нерезультативно.

Для жителей района показатели распространённости рассчитаны с учётом анализа и сопоставления информации о составе диспансерных групп врачей-специалистов и общих статистических сведений районной поликлиники. В качестве анализируемых показателей для жителей области использованы данные медицинской статистики.

При сравнении величин распространённости большинства сложногонаследуемых заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, выделительной, пищеварительной систем у жителей дома и района статистически значимой разницы не обнаружено (табл. 3).

Численность больных, выявленных среди жильцов дома, сопоставима с рассчитанной на основании данных поликлиники. Это говорит о том, что большинство больных обычно обращаются за помощью в ме-

Таблица 3. Распространённость сложнопосредуемых заболеваний у жителей дома и района

Заболевание	Жители				t	p
	дома		района			
	число	%	число	%		
Все формы гипертонической болезни	55	13,4	2217	14,2	0,42	>0,05
Ишемическая болезнь сердца	61	14,8	2346	15,1	0,10	>0,05
Атеросклероз	57	13,4	2302	14,9	0,82	>0,05
Стенокардия	43	10,5	1667	10,8	0,14	>0,05
Бронхиальная астма	3	0,73	89	0,57	0,68	>0,05
Хронический бронхит	8	1,94	229	1,48	0,90	>0,05
Железодефицитная анемия	3	0,73	141	0,91	0,12	>0,05
Язвенная болезнь желудка	3	0,73	303	1,96	1,84	>0,05
Хронический гастрит	19	4,60	582	3,76	1,00	>0,05
Жёлчнокаменная болезнь	5	1,21	87	0,56	1,58	>0,05
Хронический панкреатит	5	1,21	196	1,27	0,18	>0,05
Сахарный диабет	9	2,18	182	1,17	1,88	>0,05
Хронический холецистит	22	4,80	588	3,80	2,12	<0,05
Хронический гепатит	7	1,70	98	0,63	2,20	<0,05
Хронический пиелонефрит	1	0,24	68	0,44	0,26	>0,05

дицинские учреждения по месту жительства и известны врачам. Очевидно, эти данные отражают существующую в районе ситуацию.

Для хронического холецистита и хронического гепатита отмечена достоверная разница ( $p < 0,05$ ), что, видимо, объясняется тем, что среди жильцов дома при личном опросе были учтены все больные, а в районную поликлинику обращается лишь их часть, часть же либо обращается в специализированные лечебные учреждения, либо не обращается за медицинской помощью вообще.

При анализе распространённости сложнопосредуемых заболеваний у жителей дома и области статистически значимая разница обнаружена для всех форм гипертонической болезни – по области процент заболеваемости существенно выше, чем у жителей дома (табл. 4).

У жителей дома процент заболеваемости атеросклерозом, стенокардией, жёлчнокаменной болезнью, хроническим холециститом, хроническим гепатитом оказался достоверно более высоким, чем в целом в популяции.

Анализ распространённости сложнопосредуемых заболеваний у жителей района и области показал достоверно более высокую распространённость, чем по области, всех

форм гипертонической болезни, ишемической болезни, хронического бронхита, сахарного диабета, хронического пиелонефрита (табл. 5). Больные с этими патологиями, очевидно, наблюдаются в специализированных лечебных учреждениях, что и влияет на статистические данные по области. Немалая часть больных наблюдается в ведомственных лечебных учреждениях. По данным российских авторов, например, в московской популяции в среднем 26,4 % мужчин и 12,5 % женщин посещают только ведомственные медицинские учреждения по месту работы и не посещают районные поликлиники, что может привести к недо выявлению больных по месту жительства [15].

Статистически значимы более высокие в районе, чем в области в целом, показатели распространённости атеросклероза, стенокардии, железодефицитной анемии, хронического гастрита, жёлчнокаменной болезни, хронического панкреатита, хронического холецистита, хронического гепатита.

Подобная разница, как и разница по возрастной структуре районов области, может быть обусловлена не только различными методами сбора информации, но и другими причинами: разной обращаемостью больных в зависимости степени тяжести состоя-

Таблица 4. Распространённость сложного наследуемых патологий у жителей дома и области

Заболевание	Жители				t	p
	дома		области			
	число	%	число	%		
Все формы гипертонической болезни	55	13,4	541282	22,0	4,57	<0,05
Ишемическая болезнь сердца	61	14,8	431419	17,5	1,43	>0,05
Атеросклероз	57	13,4	14339	0,58	6,1	<0,05
Стенокардия	43	10,5	160732	6,53	3,0	<0,05
Бронхиальная астма	3	0,73	11980	0,49	0,92	>0,05
Хронический бронхит	8	1,94	63999	2,69	0,82	>0,05
Железодефицитная анемия	3	0,73	12098	0,49	0,92	>0,05
Язвенная болезнь желудка	3	0,73	45254	1,84	1,71	>0,05
Хронический гастрит	19	4,60	82461	3,35	1,51	>0,05
Жёлчнокаменная болезнь	5	1,21	9491	0,38	2,16	<0,05
Хронический панкреатит	5	1,21	14677	0,60	1,51	>0,05
Сахарный диабет	9	2,18	54395	2,21	0,12	>0,05
Хронический холецистит	22	4,80	64998	2,64	2,53	<0,05
Хронический гепатит	7	1,70	8406	0,34	3,10	<0,05
Хронический пиелонефрит	1	0,24	23003	0,93	1,48	>0,05

Таблица 5. Распространённость сложного наследуемых заболеваний у жителей района и области

Заболевание	Жители				р
	района		области		
	число	%	число	%	
Все формы гипертонической болезни	2217	14,2	541282	22,0	<0,05
Ишемическая болезнь сердца	2346	15,1	431419	17,5	<0,05
Атеросклероз	2302	14,9	14339	0,58	<0,05
Стенокардия	1667	10,8	160732	6,53	<0,05
Бронхиальная астма	89	0,57	11980	0,49	>0,05
Хронический бронхит	229	1,48	63999	2,69	<0,05
Железодефицитная анемия	141	0,91	12098	0,49	<0,05
Язвенная болезнь желудка	303	1,96	45254	1,84	>0,05
Хронический гастрит	582	3,76	82461	3,35	<0,05
Жёлчнокаменная болезнь	87	0,56	9491	0,38	<0,05
Хронический панкреатит	196	1,27	14677	0,60	<0,05
Сахарный диабет	182	1,17	54395	2,21	<0,05
Хронический холецистит	588	3,80	64998	2,64	<0,05
Хронический гепатит	98	0,63	8406	0,34	<0,05
Хронический пиелонефрит	68	0,44	23003	0,93	<0,05

ния, различными подходами при установлении диагноза, экологическими особенностями

природных и промышленных зон территории, генетической подразделённостью

популяций, особенностями структуры населения района как субпопуляций, связанными с её профессиональными и этническими характеристиками.

Известна, например, взаимосвязь коронарного атеросклероза, эссенциальной гипертензии, инфаркта миокарда с инсерционно-делеционным (I/D) полиморфизмом гена ангиотензинпревращающего фермента. Частота делеционного аллеля D варьирует в этнических группах и популяциях мира, встречаясь чаще у европейских народов – русских, французов, белого населения США, чем у монголоидов – китайцев. Промежуточные значения по частотам генотипа DD занимают популяции Волго-Уральского региона. Это обуславливает ценность данного полиморфизма как маркера не только клинического статуса, но и расово-диагностического признака, используемого при анализе межпопуляционных генетических различий [17].

Современную городскую популяцию, с одной стороны, можно рассматривать как закрытую систему, подразделённую на ряд субпопуляций, в качестве которых могут выступать различные этнические, религиозные, социальные группы населения [14]. Харьков, как и любой современный мегаполис, имеет сложный национальный состав, и этнический фактор достаточно часто может являться ведущим в формировании генетической подразделённости городской популяции [18]. Существующая положительная брачная ассортативность может в таком случае поддерживать уровень межпопуляционного разнообразия. С другой стороны, практически любую городскую популяцию можно представлять как генетически открытую систему, и в этом случае её внутрипопуляционное генетическое разнообразие во многом зависит от характера этнодемографических процессов, например, увеличивается за счёт потока мигрантов. Увели-

чение интенсивности миграции уменьшает инбридинг и уровень межпопуляционного разнообразия, что приводит к снижению генетического груза в популяции в целом [1]. Прогнозируемый при этом рост гетерозиготности влияет на изменчивость адаптивно-значимых морфофизиологических признаков, особенно полигенных, которые составляют большую часть мультифакториальной патологии, и, соответственно, на приспособленность индивидов.

Примером таких сложнаследуемых заболеваний являются и генодерматозы, учёт и лечение которых происходит в специализированных лечебных учреждениях. Поскольку среди больных псориазом снижена частота онкопатологий [19], «псориатический» генотип, очевидно, может повышать адаптивность его носителей в условиях экологических кризисов промышленных городов, тогда как витилиго, напротив, является фактором риска развития рака кожи, особенно в условиях повышенной солнечной инсоляции. Кроме того, учитывая клинические особенности данных патологий, следует ожидать высокой обращаемости больных к специалистам.

Сравнительный анализ распространённости этих генодерматозов у жителей дома и района (табл. 6) показал статистически значимую разницу относительно витилиго.

Реальные показатели для этого генодерматоза на порядок выше статистических данных, так как больные чаще всего не обращаются за медицинской помощью. Полученные величины распространённости псориаза среди жильцов дома сопоставимы с величинами популяционных частот или накопленных заболеваемости в харьковской популяции – 0,855 %, и данными литературы о распространённости дерматоза в среднеевропейских популяциях – 0,6–1,4 % [20].

Распространённость псориаза и витилиго (табл. 7) среди жителей других районов

Таблица 6. Распространённость мультифакториальных генодерматозов псориаза и витилиго у жителей дома и района

Больные	Жители, больные										
	псориазом				t*	витилиго				t	p
	дом		район			дом		район			
	число	%	число	%		число	%	число	%		
Жен	2	0,85	20	0,22	1,75	3	1,28	5	0,05	2,85	<0,05
Муж	1	0,57	13	0,20	1,22	0	0,00	3	0,05	0,75	>0,05
Всего	3	0,66	33	0,21	1,70	3	0,66	8	0,05	2,64	<0,05

Примечание.  $p > 0,05$  во всех случаях.

Таблица 7. Распространённость псориаза и витилиго у жителей районов г. Харькова

Больные	Ленинский р-н		t*	Дзержинский р-н		t	р	Орджоникидзевский р-н		t*
	число	%		число	%			число	%	
Псориаз										
Жен	20	0,22	2,82	88	0,1	0,0	>0,05	50	0,10	2,72
Муж	13	0,22	2,22	75	0,1	2,75	<0,05	65	0,16	3,19
Всего	33	0,21	3,45	163	0,1	1,45	>0,05	105	0,12	2,64
Витилиго										
Жен	5	0,05	2,64	4	0,004	3,58	<0,05	1	0,002	2,54
Муж	3	0,05	2,22	4	0,005	0,0	>0,05	6	0,010	2,15
Всего	8	0,05	3,45	8	0,005	0,0	>0,05	7	0,008	3,33

Примечание. \*  $p < 0,05$  во всех случаях

города, рассчитанная на основании данных об обращаемости больных в специализированные медицинские учреждения, достоверно ниже этих же показателей для Ленинского района и жильцов дома, тогда как другие районы между собой по этим показателям не различаются.

Таким образом, сбор первичной информации должен быть организован таким образом, чтобы субпопуляционная структура была достаточно полно охарактеризована по многим признакам, должны быть

детально описаны особенности её распределения во времени и пространстве. Кроме того, популяция должна быть изучена не только в генетико-демографическом, но и в историко-географическом плане. Сравнительный анализ первичной информации, собранной различными методами в урбанизированной популяции, показал, что наилучшие результаты достигаются при использовании метода личного опроса пробандов в сочетании с изучением их медицинской документации.

### Литература

1. Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: Мониторинг и принципы сохранения. Генетика 1995; 31, 10: 1333–57.
2. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. Т. 1. М.: Мир, 1989. 312 с.
3. Лильин Е.Т., Трубников В.Н., Ванюков М.М. Введение в современную фармакогенетику. М.: Медицина, 1985. 160 с.
4. James J.W. Frequency in relatives for an all – or none trait. Ann. Hum. Genet. 1971; 35: 47.
5. Morton N.E. Segregation analysis. Computer applications in genetics. Honolulu, 1969: 129–139.
6. Kawalli-Sforza C.F., Bodmer W.F. The genetics of human populations. San Francisco: Freeman and Comp., 1971. 965 p.
7. Федота А.М., Безродная А.И., Винокурова Е.И., Атраментова Л.А. Эффект антиципации при наследовании псориаза. Эксперим. і клін. медицина 2009; 3: 43–46.
8. Mendell N.R., Elston R.C. Multifactorial qualitative traits: genetic analysis of prediction of recurrence risks. Biometrics 1974; 30: 41.
9. Reich T., James J.W., Morris C.A. The use of multiple thresholds in determining the mode of transmission of semicontinuous traits. Ann. Hum. Genet. 1972; 36: 163.
10. Falconer D. The inheritance of liability to certain diseases, estimated from the incidence among relatives. Ann. Hum. Genet. 1965; 29: 51–76.
11. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г. и др. Анализ ассоциаций генетического полиморфизма ферментов, метаболизирующих этанол, с риском формирования коронарного атеросклероза. Генетика 2007; 43, 3: 409–416.
12. Никитин А.Г., Чудакова Д.А., Спицина Е.В. и др. Ассоциация полиморфного маркера C825T гена GBN3 с ишемической болезнью сердца. Генетика 2007; 43, 8: 1129–33.
13. Рыжко П.П., Федота А.М., Воронцов В.М. Генодерматозы: буллезный эпидермолиз, ихтиоз, псориаз. Харьков: Фолио, 2004. 334 с.
14. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. Под ред. Ю.П. Алтухова. М.: Наука, 2004. 619 с.
15. Украинцева С.В., Сергеев А.С. Популяционный риск возникновения бронхиальной астмы в Москве. Генетика 1995; 31, 2: 264–267.

16. Атраментова Л.О., Утєвська О.М. Статистичні методи в біології. Харків, 2007. 288 с.
17. Шадріна М.И., Сломинский П.А., Милосердова О.В. и др. Анализ полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента у больных ишемической болезнью сердца в московской популяции. Генетика 2001; 37, 4: 409–416.
18. Атраментова Л.А., Филиппова О.В., Осипенко С.Ю. Генетико-демографические процессы в городских популяциях Украины в 90-х годах. Генетика 2002; 38, 7: 972–979.
19. Федота А.М., Беляева Л.В., Винокурова Е.И., Безродная А.И. Исследование ассоциации псориаза и онкопатологий. Вісник Харківськ. нац. ун-ту ім. В.Н. Каразіна 2008; 814: 52–56.
20. Федота А.М. Генетическое исследование псориаза: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1998. 18 с.

**ПОРІВНЮВАЛЬНИЙ АНАЛІЗ МЕТОДІВ ЗБОРУ ПЕРВИННОЇ ІНФОРМАЦІЇ В ГЕНЕТИЦІ ЛЮДИНИ**  
**О.М. Федота, М.О. Бессонова**

Порівнювальний аналіз первинної інформації, зібраної різними методами в урбанізованій популяції, довів, що кращі результати досягаються при використанні методу особистого опиту пробандів у поєднанні з вивченням їх медичної документації.

**Ключові слова:** генетичний аналіз, населення, статевовікова структура, популяційна частота, поширюваність, генетичний моніторинг.

**THE COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS OF COLLECTION FIRST INFORMATION IN HUMAN GENETICS**

**A.M. Fedota, M.A. Bessonova**

The comparative analysis of first information collecting by different methods in urban population shows the most effective method is a interview with a combination of analysis of proband's medical documentation.

**Key words:** genetic analysis, population, sex-age structure, populational frequency, genetic monitoring.

Поступила 24.11.09

## ЗНАЧЕННЯ РОЛІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА SPINK-5 У ХВОРИХ НА ОСЕРЕДКОВУ СКЛЕРОДЕРМІЮ

**В.В. Савенкова, М.І. Зуєва, М.А. Лісова**

*ДУ «Інститут дерматології та венерології АМН України», м. Харків*

На підставі проведених клініко-генетичних досліджень 174 хворих на обмежену склеродермію з різними стадіями і ступенем тяжкості визначено необхідність дослідження поліморфізму гена SPINK-5. Доведено, що наявність алелі А у пацієнтів, яким проводиться генетичний моніторинг, обумовлює підвищений ризик виникнення даної патології, а генотип GG, навпаки, знижений. Генетична складова у чоловіків з осередковою склеродермією відіграє більш важливу роль у розвитку дерматозу, ніж у жінок.

**Ключові слова:** обмежена склеродермія, поліморфізм, ген SPINK-5, генотип.

Осередкова склеродермія (ОСД) – це захворювання, яке пов'язане з автоімунними процесами. Воно поширене по всьому світі. Основу патогенезу захворювання складають різноманітні порушення імунітету, що призводять до уражень шкіри, які відбуваються на рівні основних клітинних (імунокомпетентні клітини – фібробласти – ендотелій – клітини крові) і рецепторно-лігандних систем (молекули адгезії, фактори росту, інтерлейкіни та ін.) [1–3].

Останнім часом спостерігається збільшення хворих на ОСД, поява її атипових форм, що потребують диференціальної діагностики. Особливу увагу привертають пацієнти, що належать до групи ризику, які мають обтяжену спадковість, тривалий контакт із склеродермією – індукуючими зовнішніми факторами, порушення в імунному статусі тощо [4]. Це пов'язано з тим, що етіологія ОСД є досить складною і, незважаючи на багаточисельні дослідження, й досі недостатньо вивчена. Складнощі пояснюються насамперед мультифакторіальним генезом даної патології. Тому останніми роками в молекулярній біології і медицині дедалі більшого значення набувають дослідження з вивчення конкретних генів, які відповідають за розвиток мультифакторіальних захворювань [1]. Для визначення таких кандидатних генів використовуються різні методи. Один з підходів полягає у визначенні поліморфізму генів, зокрема однонуклеотидного поліморфізму. Наявність того чи іншого нуклеотиду в алелі може впливати на активність гена і змінювати властивості білка, який кодує даний ген. Часто зміни у структурі названих генів ведуть до розвитку тих або інших патологічних процесів.

Одним з таких генів є SPINK-5, що знаходиться у хромосомі 5q і кодує інгібітор серинових протеаз, які беруть участь у запальних процесах. Синонімами SPINK-5 є NETS; LEKTI; VAKTI; FLJ21544. Цей білок відіграє важливу роль в різноманітних морфологічних процесах в організмі: бере участь у протизапальних і антимікробних процесах (імуносупресорні функції, диференціювання Т-лімфоцитів), контролює диференціювання епітелію і клітин волосся, контролює організацію міжклітинного матриксу, регулює ангиогенез і клітинну адгезію тощо [5, 6].

Виходячи з викладених функцій гена SPINK-5, а також того, що продукт даного гена – інгібітор серинових протеаз є ферментом, залученим до різноманітних імунних і інших реакцій у шкірі і слизових оболонках, ми зробили припущення про значущість даного гена для вивчення взаємозв'язку між поліморфізмом SPINK-5 та розвитком і перебігом ОСД, що і було метою нашої роботи.

**Матеріал і методи.** Однонуклеотидний поліморфізм гена SPINK-5 (G1258A) досліджували у 174 хворих на ОСД, які були розподілені за стадією (еритематозна, склеротична і атрофічна) і ступенем тяжкості (I – легкий, II – середній, III – тяжкий). Серед них було 39 чоловіків (22,4 %) і 135 жінок (77,6 %). Віковий діапазон пацієнтів становив від 19 до 74 років, середній вік – (42,2±1,3) року: жінок – (45,17±1,36) року, чоловіків – (31,88±2,44) року.

Хворих на гостру стадію I ступеня було 9 (5,2 %), II ступеня – 52 (29,9 %), III ступеня – 28 (16,1 %); на склеротичну стадію I ступеня – 4 (2,3 %), II ступеня – 36 (20,7 %),

III ступеня – 24 (13,8 %); на атрофічну стадію I ступеня – 4 (2,3 %), II ступеня – 15 (8,6 %), III ступеня – 2 (1,1 %).

Контрольну групу склали 96 практично здорових людей віком від 19 до 74 років (37 чоловіків і 59 жінок), середній вік –  $(35,5 \pm 2,88)$  років: жінок –  $(40,4 \pm 1,32)$  року, чоловіків –  $(30,7 \pm 1,71)$  року.

Виділення ДНК проводили фенольним методом з лейкоцитів периферичної крові за стандартною методикою [7]. Генотипи за геном SPINK-5 досліджували методом аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. На першому етапі проводили ампліфікацію (полімеразна ланцюгова реакція – ПЛР) фрагмента гена SPINK-5 [3]. На другому етапі утворені при ампліфікації фрагменти гена піддавали дії рестриктази HphI, що розрізає сайт з послідовністю GGTGA(N)8↓. Рестриктазу додавали із розрахунку 3 ОД на 30 мкл суміші після ПЛР. Зразки інкубували протягом ночі при 37 °C. Обрана рестриктаза розрізає фрагмент гена на 2 або 3 фрагменти в залежності від того, який нуклеотид знаходиться у 197-му положенні – аденін чи гуанін. Якщо це аденін, то амплікон SPINK-5 розрізається на дві частини, а якщо гуанін – з'являється ще один сайт рестрикції, який розпізнається ферментом HphI, і при цьому утворюються три фрагменти. На третьому, фінальному, етапі проводилася детекція результатів рестрикції за допомогою електрофорезу у 3%-вому агарозному гелі. У даному виді поліморфізму може виявлятися три генотипи: AA, AG, GG [6].

При обробці результатів використовували критерій Фішера для оцінки різниці між частками відсотків з нерівновеликих вибірок, поліхоричний показник спряженості (k). Отримане значення поліхоричного по-

казника перевіряється на достовірність за допомогою методу  $\chi^2$ . Чим ближче значення показника спряженості k до одиниці, тим сильніший зв'язок між досліджуваними показниками [8].

**Результати та їх обговорення.** Виявлено достовірну асоціацію досліджуваного захворювання із наявністю в геномі хворого алелі А у фрагменті гена SPINK-5. Серед хворих відносна кількість носіїв алелі А (які мають генотипи AA і AG) помітно вища –  $(79,3 \pm 3,1)$  %, ніж у контрольній групі –  $(71,0 \pm 4,6)$  %,  $p < 0,01$ . Відносна кількість хворих, що гомозиготні за алеллю G (носії генотипу GG), достовірно менша –  $(20,6 \pm 3,1)$  %, ніж кількість гомозигот у контрольній групі –  $(26,0 \pm 4,5)$  %,  $p < 0,01$  (табл. 1).

В групі хворих в цілому та у жінок не було виявлено достовірної різниці в зустрічальності генотипів, проте у чоловіків генотип AG з достовірною різницею ( $p < 0,01$ ) переважає в групі хворих:  $(61,5 \pm 7,8)$  % проти  $(40,5 \pm 8,0)$  % у контролі, а генотип GG, навпаки, переважає у контролі –  $(43,2 \pm 8,1)$  %, а в групі хворих –  $(18,0 \pm 6,1)$  % ( $p < 0,01$ ), табл. 1. Результати генотипування підтверджують припущення, що алель А може зумовлювати таку конформаційну структуру білка, при якій знижується активність продукту гена SPINK-5. Це, у свою чергу, веде до аномального підвищення рівня активності білків-мішеней SPINK-5 – протеолітичних ферментів, які беруть участь у багатьох процесах в організмі, включаючи імунні, у тому числі диференціювання Т-лімфоцитів, ангиогенез і т. ін.

Результати аналізу зв'язку між генотипом SPINK-5 та стадією і ступенем тяжкості ОСД наведені в табл. 2. Встановлено, що найбільш виражений статистично достовірний зв'язок існує між еритематозною ста-

Таблиця 1. Розподіл генотипів хворих на осередкову склеродермію в цілому та залежно від статі

Генотип SPINK-5	Група хворих			Контрольна група		
	в цілому	жін	чол	в цілому	жін	чол
AA						
частота	50	42	8	26	20	6
%	28,7	31,1	20,5	27,1	33,9	16,2
AG						
частота	87	63	24	45	30	15
%	50,0	46,7	61,5	46,9	50,8	40,5
GG						
частота	37	30	7	25	9	16
%	21,3	22,2	18,0	26,0	15,3	43,2

*Таблиця 2. Розповсюдження генотипів SPINK-5 у хворих на осередкову склеродермію в залежності від стадії та ступеня тяжкості*

Стадія хвороби та ступінь тяжкості	Частоти генотипів SPINK-5			
	AA	AG	GG	усього
Еритематозна				
I	2	4	3	9
II	24	12	16	52
III	5	17	6	28
Склеротична				
I	1	3	0	4
II	13	19	4	36
III	6	15	3	24
Атрофічна				
I	2	1	1	4
II	3	5	7	15
III	0	1	1	2
Усього	56	77	41	174

дією ОСД і генотипом SPINK-5 [ $k=0,5$ ,  $\chi^2(\text{факт})=22,59$ ,  $\chi^2(\text{станд})=18,47$ ,  $p<0,01$ ]. При склеротичній і атрофічній стадіях не було виявлено достовірного зв'язку з генотипом SPINK-5 [ $k=0,284$ ,  $\chi^2(\text{факт})=10,04$ ,  $\chi^2(\text{станд})=18,47$ ,  $p>0,05$ ;  $k=0,26$ ,  $\chi^2(\text{факт})=6,83$ ,  $\chi^2(\text{станд})=18,47$  відповідно]. Крім того, було виявлено зв'язок між ОСД у цілому і генотипом SPINK-5 [ $k=0,51$ ,  $\chi^2(\text{факт})=121,45$ ,  $\chi^2(\text{станд})=45,2$ ,  $p<0,01$ ].

Отже, аналіз отриманих даних дозволяє стверджувати, що алель А (присутня в генотипах AA і AG) гена SPINK-5 забезпечує достовірно вищий ризик захворювання на ОСД, а наявність у геномі людини генотипу GG, навпаки, обумовлює меншу вірогідність розвитку цього захворювання. SPINK-5, що являє собою мультидомений інгібітор серинових протеаз і є одним із ключових регуляторів ферментативних процесів в організмі людини, може бути пов'язаний з розвитком автоімунних процесів. Ми припускаємо, що наявність алелі А призводить до формування такої структури інгібітора про-

теаз, при якій змінюються його властивості й знижується ферментативна активність. Продукт гена SPINK-5 відноситься до негативних регуляторів імунної відповіді, і зміна його активності убік зменшення (внаслідок зміни амінокислотної послідовності білка) призведе до виникнення автоімунних процесів, що супроводжують розвиток ОСД. Ці порушення також можуть бути пов'язані зі змінами на рівні диференціювання клітин імунної відповіді, яке контролюється продуктом гена SPINK-5.

Аналогічні результати щодо алелі А і генотипу GG отримані і для групи хворих чоловіків незалежно від стадії і ступеня тяжкості. Крім того, для них виявлено достовірний зв'язок між генотипом AG і досліджуваним дерматозом. Різниця в розподілі генотипів SPINK-5 серед чоловіків і жінок, при якому тільки у чоловіків виявлено достовірний зв'язок між генотипом і наявністю захворювання, дає підставу для припущення, що у жінок в розвитку ОСД основну роль відіграють не тільки генетичні, скільки інші, зовнішні і внутрішні фактори.

Наші результати дозволяють отримати більш високий ступінь передбачуваності виникнення ОСД у чоловіків та у хворих із еритематозною стадією захворювання на підставі аналізу генотипу SPINK-5.

### Висновки

1. Наявність у генотипі хворого або пацієнта з групи ризику алелі А зумовлює більшу імовірність захворювання на осередкову склеродермію, а наявність у людини генотипу GG вказує на меншу схильність до цього захворювання.

2. Встановлено, що генетичний поліморфізм у чоловіків, хворих на осередкову склеродермію, відіграє достовірно більшу роль у можливому розвитку захворювання, ніж у жінок.

3. У хворих на осередкову склеродермію при еритематозній стадії встановлено статистично достовірний зв'язок (коефіцієнт спряженості  $k = 0,51$ ) між ступенем тяжкості осередкової склеродермії і генотипом SPINK-5.

### Література

1. Гусева Н.Г. Системная склеродермия: клиника, диагностика, лечение. Рос. журн. кож. и вен. болезней 2002; 4: 5–15.
2. Roberson C.M. Scleroderma. Ala Nurse 2009; 36, 13: 9–10.
3. Gourh P., Arnett F.C., Assassi S. et al. Plasma cytokine profiles in systemic sclerosis: associations with autoantibody subsets and clinical manifestations. Arthritis Res Ther. 2009; 11, 5: 13–17.
4. Торшин И.Ю., Громова О.А. Дисплазия соединительной ткани, магний и нуклеотидные полиморфизмы. Кардиология 2008; 10: 57–64.

5. Godic A., Dragos V. Successful treatment of Netherton's syndrome with topical calcipotriol. *Europ. J. Dermatol.* 2004; 14, 1: 115–117.

6. Kabesch M., Carr D., Weiland S.K., von Mutius E. Association between polymorphisms in serine protease inhibitor, kazal type 5 and asthma phenotypes in a large German population sample. *Clin. Exp. Allergy* 2004; 34, 2: 340–345.

7. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.

8. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы геной инженерии. Молекулярное клонирование. Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 480 с.

#### ЗНАЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА SPINK-5 У БОЛЬНЫХ С ОГРАНИЧЕННОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

**В.В. Савенкова, М.И. Зуева, М.А. Лесовая**

На основании проведенных клинико-генетических исследований 174 больных ограниченной склеродермией с разными стадиями и степенью тяжести показана необходимость определения полиморфизма гена SPINK-5. Доказано, что наличие аллели А у пациентов, которым проводится генетический мониторинг, обуславливает повышенный риск возникновения данной патологии, а генотип GG, напротив, сниженный. У мужчин, больных ограниченной склеродермией, генетическая составляющая играет более важную роль в развитии дерматоза, чем у женщин.

**Ключевые слова:** ограниченная склеродермия, полиморфизм, ген SPINK-5, генотип.

#### ROLE OF SPINK-5 GENE POLYMORPHISM IN SCLERODERMA PATIENTS

**V.V. Savenkova, M.I. Zuyeva, M.A. Lesovaya**

On the ground of genetic researches the necessity of SPINK-5 gene polymorphism analysis has been shown. 174 patients with different stages and severity levels of scleroderma were genotyped. The association between allele A, GG genotype of SPINK-5 gene and studied pathologies was shown in the work. Allele A causes high-risk, and genotype GG causes reducer risk of occurrence of scleroderma. In men genetic factors play more important role in development of scleroderma, than in women.

**Key words:** scleroderma, polymorphism, SPINK-5 gene, genotype.

Поступила 18.12.09

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ В НЕЛЕТАЛЬНЫХ ДОЗАХ

*М.К. Адейшвили-Сыромятникова, М.А. Лесовая, В.В. Мясоедов*

*Харьковский национальный медицинский университет*

В эксперименте было установлено, что радиационное воздействие в нелетальных дозах (1 и 2 Гр) вызывало усиление перекисного окисления липидов в крови крыс, которое сопровождалось снижением активности антиоксидантных ферментов – каталазы и супероксиддисмутазы. Введение облучённым крысам препарата Кверцетин, обладающего антиоксидантным действием, обеспечивало восстановление активности изучаемых ферментов, что способствовало полной нормализации перекисных процессов.

**Ключевые слова:** радиационное воздействие, перекисное окисление липидов, антиоксидантные системы, антиоксидантные препараты.

Ионизирующая радиация является одним из наиболее агрессивных индукторов лавинообразных свободнорадикальных реакций, которые, как показал анализ современных медико-биологических исследований, играют важную роль в развитии морфофункциональных и регуляторных повреждений клеток при воздействии на организм любого неблагоприятного фактора [1, 2].

В облучённой живой системе, бесспорно, возрастает нагрузка на защитные антиоксидантные (АО) механизмы, которые в обычных условиях препятствуют бесконтрольному лавинообразному нарастанию перекисных процессов и окислительной деструкции биологических молекул [3]. Ресурсы защитных физиологических АО-систем организма не беспредельны. В условиях воздействия повреждающих факторов, в том числе ионизирующих излучений, они быстро исчерпываются, и возникает необходимость в экзогенном введении в организм веществ, обладающих АО-действием.

Целью настоящей работы было изучение влияния АО-препарата Кверцетин на оксидантно-антиоксидантный потенциал крови при действии ионизирующей радиации в нелетальных дозах.

**Материал и методы.** Эксперименты были проведены на 135 половозрелых крысах-самках популяции Вистар массой 180–200 г. Крысы подвергались тотальному (общему) однократному рентгеновскому облучению на аппарате РУМ-17 в дозах 1 и 2 Гр. Часть экспериментальных животных с первого дня после облучения и в течение всего экспе-

римента получала АО-препарат Кверцетин из расчета 1 мг/кг массы тела. Кверцетин вводили перорально специальным зондом в виде раствора 1 раз в сутки. Крысы контрольных групп (только облучение в дозах 1 и 2 Гр) получали в те же сроки дистиллированную воду. На 7-е, 15-е и 30-е сутки после радиационного воздействия в гемолизатах крови определяли состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню диеновых конъюгат (ДК) [4] и малонового диальдегида (МДА) [5]. О состоянии АО-защиты судили по активности АО-ферментов – каталазы [6] и супероксиддисмутазы (СОД) [7].

Достоверность различий рассчитывали по *t*-критерию Стьюдента [8].

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные показали, что при воздействии радиации в дозах 1 и 2 Гр максимальное накопление токсических продуктов перекисации в крови отмечалось на 15-е сутки и было более выраженным при большей дозе облучения (табл. 1).

Содержание ДК и МДА было повышено на 25 и 32 % соответственно по сравнению с таковым у интактных животных при дозе 1 Гр и на 27 и 36 % при дозе 2 Гр ( $p < 0,05$ ). К концу исследования (30-е сутки) в крови сохранялось достоверно увеличенное содержание ДК и МДА.

Существенным образом на воздействие радиации в нелетальных дозах реагировали и защитные АО-системы, в частности, их ферментативное звено (табл. 2). На 7-е сутки активность каталазы в крови крыс облучённых групп составляла 82–84 % от исход-

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови крыс, облучённых в нелетальных дозах, ( $x+Sx$ )

Группа облучённых крыс	ДК, ммоль/л			МДА, мкмоль/л		
	7-е сут	15-е сут	30-е сут	7-е сут	15-е сут	30-е сут
Интактный контроль (n=15)	4,62±0,38			6,28±0,54		
1 Гр (n=30)	5,13±0,41	5,96±0,33*	5,59±0,29*	6,68±0,66	7,98±0,68*	7,72±0,53*
1 Гр + кверцетин (n=30)	4,34±0,27 <sup>#</sup>	4,48±0,35 <sup>#</sup>	4,76±0,44 <sup>#</sup>	6,15±0,62	6,41±0,59 <sup>#</sup>	5,97±0,38 <sup>#</sup>
2 Гр (n=30)	5,32±0,34	6,05±0,56*	5,92±0,39*	7,03±0,62	8,29±0,73*	8,14±0,67*
2 Гр + кверцетин (n=30)	4,90±0,42	4,67±0,39 <sup>#</sup>	4,67±0,31 <sup>#</sup>	6,78±0,54	7,03±0,67 <sup>#</sup>	6,09±0,58 <sup>#</sup>

Примечание. \* Достоверно относительно интактных животных; <sup>#</sup> достоверно относительно контрольной группы. Здесь и в табл. 2.

Таблица 2. Активность каталазы и супероксиддисмутазы в крови крыс, облучённых в разных дозах, ( $x+Sx$ ) усл. ед.

Группа облучённых крыс	Каталаза			СОД		
	7-е сут	15-е сут	30-е сут	7-е сут	15-е сут	30-е сут
Интактный контроль (n=15)	3,44±0,26			5,63±0,31		
1 Гр (n=30)	2,89±0,19	2,48±0,22*	2,10±0,15*	6,87±0,73*	5,12±0,48	4,56±0,41*
1 Гр + кверцетин (n=30)	3,27±0,28	3,03±0,23 <sup>#</sup>	3,58±0,32 <sup>#</sup>	7,54±0,62* <sup>#</sup>	7,09±0,68* <sup>#</sup>	6,31±0,56 <sup>#</sup>
2 Гр (n=30)	2,82±0,21	2,34±0,25*	1,82±0,13*	6,64±0,56*	4,84±0,35	4,17±0,29*
2 Гр + кверцетин (n=30)	3,13±0,24	2,96±0,18 <sup>#</sup>	3,34±0,25 <sup>#</sup>	6,98±0,42*	6,70±0,45* <sup>#</sup>	6,02±0,41 <sup>#</sup>

ных значений, тогда как активность другого АО-фермента – СОД, напротив, в первую неделю после радиационного воздействия увеличивалась в среднем на 18–22 % ( $p<0,05$ ).

Активность каталазы, непосредственно разлагающей перекись водорода, на 15-е сутки снижалась в среднем на 30 %, а к концу наблюдений (30-е сутки) в крови крыс, облучённых в дозе 2 Гр, снижалась практически вдвое (53 % значений у интактных крыс).

Активность в крови другого АО-фермента – СОД, характеризовавшаяся в первую неделю наблюдений компенсаторным повышением, к 15-м суткам существенно снижалась и не восстанавливалась даже на 30-е сутки.

Введение кверцетина облучённым в дозе 1 Гр крысам удерживало свободнорадикальные процессы в нормальных пределах, не давая накапливаться в крови и тканях токсичным перекисным продуктам. При дозе облучения 2 Гр на фоне введения препарата в крови животных отмечалась тенденция к увеличению содержания МДА до 112 % интактных значений. Однако на 15 и 30-е

сутки показатели как начальной, так и вторичной стадии ПОЛ в крови леченных животных были снижены на 11–35 % по сравнению с облучёнными нелечеными животными и находились практически на уровне интактных крыс.

В ещё большей степени восстанавливающий эффект изучаемого препарата проявлялся в его влиянии на активность ферментного звена АО-защиты. При введении кверцетина в крови облучённых в нелетальных дозах животных не отмечалось сколько-нибудь значимого снижения активности каталазы, а активность СОД в крови была достоверно повышена в первые две недели наблюдений.

Таким образом, воздействие ионизирующего излучения в нелетальных дозах (1 и 2 Гр) вызывало интенсификацию свободнорадикальных процессов в организме, на что указывало повышение содержания дериватов липопероксидации в крови экспериментальных животных, более выраженное при большей дозе облучения (2 Гр). Повышение показателей ПОЛ в крови носило, очевидно, вторичный опосредованный характер, обу-

словлений частичною деструкцією клітинних мембран тканин і виходом перекисних продуктів із кліток в міжклітинну рідину, а оттуда в кров.

Активізація ПОЛ у облучених тварин протікала на фоні зниження активності антирадикальних ферментів – каталази і СОД, що свідчувало про вичерпання АО-потенціалу в облученому організмі.

Введення Кверцетину відновлювало в крові облучених тварин активність каталази і СОД до нормального рівня, що стримувало надмірне розвиток перекисних процесів в крові при дозі як 1 Гр, так і 2 Гр. Тому застосування препаратів, що володіють АО-дією, може бути рекомендовано для корекції порушень ПОЛ і відновлення АО-захисту організму, що дозволить знизити ризик розвитку

віддалених наслідків впливу іонізуючої радіації в нелетальних дозах

### Висновки

1. Вплив радіації в нелетальних дозах (1 і 2 Гр) викликало посилення ПОЛ в організмі тварин, що виражалося в надмірному накопленні в крові продуктів ліпопероксидації (ДК і МДА) на 15-й і 30-й доби на фоні зниження активності АО-ферментів – каталази і супероксиддисмутази, що свідчувало про вичерпання антиоксидантних резервів організму.

2. Введення тваринам, облученим в нелетальних дозах, антиоксидантного препарату Кверцетин викликало нормалізацію активності ферментів в крові досліджуваних тварин, що сприяло нормалізації процесів ПОЛ і утриманню їх активності в межах фізіологічної норми.

### Література

1. Брехман І.І., Голотин В.Г., Барабой В.А. Перекисне окислення і стрес. СПб.: Наука, 1992. 140 с.
2. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковий Д.А. Свободнорадикальне окислення і антиоксидантна захист при патології головного мозку. М.: Знання-М, 2000: 40–45.
3. Шишкіна Л.Н., Кушнірева Е.В., Беспалько О.Ф. Роль антиоксидантного статусу в розвитку наслідків біологічного впливу низьких доз радіації. Радиобіологія – Радиоекологія 2000; 2: 162–167.
4. Скорняков В.І., Кожемякин Л.А., Смирнов В.В. Продукти перекисного окислення ліпідів. Лаб. дело 1988; 8: 14–16.
5. Малоновий діальдегід. Медичні лабораторні технології: Справочник. Під ред. А.І. Карпищенко. СПб.: Інтермедика, 1999: 100–101.
6. Скорняков В.І., Кожемякин Л.А. Методи визначення активності каталази. Лаб. дело 1988; 1: 16–18.
7. Гуревич В.С., Конторшиков К.Н., Шатилина Л.В. Порівняльний аналіз двох методів визначення активності супероксиддисмутази. Лаб. дело 1990; 4: 44–47.
8. Бикел П., Доксам К. Математична статистика. Вип. 1. М.: Статистика, 1983. 280 с.

### АНТИОКСИДАНТНА КОРЕКЦІЯ СИНДРОМУ ПЕРОКСИДАЦІЇ ПРИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ В НЕЛЕТАЛЬНИХ ДОЗАХ

**М.К. Адейшвілі-Сиром'ятнікова, М.А. Лісова, В.В. М'ясоєдов**

В експерименті було встановлено, що радіаційна дія у нелетальних дозах (1 і 2 Гр) викликала посилення перекисного окиснення ліпідів у крові щурів, яке супроводжувалося зниженням активності антиоксидантних ферментів – каталази й супероксиддисмутази. Введення опроміненій щурам препарату Кверцетин, який має антиоксидантні властивості, забезпечувало відновлення активності ферментів, що сприяло повній нормалізації перекисних процесів.

**Ключові слова:** радіаційна дія, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантні системи, антиоксидантні препарати.

### PEROXID SINDROM ANTIOXIDANT CORRACTION OF NONLETHAL DOSES IONIZING RADIATION

**M.K. Adeyshvili-Syromyatnikova, M.A. Lesovaya, V.V. Miasojedov**

The experiment on rats has shown, that the exposure of animals to nonlethal dose ionizing radiation (1 and 2 Gy) caused the rise of lipid peroxidation in blood. Synchronously with this, the decrease of activity of antioxidant enzymes catalase and superoxidedismutase was observed. Administering of antioxidant quercetin to radiation-exposed animals caused the regaining of activity of studied enzymes, which, in turn, provided earlier normalization of peroxidative processes.

**Key words:** radiation impact, lipid peroxidation, antioxidant systems, antioxidants.

Поступила 09.04.09

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН, ПОВРЕЖДЁННЫХ ПРИ НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА

**В.Н. Пасюга**

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Институт биологии*

Исследованы влияние микроволнового облучения на клетки буккального эпителия человека и окрашиваемость их витальными красителями индигокармином и трипановым синим в течение 5 мин. Изучена способность восстановления проницаемости клеточных мембран для витальных красителей в различные периоды после микроволнового облучения. Показано, что нарушения, вызванные низкоэнергетическим облучением (10 мкВт/см<sup>2</sup>), восстанавливаются через 1 час. Более мощное облучение (100 и 400 мкВт/см<sup>2</sup>) вызывает более выраженный эффект повышения проницаемости мембран, который исчезает через 3 часа.

**Ключевые слова:** мембрана клетки, буккальный эпителий, микроволновое излучение, восстановление клеток.

Влияние электромагнитных волн на клеточные мембраны считается одним из ведущих механизмов влияния полей на клетку в целом [1, 2]. Исследователи [3] отмечают, что энергия электромагнитного поля может быть использована для активного транспорта ионов через мембраны. Первые экспериментальные данные, подтверждающие влияние на транспорт ионов K<sup>+</sup>, были получены в 1972 г. [4, 5]. Это происходит в том случае, если циклический перенос заряда в трансмембранном ферменте совпадает по периоду с внешним осциллирующим полем. В таком случае наблюдается поглощение энергии электромагнитного поля ферментом и преобразование её в химическую энергию в результате активного транспорта ионов. Активность калиевого насоса также изменяется под действием электромагнитного поля [6]. В работе [4] предполагается существование механизма влияния поля на проницаемость клеточной мембраны: возникновение значительного градиента температуры в тонком примембранном слое жидкости.

Сильные электрические и электромагнитные поля (~1 кВ) вызывают пробой в клеточной мембране (электропорация), что широко используется в методиках переноса генетического материала в клеточной биотехнологии [7]. В Институте биологии Харьковского национального университета впервые было показано влияние слабых электромагнитных полей на проницаемость клеточной мембраны для витальных красителей – индигокармина [8] и трипанового синего [9].

Ранее нами было рассмотрено влияние циркулярно-поляризованного микроволнового излучения на проницаемость мембран для витальных красителей [10]. В настоящей работе рассматривается влияние микроволнового излучения на проницаемость мембран клеток буккального эпителия для витальных красителей – индигокармина и трипанового синего. Впервые рассмотрен процесс восстановления клеточных мембран в различные периоды после облучения.

**Материал и методы.** Эксперименты проводили на клетках буккального эпителия человека. Перед экспериментом клетки извлекали из организма и сохраняли в 3,03 мМ фосфатном буфере, pH 7,0, с добавлением 2,89 мМ хлорида кальция. Донорами клеток были мужчины разного возраста: донор А – 18 лет, В – 20, С – 23, D – 37, Е – 53, F – 55 лет. Все доноры были практически здоровыми, некурящими.

Для получения электромагнитного поля применяли установку, разработанную на кафедре теоретической радиопизики ХНУ. Частота микроволнового облучения составляла (36,64±0,05) ГГц, плотность потока энергии на уровне объекта – 10, 100 и 400 мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения – 10 с. Клетки окрашивали растворами индигокармина (5 мМ) и трипанового синего (0,5 %), приготовленными на буферном растворе, описанном выше, сразу после облучения, через 30 мин, 1 ч, 2 ч и 3 ч после облучения. Краситель быстро проникал в клетки с повреждённой мембраной, клетки с менее повреждённой мембра-

ной дольше оставались неокрашенными, поэтому их содержание определяли через некоторый промежуток времени. Микроструктура клеток, окрашенных индигокармином, представлена на рис. 1. Из рис. 1 видно, что цитоплазма клетки, находящейся в центре, осталась неокрашенной. Процент неокрашенных клеток определяли че-

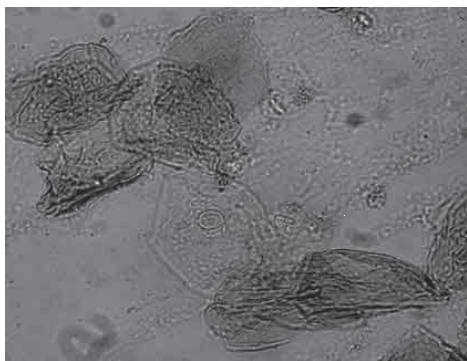
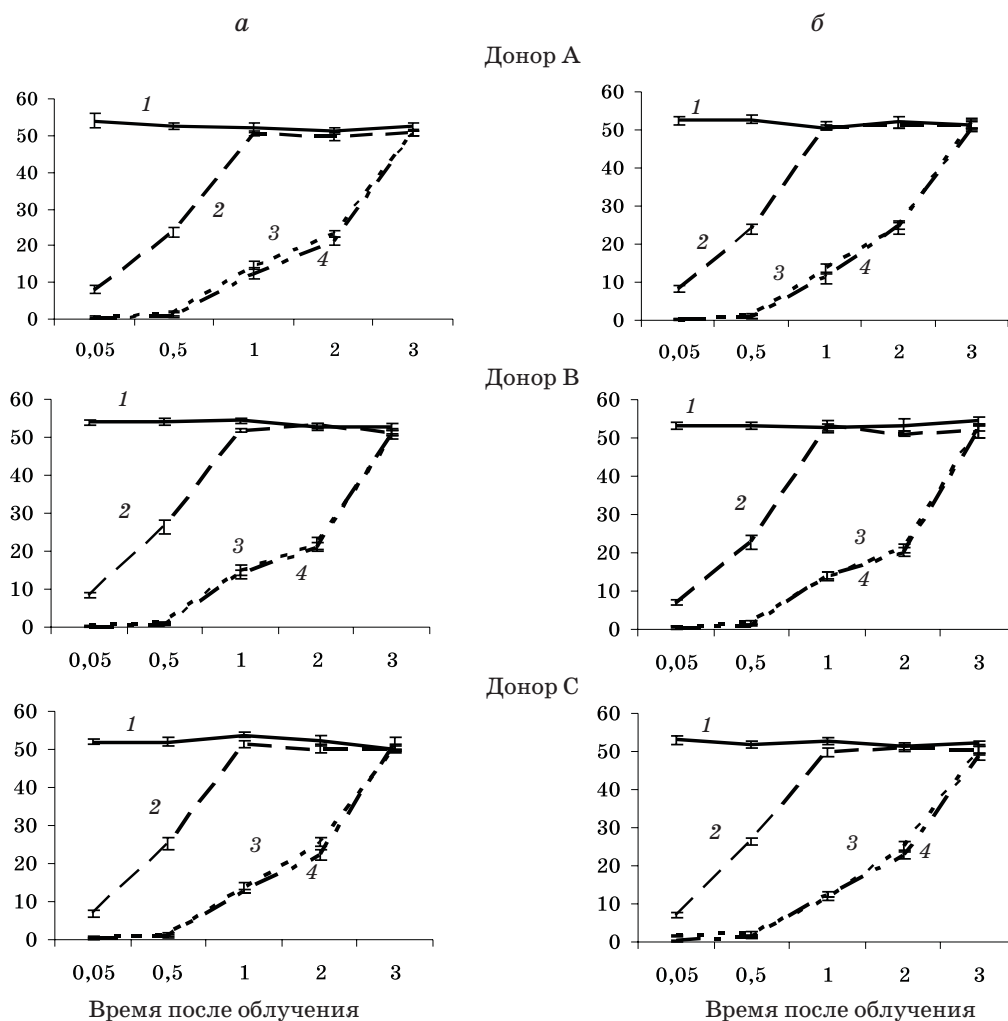


Рис. 1. Микроструктура клеток буккального эпителия человека, окрашенных 5 мМ раствором индигокармина в течение 5 мин,  $\times 600$

рез 5 мин после начала окрашивания, просматривая 100 клеток в препарате. Каждое измерение повторяли пять раз, затем определяли среднее из пяти измерений и величину стандартной ошибки среднего. Результаты обработали статистически с использованием t-критерия Стьюдента при уровне достоверности  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 2 представлены результаты эксперимента по изменению проницаемости клеточных мембран после действия микроволнового излучения.

Из представленных данных видно, что результаты, полученные обоими методами окрашивания, отражают одну и ту же общую закономерность – снижение процента неокрашенных клеток в результате микроволнового облучения. Повышение содержания окрашенных клеток в препарате свидетельствует о повышении проницаемости мембран для молекул красителя и о повреждении клетки.



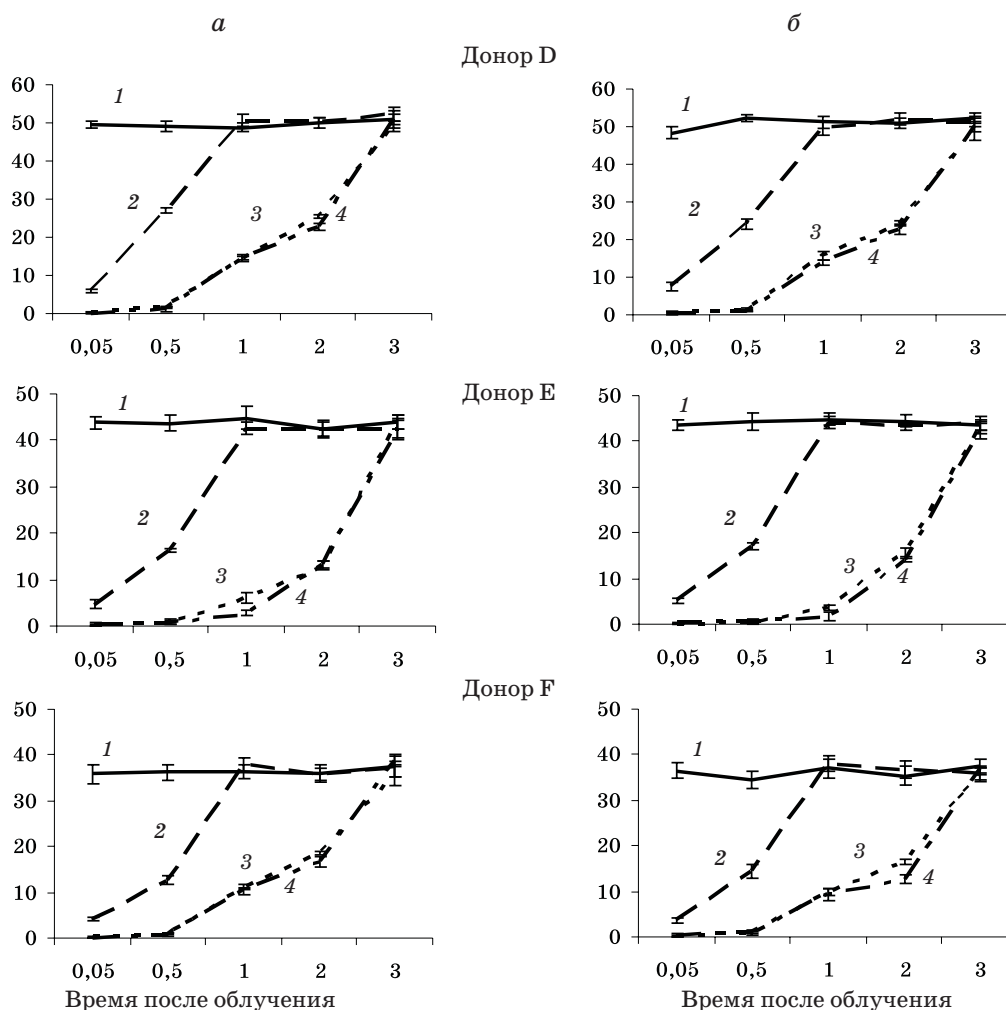


Рис. 2. Изменение проницаемости клеточных мембран, окрашенных индигокармином (а) и трипановым синим (б), после действия микроволнового излучения в разные периоды после воздействия: 1 – контроль; 2 – 10 мкВт/см<sup>2</sup>; 3 – 100 мкВт/см<sup>2</sup>; 4 – 400 мкВт/см<sup>2</sup>

Микроволновое воздействие вызывает значительное увеличение количества клеток с повреждёнными мембранами непосредственно после облучения, причём количество клеток с повреждённой мембраной зависит от мощности облучения и принадлежности клеток тому или иному донору.

Полученные данные свидетельствуют о том, что малые дозы (10 мкВт/см<sup>2</sup>) вызывают повреждение мембран; увеличение интенсивности в 10 раз (100 мкВт/см<sup>2</sup>) значительно усиливает повреждающий эффект. Следует отметить, что результаты облучения с мощностью 100 и 400 мкВт/см<sup>2</sup> практически идентичны. Это свидетельствует о том, что уровень повреждения клеточных мембран, регистрируемый данным методом, не различается для двух мощностей. Вероятно, в данном случае наблюдается индукция процесса повреждения при облу-

чении мощностью 100 мкВт/см<sup>2</sup>, поэтому любое воздействие выше этого уровня вызывает аналогичный эффект.

Через 1 час после облучения с мощностью 10 мкВт/см<sup>2</sup> эффект воздействия исчезал и наблюдалось восстановление целостности мембран. Более длительным оказался эффект облучения мощностью 100 и 400 Вт/см<sup>2</sup>, но и он ослабевал через 2 часа и полностью исчезал в клетках всех доноров через 3 часа после облучения.

Хранение необлучённых клеток в буферном растворе в течение трёх часов не вызывало изменения в проницаемости клеток для витальных красителей.

Особенностью повреждения клеточных мембран является то, что наиболее активно это происходит в местах взаимодействия излучения со связанной водой в мембранных каналах и мембранно-связанных бел-

ках. В работе [11] проанализирована роль молекул связанной воды в стабилизации и функциональной активности белков мембранных каналов и мембранно-связанных ферментов. В работе [12] показано, что магнитное поле частотой 50 Гц влияет на N–H- и C–N-связи и вызывает конформационные изменения во вторичной структуре мембранных белков. Этот процесс может приводить к изменению функционирования мембранных пор, что, в свою очередь, приводит к изменению проницаемости мембран для витальных красителей.

То, что клетка способна к восстановлению повреждений своей структуры, известно давно. Процесс восстановления повреждения клеток после действия физических и химических и физических факторов изучали авторы [13], которые для характеристики обратимых изменений ввели термин «паранекроз». В дальнейшем эти исследования были продолжены учениками школы Д. Насонова [14], но процесс воздействия электромагнитных волн на клетку они не исследовали.

Результаты нашего исследования впервые показывают возможность восстановления целостности мембран клеток после воздействия электромагнитных волн.

### Выводы

1. Показано, что низкоэнергетическое излучение вызывает повышение проницаемости мембран клеток для витальных красителей, что указывает на нарушение целостности клеточных мембран, и этот эффект является обратимым.

2. Нарушения, вызванные низкоэнергетическим облучением 10 мкВт/см<sup>2</sup>, восстанавливаются через 1 час. Более мощное излучение (100 и 400 мкВт/см<sup>2</sup>) вызывает более выраженный эффект повышения проницаемости мембран, который исчезает через 3 часа.

3. Установлено, что динамика восстановления клеток не зависит от возраста их донора. За период хранения клеток (3 часа) не наблюдалось изменения проницаемости мембран для витальных красителей.

### Литература

1. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны в процессах жизнедеятельности. М.: Радио и связь, 1991. 168 с.
2. Frohlich H. Bose condensation of strongly excited longitudinal electric modes. *Phys. Rev. Lett.* 1968; 26A: 402.
3. Tsong T.Y., Liu D.S., Chauvin F. et al. Electroconformational coupling: an electric field-induced enzyme oscillation for cellular energy and signal transduction. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1989; 21, 3: 319–331.
4. Исмаилов Э.Ш. К механизму влияния микроволн на проницаемость эритроцитов человека. Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот. М.: Медицина, 1972: 62–97.
5. Штемлер В.М. Изменение транспорта K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> в эритроцитах человека под влиянием микроволн. Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот. М.: Медицина, 1972: 62–68.
6. Geletyuk V.I., Kazachenko V.N., Chemeris N.K., Fesenko E.E. Dual effects of microwaves on single Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in cultured kidney cells Vero. *FEBS Lett.* 1995; 359: 85–88.
7. Beebe S.J., White J., Blackmore P.F. et al. Diverse effects of nanosecond pulsed electric fields on cells and tissues. *DNA Cell Biol.* 2003 Dec.; 22 (12): 785–796.
8. Навроцька В.В., Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. та ін. Вплив електромагнітних випромінювань на стан хроматину, проникність клітинних мембран і електрокінетичні властивості ядер клітин людини. Тези доп. III з'їзду Укр. біофіз. товариства. Львів, 2002: 10.
9. Шкорбатов Ю.Г., Пасюга В.Н., Грабина В.А. и др. Изменение проницаемости клеточных мембран под влиянием микроволнового излучения различной круговой поляризации: Матер. XXIX Междунар. научн.-практич. конф. «Применение лазеров в медицине и биологии». Харьков, 2008: 159–161.
10. Пасюга В.Н., Шкорбатов Ю.Г., Грабина В.А. и др. Влияние циркулярно-поляризованного низкоинтенсивного излучения миллиметрового диапазона на проницаемость плазматической мембраны в клетках человека. *Біофіз. вісник* 2008; 20 (1): 107–113.
11. Renthal R. Buried water molecules in helical transmembrane proteins. *Protein Science* 2008; 17: 293–298.
12. Ikehara T., Yamaguchi H., Hosokawa K. et al. Effects of ELF magnetic field on membrane protein structure of living HeLa cells studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Bioelectromagnetics* 2003; 24 (7): 457–464.
13. Насонов Д.Н., Александров В.Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.-Л.: Изд-во Акад. наук СССР, 1940. 452 с.

14. Браун А.Д., Моженок Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л.: Наука, 1987. 232 с.

**ПОШКОДЖЕННЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН, ЩО ВИКЛИКАНІ НИЗЬКОЕНЕРГЕТИЧНИМ ВИПРОМІНЮВАННЯМ МІЛІМЕТРОВОГО ДІАПАЗОНУ, І ЇХ ВІДНОВЛЕННЯ**

**В.М. Пасюга**

Досліджено вплив мікрохвильового випромінювання на клітини букального епітелію людини і забарвленість клітин вітальними барвниками – індигокарміном і трипановим синім, клітини забарвлювали протягом 5 хв. Вивчено здатність відновлення проникності клітинних мембран для вітальних барвників у різні періоди після мікрохвильового опромінювання. Показано, що порушення викликані низькоенергетичним опромінюванням ( $10 \text{ мкВт/см}^2$ ), відновлюються через 1 год. Більш потужне випромінювання ( $100$  і  $400 \text{ мкВт/см}^2$ ) викликає більш виражений ефект підвищення проникності мембран, який зникає через 3 год.

**Ключові слова:** мембрана клітини, букальний епітелій, мікрохвильове випромінювання, відновлення клітин.

**DAMAGE OF CELLULAR MEMBRANES, CAUSED THE LOW-ENERGY RADIATION OF MILLIMETRIC RANGE, AND ITS RECOVERY**

**V.N. Pasiuga**

Influence of microwave radiation on human buccal epithelium cells and stainability of cells with indigocarmine or trypan blue after 5 min of staining was investigated. Recovery of cell membrane permeability after microwave irradiation was shown. Cell recovery after microwave irradiation of low intensity ( $10 \text{ μW/cm}^2$ ) was shown after 1 h. Microwave irradiation of higher intensity ( $100$ ,  $400 \text{ μW/cm}^2$ ) induced more strongly effects of cell membrane permeability. Cell recovery after microwave irradiation of higher intensity was shown after 3 h. For the first time recovery of cell membrane after microwave irradiation of low intensity was shown.

**Key words:** cell membrane, buccal epithelium, microwave irradiation, cell recovery.

Поступила 16.09.09

## СОДЕРЖАНИЕ МЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЁННЫМ ПСОРИАЗОМ

*Е.Г. Татузян*

*Харьковский национальный медицинский университет*

У больных распространённым псориазом увеличение в сыворотке крови содержания возбуждающих аминокислот (глутамата и аспартата), снижение количества тормозных аминокислот (ГАМК, глицина) и коэффициента ГАМК/глутамат ведёт к снижению тормозного контроля над процессом высвобождения возбуждающих медиаторов, что является прогностически значимым при обосновании патогенетической терапии больных псориазической болезнью.

**Ключевые слова:** медиаторные аминокислоты, нейротрансмиттеры, возбуждение, торможение, псориаз.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что в передаче нервных импульсов в ЦНС и на периферии важная роль принадлежит ряду аминокислот, одни из которых выполняют функцию возбуждающих, другие – тормозных нейротрансмиттеров. К числу первых относятся дикарбоновые кислоты глутамат и аспартат, вторых – гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), глицин, таурин. Несмотря на то, что представление о медиаторной функции названных аминокислот возникло более 30 лет назад, наиболее существенный прогресс в этом направлении достигнут в последнее десятилетие, о чём свидетельствует большое число появившихся в эти годы работ [1–7]. Интенсивное изучение медиаторных аминокислот в различных аспектах, в том числе физиологическом, нейробиологическом, фармакологическом и клиническом, дало ряд новых представлений о возможном значении этих природных низкомолекулярных соединений в регуляции функций организма, их взаимодействии с другими регуляторными системами. Получены убедительные доказательства вовлечения медиаторных аминокислот в патохимические процессы при заболеваниях органов пищеварения, центральной нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, сахарном диабете, атерогенезе, интоксикациях, воздействии вредных химических, физических антропогенных и других факторов. О роли медиаторных аминокислот в патогенезе псориаза пока известно мало, а потому вопрос изучения тормозных и возбуждающих аминокислот при данной патологии является актуальным.

Медиаторные аминокислоты имеют большое значение в обеспечении гомеостаза в организме. Состояние медиаторных влияний на ЦНС и постоянное взаимодействие между их тормозными и возбуждающими эффектами имеют принципиальное значение для формирования защитно-приспособительных реакций и адаптации организма к изменившимся условиям среды, тогда как нарушение этого взаимодействия может привести к развитию патологических процессов не только ЦНС, но и других органов и систем организма [1].

В связи со сказанным целью настоящего исследования было изучение содержания в сыворотке крови больных распространённым псориазом тормозных и возбуждающих медиаторных аминокислот и определение их прогностического значения при проведении патогенетической терапии.

**Материал и методы.** Под наблюдением находилось 46 больных с распространённым псориазом в стадии обострения в возрасте от 20 до 60 лет (29 мужчин и 17 женщин.). Группу сравнения составили 15 практически здоровых лиц соответствующего возраста и пола (9 мужчин и 6 женщин).

В сыворотке крови определяли тормозные медиаторные аминокислоты – ГАМК, глицин, таурин, и возбуждающие – глутамат, аспартат. Для идентификации аминокислот применяли метод ионообменной хроматографии на ионитах. После разделения аминокислот на ионитах содержание регистрировали на автоматическом анализаторе аминокислот ТЗЗ9 (Чехия). Полученные результаты сравнивали со стандартными калибровочными графиками [8]. ГАМК

определяли также по E. Cormana, C. Vomes, V. Trolin, а глутаминовую аминокислоту – по E. Bernt, H.U. Bergmeyer [9, 10]. Полученные данные статистически обработали с оценкой достоверности отличий по Стьюденту–Фишеру.

**Результаты и их обсуждение.** У больных распространённым псориазом выявлены существенные нарушения в содержании медиаторных аминокислот, как у мужчин, так и у женщин, в отличие от группы условно-здоровых пациентов. При оценке состояния метаболически взаимосвязанной системы глутамат–ГАМК было установлено значительное ингибирование тормозных процессов и активация возбуждающих, что выражалось в снижении уровня ГАМК и повышении содержания в сыворотке крови глутаминовой аминокислоты (таблица). По-

участию глицинсинтазы с образованием аммиака, углекислоты и переносом метилового группы на тетрагидрофолат; повышение активности глициноксидазы и ускорение окисления глицина до глиоксильной кислоты, которая в дальнейшем превращается в щавелевую кислоту, и превращение глицина в серин. Содержание таурина, оказывающего, как и ГАМК и глицин, мощный тормозящий эффект в различных отделах головного и спинного мозга, сердечно-сосудистой и дыхательной системах, было существенно снижено у больных распространённым псориазом.

Как указывалось, содержание двух близких структурно-метаболических возбуждающих аминокислот – глутамата и аспартата, увеличивалось в сыворотке крови при псориазической патологии. Эти ами-

*Содержание медиаторных аминокислот в сыворотке крови больных распространённым псориазом, ( $M \pm t$ ) нмоль/мл*

Аминокислота	Больные			Условно-здоровые		
	муж+жен (n=46)	муж (n=29)	жен (n=17)	муж+жен (n=15)	муж (n=9)	жен (n=6)
Глицин	36,80±1,74*	35,40±2,38*	37,25±1,56*	49,60±1,83	47,32±2,56	51,60±2,10
ГАМК	23,40±1,82*	21,86±1,47*	24,20±1,33*	43,50±3,57	42,63±2,70	44,80±3,15
Таурин	15,70±0,73*	16,37±1,14*	14,66±1,38*	25,50±1,62	24,65±2,43	26,75±1,84
Аспартат	6,90±0,76*	6,37±0,45*	7,15±0,53*	3,50±0,25	3,90±0,40	3,45±0,37
Глутамат	30,20±2,62*	32,44±1,96*	29,73±2,45*	17,90±1,86	19,23±1,56	17,40±1,43

*Примечание.* \*  $p < 0,05$ .

скольку эти метаболические системы играют важную роль в формировании защитно-приспособительных реакций организма и обеспечивают его адаптацию к меняющимся условиям среды, то снижение коэффициента ГАМК/глутамат у больных псориазом до 0,8 против 1,7 в группе условно-здоровых пациентов свидетельствует о нарушении гомеостаза при развитии данной патологии и вовлечении в этот процесс других медиаторных систем, то есть серотонин-, норадреналин-, адреналин-, дофаминэргических [7]. Установленная недостаточность таурина и глицина была сопряжена с повышением содержания в сыворотке крови аспартата. Количество тормозной аминокислоты таурина было снижено в сыворотке крови при псориазе на 30 %, глицина – на 21 % при увеличении содержания аспартата на 48 %. Среди причин, способствующих снижению глицина в сыворотке крови, могут быть следующие: усиление ферментативного расщепления аминокислоты при

нокислоты действуют во многих структурах головного мозга, включая кору, гипоталамус, таламус, гиппокамп, мозжечок, ствол мозга, спинной мозг и сенсорные афферентные пути [2, 3]. Они играют важную роль в возникновении и распространении нейрональной гиперактивности и формировании судорожно-пароксизмальных реакций при многих патологических процессах и заболеваниях нервной системы. Накоплено большое число фактов, указывающих на то, что возбуждающие аминокислоты принимают участие в реализации эффектов многих нейромедиаторов и нейротропных средств [2, 3].

Таким образом, при распространённом псориазе в крови увеличено содержание возбуждающих медиаторных аминокислот – глутамата и аспартата, снижены количество тормозных аминокислот – ГАМК, таурина и глицина, и коэффициент ГАМК/глутамат.

Наши исследования показывают на сходное участие медиаторных аминокислот, в частности ГАМК, таурина, глицина, глу-

тамата и аспартата, в механизмах развития псориатической болезни как у мужчин, так и у женщин, которая сопровождается снижением тормозного контроля над процессом высвобождения возбуждающих медиаторов

и позволяет судить о важной роли нейрохимических процессов в патогенезе данной патологии, что является прогностически значимым при обосновании патогенетической терапии больных псориатической болезнью.

### Литература

1. Жуков В.И., Зайцева О.В., Пивень В.И. и др. Фториды: биологическая роль и механизм действия. Белгород, 2006. 263 с.
2. Раевский К.С., Георгиев В.Л. Медиаторные аминокислоты. М.: Медицина, 1986. 238 с.
3. Дамбинова С.А. Нейрорецепторы глутамата. Л.: Наука, 1989. 144 с.
4. Попова Л.Д., Жуков В.И., Григорова И.А. и др. Механизмы реализации нейротропных эффектов кинуренинов. Белгород, 2003. 232 с.
5. Жуков В.И., Мясоедов В.В., Козин Ю.И. и др. Детергенты-модуляторы радиомиметических эффектов. Белгород, 2000: 135–149, 163–168.
6. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань Н.Г. и др. Структурно-метаболические механизмы формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета под воздействием детергентов в связи с проблемой охраны водных экосистем. Харьков, 2001: 238–240, 245–249.
7. М'ясоедов В.В., Жуков В.І., Гонкалов В.Г. та ін. Моноамінергічні механізми потенційної судомної готовності головного мозку. Харків, 2000. 222 с.
8. Зорькин А.А., Курцер Б.М., Довжанский А.П. Метаболические процессы при некоторых экстремальных состояниях. Кишинев: Штиинца, 1985. 246 с.
9. Cormana E., Vomes C., Trolin V. Purification of GABA on small column of Dowex: combination with a method for separation of biogenic amines. Acta Pharm. et Toxicol. 1980; 46: 235–240.
10. Bernt E., Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen Analyse. Berlin, 1970; 3: 1659–65.

### СТАН МЕДІАТОРНИХ АМІНОКИСЛОТ У ХВОРИХ НА ПОШИРЕНИЙ ПСОРИАЗ

**Є.Г. Татузян**

У хворих на поширений псоріаз спостерігається збільшення у сироватці крові вмісту збуджувальних амінокислот – глутамату і аспартату, зниження кількості гальмівних амінокислот – ГАМК, гліцину і коефіцієнта ГАМК/глутамат, що веде до зниження гальмівного контролю над процесом вивільнення збуджувальних медіаторів, що має прогностичне значення при обґрунтуванні патогенетичної терапії хворих на псоріаз.

**Ключові слова:** медіаторні амінокислоти, нейропередавачі, збудження, гальмування, псоріаз.

### STATUS NEUROTRANSMITTER AMINO ACIDS IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PSORIASIS

**Ye.G. Tatuzyan**

During the study found that patients with widespread psoriasis, an increase in the serum content of excitatory amino acids – glutamate and aspartate, reduced the number of inhibitory amino acids – GABA, glycine and GABA factor / glutamate. This leads to a decrease in inhibitory control over the release of excitatory neurotransmitters, which is prognostically important in substantiating the pathogenetic therapy of patients with psoriatic disease.

**Key words:** mediator amino acids, neurotransmitters, excitation, inhibition, psoriasis.

Поступила 20.10.09

## ИЗМЕНЕНИЕ ФОНДА ИОНОВ ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

**В.А. Бондаренко, В.Н. Зовский\*, С.А. Наконечная\*,  
И.Ю. Базмут\*, Л.В. Коба**

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
\*Харьковский национальный медицинский университет*

Исследовано содержание железа в сердце, печени, почках, надпочечниках, селезёнке, сыворотке крови в токсикологическом опыте на белых крысах линии Вистар после 45-суточной пероральной затравки водными растворами 1/10, 1/100 и 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> неонолов. Выявлено, что под действием ксенобиотиков снижается содержание микроэлемента в органах и тканях на фоне снижения активности железосодержащих ферментов и увеличивается в крови. Это свидетельствует о нарушении адаптации организма к вредному воздействию ксенобиотиков.

**Ключевые слова:** микроэлементы, ксенобиотики, металлоферменты, адаптация организма.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на невысокую биологическую активность, поверхностно-активные вещества (ПАВ) оказывают сложное воздействие на организм. Они стимулируют резорбцию веществ в пищеварительном тракте, повышают содержание холестерина в крови, изменяют экскреторную функцию печени, водный и электролитный баланс организма. Все это свидетельствует о сложном влиянии данных соединений на биологические объекты. Недостаточно изученным остаётся вопрос о влиянии ПАВ различного происхождения на баланс микроэлементов организма теплокровных животных. Предметом нашего исследования были ПАВ, входящие в состав синтетических моющих средств отечественного производства, которые широко применяются в быту среди населения и могут попадать со сточными водами в источники хозяйственно-питьевого назначения. По мнению многих авторов, достаточно информативным элементом для характеристики изменений, происходящих в организме животных и человека под воздействием чужеродных веществ, является железо [1].

Биологическая ценность железа определяется многогранностью его функций, незаменимостью другими металлами в сложных биохимических процессах, активным участием в клеточном дыхании, обеспечивающим нормальное функционирование

тканей и органов. Основной функцией железа в организме является перенос кислорода [2] и участие в окислительно-восстановительных процессах посредством десятков железосодержащих ферментов (цитохромы, каталаза, пероксидаза) – гемопротеинов, основным структурным звеном которых является гем [3]. Большая часть железа в организме содержится в эритроцитах, много железа находится в клетках мозга. Железо играет важную роль в процессах выделения энергии, ферментативных реакциях, обеспечении иммунных функций, метаболизме холестерина и др. Лигандные комплексы железа стабилизируют геном, однако в ионизированном состоянии железо может являться индуктором ПОЛ [4], вызывать повреждения ДНК и провоцировать гибель клетки [5]. Всё железо в организме человека и теплокровных животных может быть разделено на быстро и медленно обменивающееся. К первой группе относится железо гемоглобина, а также плазмы и костного мозга, ко второй – железо клеточных ферментов, кислородного обмена, запасное железо [6]. Ферритин и гемосидерин – запасные соединения железа в клетке, находящиеся главным образом в макрофагальной системе печени, селезёнки, костного мозга. При некоторых наследственных и хронических заболеваниях [7], избыточном поступлении извне железо может накапливаться в организме [8], и, наоборот, при

необходимости и в случае интоксикации [9] запасы железа могут быть мобилизованы для нужд организма [10]. Обмен железа между транспортным и тканевым фондами изучен недостаточно. Это объясняется прежде всего тем, что механизмы, пути и количественные аспекты движения железа из тканей, исключая эритропоэтические, в плазму крови и наоборот изучены мало.

Регуляция содержания микроэлементов в организме осуществляется как нервной системой, так и железами внутренней секреции. Большинство авторов считает, что основным регуляторным механизмом микроэлементов в организме является система гипофиз – кора надпочечников, функциональное состояние которой зависит и теснейшим образом связано с деятельностью ЦНС. Именно эти системы в наибольшей мере подвержены изменениям при действии ПАВ на организм. В связи с этим можно предположить, что нарушения функциональной деятельности ЦНС и гипофизарно-надпочечниковой системы при попадании ПАВ в организм могут привести к определённым сдвигам количественного содержания микроэлементов в органах и тканях [11]. Исследованию этого параметра посвящена данная работа. Выбор группы неонотов марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ для исследования в значительной мере обусловлен необходимостью получения их комплексной медико-биологической характеристики и составления системы профилактических мероприятий, направленных на охрану водных объектов и здоровья населения, ввиду их широкого применения в народном хозяйстве.

Большая роль в поддержании постоянства внутренней среды организма принадлежит каталазе, она ускоряет разложение перекиси водорода на воду и молекулярный кислород, тем самым предохраняет живые существа от действия перекисей. Каталаза защищает гемоглобин от окислительных превращений под влиянием перекиси водорода, образующейся при обмене веществ в эритроцитах [12]. Она, как и гемоглобин, и цитохром С, в качестве простетической группы содержит гем и является сильным антиоксидантом. Пероксидаза играет важную роль в антирадикальной защите организма [4].

**Материал и методы.** Изучали содержание железа в сердце, печени, почках, надпочечниках, селезёнке, сыворотке крови половозрелых крыс (самцов) линии Вистар, подвергавшихся воздействию новых групп ксенобиотиков в подостром токсикологи-

ческом опыте. Вещества на основе оксиэтилированных алкил- и изононилфенолов марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ вводили ежедневно утром натошак с помощью металлического зонда перорально в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> в течение 45 суток. Содержание эритроцитов и гемоглобина определяли в динамике опыта, а также после его завершения при забое животных. Эритроциты регистрировали на фотоэлектроколориметре ФЭК-м с построением калибровочных кривых. Приготовление мазков и подсчёт кровяных телец осуществляли по общепринятым методикам [13]. Содержание иона железа определяли атомно-абсорбционным методом [14] по окончании эксперимента. Для проведения анализа органы и ткани подвергали предварительному озолению согласно [15, 16]. Полученный экстракт подавали в спектрофотометр и определяли содержание микроэлемента. Полученные результаты сравнивали с результатами эталонного образца. Определение каталазы крови проводили спектрофотометрически с субстратом H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [17], пероксидазы – с субстратом п-фенилендиамин [18]. Мерой активности фермента является время, необходимое для окисления субстрата. Активность глутатионпероксидазы эритроцитов определяли с реактивом Элмана [19]. Достоверность результатов оценивали с помощью компьютерной программы BIOM 9 group [20].

**Результаты и их обсуждение.** Во внеклеточных жидкостях железо находится в связанном состоянии в виде железобелковых комплексов. Концентрация его в плазме широко варьирует с достаточно большими суточными колебаниями. Уровень железа в плазме зависит от ряда факторов: взаимоотношения процессов разрушения и образования эритроцитов, всасывания в пищеварительном тракте. Однако наиболее важным фактором, определяющим уровень плазменного железа, является взаимоотношение процессов синтеза и распада эритроцитов. Так, в группах животных, которым вводили неонот АФ 9-12, на 15-е сутки наблюдения количество эритроцитов в крови уменьшалось на 31,25 %, а в группах животных, получавших неонот АФС 9-6 КМ, – на 11,36 % (табл. 1). На 30-е сутки опыта количество эритроцитов снизилось на 18,75 % у животных, подвергавшихся затравке неонотом АФ 9-12, и на 13,64 % – неонотом АФС 9-6 КМ. Уменьшение количества эритроцитов при дозе 1/10 ДЛ<sub>50</sub> на 15-е сутки, а также

Таблица 1. Динамика эритроцитов и гемоглобина у белых крыс под воздействием неонолов в подостром опыте ( $M \pm m$ )

Соединение	Доза ДЛ <sub>50</sub>	Фон	Сутки наблюдения	
			15-е	30-е
Эритроциты, Г/л				
АФ 9-12	1/10	4,80±0,20	3,3±0,1*	3,9±0,1*
	1/100	4,70±0,30	4,3±0,2	4,2±0,2
	1/1000	4,70±0,25	4,5±0,3	4,3±0,3
АФС 9-6 КМ	1/10	4,40±0,20	3,9±0,1*	3,8±0,3*
	1/100	4,50±0,20	4,7±0,2	4,5±0,2
	1/1000	4,70±0,24	4,5±0,3	4,4±0,3
Контроль	Вода	4,70±0,30	4,5±0,3	4,6±0,4
Гемоглобин, ммоль/л				
АФ 9-12	1/10	8,80±0,42	7,14±0,25*	6,17±0,28*
	1/100	9,15±0,22	8,70±0,43	7,14±0,25*
	1/1000	9,40±0,50	9,40±0,47	9,67±0,40
АФС 9-6 КМ	1/10	8,80±0,50	7,50±0,26*	6,80±0,23*
	1/100	8,80±0,17	7,20±0,36*	8,70±0,76
	1/1000	9,47±0,60	9,67±0,43	9,80±0,39
Контроль	Вода	9,46±0,63	9,50±0,45	9,70±0,36

Примечание. \*  $p < 0,05$ . Здесь и в табл. 2–4.

частичное к 30-м и полное к 45-м суткам восстановление количества эритроцитов в крови свидетельствует о включении приспособительных механизмов к стрессу и формированию адаптационного ответа на клеточном уровне.

При воздействии АФ 9-12 в дозе 1/100 ДЛ<sub>50</sub> похожие изменения наблюдались в более поздние сроки, пик снижения числа эритроцитов – на 10,64 % – пришёлся на 30-е сутки опыта. Снижение не наблюдалось вообще у животных, которые получали неонол АФС 9-6 КМ. При дозе 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> наблюдалось недостоверное снижение числа эритроцитов, и оно происходило в более поздние сроки, чем при действии большей дозы исследуемых веществ. Таким образом, можно определить дозу воздействия исследуемых ПАВ в 1/10 ДЛ<sub>50</sub> как токсическую, в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> как действующую, в 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> как недействующую.

Основным источником поступления плазменного железа является макрофагальная система органов, где происходит разрушение гемоглобина эритроцитов. При исследовании гемоглобина в динамике подострого опыта при дозе 1/10 ДЛ<sub>50</sub> установлено его небольшое снижение на 15-е сутки – на 19,05 % – при действии АФ 9-12 и

на 14,8 % при действии АФС 9-6 КМ. На 30-е сутки содержание гемоглобина снизилось на 29,9 % при действии АФ 9-12 и на 22,7 % при действии АФС 9-6 КМ (табл. 1).

Тенденция к нарастанию изменений в содержании гемоглобина в динамике опыта была сходной с таковой относительно содержания эритроцитов и тесно коррелировала с повышением концентрации плазменного железа (табл. 2). При дозе 1/100 ДЛ<sub>50</sub> эта тенденция сохранялась у животных, подвергавшихся воздействию АФ 9-12: к 30-м суткам снижение содержания гемоглобина достигло 21,9 %. При дозе 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> наблюдались недостоверные колебания в пределах нормы, что наталкивает на мысль о включении компенсаторных механизмов и о стимулирующем влиянии данной дозы веществ на организм теплокровных животных.

Результаты исследований показали, что неонолы групп АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ, действуя на организм, приводят в основном к перераспределению железа в органах и тканях животных.

Изучаемые вещества в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ<sub>50</sub> приводят к снижению содержания железа в органах и к накоплению в сыворотке крови. Более значимые изменения динамики микроэлемента обнаружены под

Таблица 2. Динамика содержания железа в организме белых крыс под влиянием неонов

Соединение	Доза ДЛ <sub>50</sub>	Содержание Fe в тканях и органах, (M±m) ммоль/л сыворотки крови, мг/100 г ткани					
		сыворотка крови	печень	надпочечники	почки	сердце	селезёнка
АФ 9-12	1/10	52,40±2,46*	1,16±0,07	8,39±0,52	7,55±0,48	22,48±1,95	8,57±0,33*
	1/100	53,75±2,37	1,18±0,09	8,75±0,43	8,00±0,43	25,33±1,73	9,96±0,55
	1/1000	50,2±2,15*	1,22±0,06	8,83±0,66	7,92±0,52	24,07±2,16	11,2±0,71
Контроль	Вода	40,30±2,53	1,26±0,05	9,02±0,46	7,78±0,36	23,12±2,09	10,01±0,49
АФС 9-6 КМ	1/10	56,6±3,41*	1,65±0,06*	7,05±0,82	6,6±0,45	22,74±0,95	9,85±0,77
	1/100	50,1±2,55*	1,82±0,08*	7,33±0,74	6,9±0,23	23,47±1,20	10,03±0,62
	1/1000	48,8±3,11*	1,93±0,07	8,14±0,58	7,1±0,36	24,16±2,06	10,93±0,33
Контроль	Вода	42,55±2,15	2,01±0,04	8,95±0,97	7,2±0,55	25,34±1,73	10,25±0,38

влиянием АФС 9-6 КМ, действие которого в дозе 1/10 ДЛ<sub>50</sub> повышало содержание иона металла в сыворотке крови на 33 %,  $p < 0,05$  (табл. 2), достоверно снижало (на 18 %) в печени и на 21 % в надпочечниках; в дозе 1/100 ДЛ<sub>50</sub> снижало активность железосодержащих ферментов: пероксидазы на 17,0 %, каталазы на 43,1 %, глутатионпероксидазы на 31,1 % к 45-м суткам (табл. 3, 4).

постепенное снижение активности под воздействием АФ 9-12 к 45-м суткам эксперимента свидетельствует о некотором различии во влиянии исследуемых детергентов на металлоферменты. Данные результаты изменения фонда биогенного элемента могут объясняться способностью детергентов к комплексообразованию с ионами металлов и последующим перераспределением

Таблица 3. Динамика активности пероксидазы и каталазы в подостром опыте при воздействии неонов (каталазное число) (M±m)

Соединение	Доза ДЛ <sub>50</sub>	Сутки наблюдения		
		15-е	30-е	45-е
Пероксидаза				
АФ 9-12	1/10	39,50±1,17	39,77±3,01	41,61±2,28
	1/100	37,03±1,63	38,27±5,26	42,42±3,15
АФС 9-6 КМ	1/10	38,33±1,80	42,89±1,54*	43,77±2,45*
	1/100	37,27±3,87	39,00±5,79	41,56±2,90
Контроль	Вода	36,23±3,20	35,20±3,67	37,40±3,72
Каталаза				
АФ 9-12	1/10	0,728±0,042	0,527±0,018*	0,432±0,022*
	1/100	0,732±0,036	0,536±0,013*	0,446±0,034*
АФС 9-6 КМ	1/10	0,660±0,035*	0,405±0,007*	0,394±0,033*
	1/100	0,698±0,024	0,422±0,007*	0,408±0,024*
Контроль	Вода	0,722±0,031	0,686±0,036	0,692±0,045

Повышение активности антиоксидантных ферментов даёт основание судить о повышении свободнорадикальных процессов и формировании оксидативного стресса при длительном воздействии ксенобиотиков. Резкое снижение активности ферментов под воздействием АФС 9-6 КМ на 30-е сутки опыта, почти неизменное на 45-е сутки, и

этих веществ в клетках, тканях и организме в целом.

Неонол АФ 9-12 вызывал повышение содержания исследуемого металла в крови на 30 % и достоверное снижение – на 19 % – в надпочечниках, не изменял содержание железа в печени, почках, сердце (см. табл. 2), что может подтверждать механизм действия не-

Таблица 4. Влияние неонов на активность глутатионпероксидазы сыворотки крови на 45-е сутки наблюдения, ( $M \pm m$ ) доза 1/100 ДЛ<sub>50</sub>

Соединение	мМ GSH мг/л
АФ 9-12	40,22±2,40*
АФС 9-6 КМ	39,72±3,45*
Контроль	57,63±2,47

ионогенных ПАВ, которые метаболизируются организмом незначительно и выводятся в менее изменённом виде, чем ионогенные. Под влиянием дозы 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> в селезёнке установлено незначительное повышение содержания железа. Это, вероятно, мобилизует данный достаточно весомый кроверазрушающий орган к усилению эритропоэза, а следовательно, к включению механизма долговременной адаптации.

Следует полагать, что испытываемые детергенты, обладая мембраноповреждающим действием, способствуют выходу микроэлементов в межтканевую жидкость, а в

дальнейшем в кровеносное русло, то есть исследуемые ПАВ вызывают глубокие нарушения обмена микроэлементов и структурной организации мембран.

### Выводы

1. Неонолы марок АФ 9-12 и АФС 9-6 КМ в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ<sub>50</sub> способствуют выходу микроэлементов в межтканевую жидкость, а в дальнейшем в кровеносное русло, что обуславливает глубокие нарушения обмена.

2. Исследуемые в работе ксенобиотики приводят к повышению активности ферментов, которые являются ключевыми в антиоксидантной защите клетки и регуляции окислительно-восстановительных процессов.

3. Исследуемые поверхностно-активные вещества в дозах ДЛ<sub>50</sub> 1/10 и 1/100 активизируют приспособительные реакции организма, вызывая формирование долговременной адаптации к воздействию токсикологического фактора. Доза 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> не действующая.

### Литература

1. Смоляр В.И. Гипо- и гипермикроэлементозы. К.: Здоров'я, 1989. 152 с.
2. Иванов К.П. Современные представления о транспорте кислорода из крови в ткани. Успехи физиол. наук 2001; 32, 4: 3–22.
3. Мінаєв Б.П., Мінаєв О.Б., Говорун Д.М. Дослідження інфрачервоного спектра молекули Fe(II)-порфіну в різних спінових станах квантово-хімічним методом функціоналу густини. Біополімери і клітина 2007; 23, 6: 519–528.
4. Щербань Н.Г., Горбач Т.В., Мішура А.И. Методические аспекты изучения состояния антиоксидантной системы организма и уровня перекисного окисления липидов: Метод. рекоменд. для докторантов, аспирантов, магистров, исполнителей НИР. Харьков: ХГМУ, 2004. 40 с.
5. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. М.: ОНИКС, 2004. 272 с.
6. Соколов А.В., Пулина М.О., Захарова Е.Т. и др. Влияние лактоферрина на ферроксидазную активность церулоплазмينا. Биохимия 2005; 70, 9: 1231–36.
7. Экмекси О.Б., Донма О., Сардоган Э. и др. Содержание железа, окиси азота и миелопероксидазы у пациентов с бронхиальной астмой. Биохимия 2004; 69, 4: 568–574.
8. Протасова О.В., Максимов И.А., Ботвин М.А. и др. Исследование взаимосвязи между дисбалансом содержания макро- и микроэлементов в организме и развитием морфологических дезинтеграций в биологических жидкостях и тканях. Физиол. человека 2007; 33, 2: 104–109.
9. Орлов Ю.П., Долгих В.Т., Притыкина Т.В., Ершов А.В. Нарушенный обмен железа как маркер тяжести состояния пациентов реанимационного профиля. Физиол. человека 2007; 33, 1: 109–113.
10. Мельников А.А., Викулов А.Д. Взаимосвязь минерального обмена и реологических свойств крови у спортсменов. Физиол. человека 2003; 29, 2: 48–56.
11. Зайцева О.В., Жуков В.И., Кратенко Р.И., Дехтярь А.В. Гигиеническая оценка фонда микроэлементов при воздействии на организм макроциклических и простых полиэфиров. Эпидемиол., экол. и гигиена: Сб. матер. итог. регион. науч.-практ. конф. 1999; 2: 158–159.
12. Winston G.W., Di Giulio R.T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquatic Toxicol. 1991; 19: 137–161.
13. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М: Медицина, 1987. 368 с.
14. Брицке М.Е. Атомно-абсорбционный спектрохимический анализ. М.: Химия, 1982. 280 с.
15. Лойко Е.А. Спектрохимическое определение микроэлементов в сыворотке и моче. Лаб. дело 1967; 7: 403–406.
16. Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. К.: Здоров'я, 1968. 136 с.

17. Дубинина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Сафронова Л.Н. Методы определения активности каталазы. Лаб. дело 1988; 8: 16–19.

18. Лошинский А.В., Афанасенко Г.А., Гудкова Е.В. Определение активности ферментов фибринолитической системы с использованием фибриногена, конъюгированного с пероксидазой. Лаб. дело 1991; 11: 27–31.

19. Меин В.М. Простой и специфический метод определения активности ГПО в эритроцитах. Лаб. дело 1986; 12: 724–727.

20. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.

#### **ЗМІНА ФОНДУ ІОНІВ ЗАЛІЗА В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ І ЇЇ ВПЛИВ НА АНТИОКСИДАНТНІ ФЕРМЕНТИ**

**В.А. Бондаренко, В.Н. Зовський, С.А. Наконечна, І.Ю. Багмут, Л.В. Коба**

Досліджено склад мікроелементу заліза в серці, печінці, нирках, наднирковій залозі, селезінці, сироватці крові в токсикологічному досліді на білих щурах лінії Вістар після 45-добової пероральної затравки водними розчинами 1/10, 1/100 і 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> неонолів. Визначено, що під впливом ксенобіотиків знижується вміст мікроелементу в органах і тканинах на фоні зниження активності залізовмісних ферментів й накопичується в крові. Це свідчить про порушення адаптації організму до шкідливої дії ксенобіотиків.

**Ключові слова:** мікроелементи, ксенобіотики, металоферменти, адаптація.

#### **ALTERATION OF ION FERRUM FUND IN RATS ORGANISM AT INFLUENCE OF XENOBIOTICS AND ITS INFLUENCE AT ANTIOXIDANTAL FERMENTS**

**V.A. Bondarenko, V.N. Zovskiy, S.A. Nakonechnaya, I.Yu. Bagmut, L.V. Coba**

There was studied a structure of microelement of ferrum in the heart, liver, kidneys, adrenal glands, spleen, blood serum in toxicological experiment on white rats of WAG line after 45 days peroral feeding by water solution 1/10, 1/100 and 1/1000 DL<sub>50</sub> neonols. There was found, that under influence of xenobiotics the content of microelement is decreased in organs and tissues on the background of decrease of activeness of ferrum contained ferments and accumulation in blood. It attests to disturbance of organism adaptation to injurious influence of xenobiotics.

**Key words:** microelements, xenobiotics, ferroferments, adaptation.

Поступила 14.09.09

## ВМІСТ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ І АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ЇХНЬОГО СИНТЕЗУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ ПРОСТИХ ПОЛІЕФІРІВ

*О.А. Наконечна, В.І. Жуков, С.О. Стеценко*

*Харківський національний медичний університет*

За умов впливу простих поліефірів вивчено вміст циклічних нуклеотидів і активність ферментів їхнього синтезу в гомогенаті головного мозку експериментальних тварин. Встановлено підвищення активності гуанілатциклазної месенджерної системи на фоні зниження аденілатциклазної, що свідчить про інтегративні порушення стану внутрішньоклітинного метаболізму.

**Ключові слова:** циклічні нуклеотиди, аденілатциклаза, гуанілатциклаза.

Вплив багатьох шкідливих антропогенних факторів, зокрема ксенобіотиків, призводить до зміни відносної сталості внутрішнього середовища і дестабілізації біохімічних і фізіологічних процесів. Група простих поліефірів (ППЕ) на основі пропіленгліколів (ПГ), гліцеролу і пропіленгліколів (ПнПГ) широко використовується в різних галузях народного господарства як основа промислового випуску пластмас, пінопластів, епоксидних смол, лаків, поліуретанів, миючих засобів, а також у практичній і експериментальній медицині в якості кріопротекторів і пролонгаторів дії лікарських препаратів. Вплив багатьох хімічних факторів супроводжується зміною рівня біологічно активних речовин – медіаторів ЦНС, вторинних месенджерів, а також активності ферментів, що забезпечують їх синтез [1].

Циклічний-3'5'-аденозинмонофосфат (цАМФ) і циклічний-3'5'-гуанозинмонофосфат (цГМФ) належать до універсальних фізіологічних регуляторів метаболічних процесів організму. Вони є компонентами складної системи внутрішньоклітинних месенджерів, яка вбирає у себе також іони кальцію, олігоаденілати, метаболіти фосфоінозитидного циклу [2]. Визначенню цАМФ і цГМФ присвячені численні роботи, насамперед пов'язані з вивченням активності ферментів їхнього синтезу і розпаду (аденілатциклази, гуанілатциклази, фосфодіестерази), взаємозв'язку з медіаторами ЦНС (біогенними моноамінами, нейроактивними амінокислотами) [1–3]. Попередніми дослідженнями встановлено, що тривалий вплив ППЕ на головний мозок щурів супроводжується суттєвим підвищенням рівня

глутамату і аспартату на фоні зниження вмісту ГАМК і гліцину. Доведено, що за фізіологічних умов існує стабільна рівновага між активністю глутаматергічної й ГАМК-ергічної нейротрансмітерних систем. Виявлена різниця в напрямках змін рівня збуджувальних і гальмівних амінокислот свідчить про те, що у розвитку наслідків тривалого токсичного впливу ППЕ бере участь не тільки феномен «ексайтотоксичності», а й формування дисбалансу між збуджувальними і гальмівними механізмами з ознаками недостатності захисного гальмування. Для функціонування глутаматних рецепторів важливе значення мають цГМФ і іони  $Ca^{2+}$ . Циклічний ГМФ бере участь у реалізації головних механізмів глутамат-кальцієвого каскаду: «глутаматної ексайтотоксичності», накопичення внутрішньоклітинних іонів кальцію, оксидативного стресу із надлишковим синтезом оксиду азоту. У зв'язку зі сказаним становило інтерес вивчити активність аденілат- і гуанілатциклазної месенджерних систем головного мозку щурів при дії простих поліефірів.

Метою даної роботи було вивчення вмісту циклічних нуклеотидів цАМФ і цГМФ й активності ферментів їхнього синтезу в гомогенаті головного мозку щурів за умов тривалого впливу простих поліефірів у дозі 1/100 ДЛ<sub>50</sub>.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили на статевозрілих трьохмісячних щурах-самцях популяції Вістар масою 180–220 г. Тваринам протягом одного місяця одноразово внутрішньошлунково натщесерце зондом вводили водні розчини: ППЕ на основі ПГ з молекулярною масою 192, 540, 1120, 2106 (ПГ-192, ПГ-540, ПГ-1120,

ПГ-2106); ППЕ на основі Гл і ПГ з молекулярною масою 498, 1136 (ГлПГ-498, ГлПГ-1136); ППЕ на основі Пн і ПГ з молекулярною масою 700, 790 (ПнПГ-700, ПнПГ-790). Розрахунок необхідної для введення кількості речовин проводили, виходячи з даних про параметри їхньої токсичності. В попередніх дослідженнях було встановлено, що найбільш оптимальною дозою для вивчення стану показників біохімічних процесів в організмі експериментальних тварин є 1/100 ДЛ<sub>50</sub>, яка відповідно складала для ПГ-1120 – 0,048 г/кг маси тварин; ПГ-2106 – 0,0145 г/кг; ПГ-192 – 0,0304 г/кг; ПГ-540 – 0,018 г/кг; ГлПГ-498 – 0,21 г/кг; ГлПГ-1136 – 0,015 г/кг; ПнПГ-700 – 0,15 г/кг; ПнПГ-790 – 0,17 г/кг. Щурам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. По закінченні експерименту тварин декапітували гільйотинним ножом, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію (50 мг/кг в/п) [4].

Вміст цАМФ і цГМФ у гомогенатах головного мозку визначали радіоімунним методом з використанням наборів реактивів фірми Amersham (Великобританія). Метод базується на конкурентній взаємодії міченої речовини з радіоактивним антигеном у реакції з антитілами. Визначення проводилося за допомогою сцинтиляційного лічильника СВС-2, бета-аналізатора «Бета-2» за загальноприйнятою методикою. Білок визначали за методом Lowry [5].

Активність аденілатциклази (АЦ) у гомогенаті головного мозку визначали за методом [6] із незначними модифікаціями, гуанілатциклази (ГЦ) – за методом [7]. Для отримання гомогенату брали 200 мг тканини головного мозку й гомогенізували у 8 мл 50 мМ трис-НСІ буфера (рН 7,5); 5 мМ теофіліну, 4 мМ MgCl<sub>2</sub> на холоді у скляному гомогенізаторі (80 up/down). Гомогенат центрифугували при 1500 g і температурі 4 °С протягом 5 хв. Супернатант центрифугували при 18000 g і 0–4 °С протягом 30 хв. Кінцевий осад регомогенізували в 1,5 мл того ж буфера. Середовище інкубації для визначення активності АЦ містило 50 мМ трис-НСІ буфера (рН 7,5), 5 мМ креатинфосфокінази, а для визначення ГЦ – 50 мМ трис-НСІ буфера (рН 7,5), 10 мМ теофіліну, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 4 мМ креатинфосфату, 0,1 мг/мл креатинфосфокінази. Субстрати відповідних реакцій готували в концентраціях: АТФ – 2 мМ, ГТФ – 1 мМ. При визначенні базального рівня активності АЦ до складу реакційної суміші в експериментальних

пробірках входило 75 мкл середовища інкубації, 10 мкл АТФ, 30 мкл біоматеріалу (45 мкг білка), у контрольних – 75 мкл середовища інкубації й 30 мкл біоматеріалу. При аналізі активності ГЦ реакційна суміш була такою: у дослідних пробірках – 125 мкл середовища інкубації, 10 мкл ГТФ й 30 мкл біоматеріалу; у контрольних – 125 мкл середовища інкубації і 30 мкл біоматеріалу. Біоматеріал додавали до реакційної суміші в останню чергу. Дослідні й контрольні пробірки інкубували при 37 °С 10 хв на водяній бані. Реакцію зупиняли кип'ятінням на водяній бані протягом 2 хв. Після кип'ятіння до контрольних пробірок додавали таку ж кількість субстрату (АТФ або ГТФ відповідно), характерну для дослідних пробірок. Дослідні й контрольні проби центрифугували при 3 500 g протягом 15 хв. Відбирали аліквоту 100 мкл, переносили в посуд для висушування. Активність АЦ і ГЦ визначали за накопиченням продуктів ферментативної реакції – цАМФ і цГМФ, тобто за різницею між дослідною і контрольною пробами.

Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стьюдента [8].

**Результати та їх обговорення.** У ході дослідження процесів внутрішньоклітинної медіації в організмі щурів за умов дії ППЕ в дозі 1/100 ДЛ<sub>50</sub> на 30-ту добу спостереження було виявлено зміну практично всіх досліджених ланок системи вторинних месенджерів (таблиця).

Досліджувані речовини призводили до достовірного зменшення вмісту цАМФ в середньому на 28 % на фоні підвищення вмісту цГМФ на 23 % порівняно з контрольною групою тварин. Виявлені зміни вмісту циклічних нуклеотидів добре корелювали зі змінами активності ферментів їхнього метаболізму. Так, за умов впливу ППЕ спостерігалось зниження активності АЦ у головному мозку тварин на 27 % на фоні підвищення ГЦ на 24 % порівняно з контролем.

Отримані результати переконливо свідчать про активацію гуанілатциклазної й інгібування аденілатциклазної месенджерних систем у головному мозку експериментальних тварин. Виявлені зміни також підтверджують переважання процесів збудження над процесами гальмування у ЦНС щурів за умови тривалої дії ППЕ. Крім того, суттєве підвищення вмісту цГМФ є також причиною підвищення активності глутаматергічної нейротрансмітерної системи.

*Вміст циклічних нуклеотидів і активність ферментів їхнього синтезу в гомогенаті головного мозку щурів за дії простих полієфірів ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )*

Речовина	Аденілатциклаза, пмоль цАМФ/ (хв·мг білка)	цАМФ, пмоль/мг білка	Гуанілатциклаза, пмоль цГМФ/ (хв·мг білка)	цГМФ, пмоль/мг білка
Контроль	108,6±8,7	5,6±0,4	74,6±6,5	0,58±0,03
<i>Прості полієфіри на основі пропіленгліколів</i>				
ПГ-192	83,7±6,5	4,6±0,3	89,6±6,7	0,68±0,03
ПГ-540	72,5±5,9	4,1±0,4	96,4±7,2	0,72±0,04
ПГ-1120	84,1±5,3	4,3±0,4	94,1±6,8	0,69±0,03
ПГ-2106	69,0±2,4	3,8±0,3	98,2±7,1	0,75±0,05
<i>Прості полієфіри на основі гліцеролу і пропіленгліколів</i>				
ГлПГ-498	84,1±3,8	4,0±0,3	89,5±7,0	0,70±0,05
ГлПГ-1136	70,4±5,2	3,7±0,4	96,4±6,8	0,76±0,04
<i>Прості полієфіри на основі пентолу і пропіленгліколів</i>				
ПнПГ-700	84,3±4,0	4,1±0,3	89,2±6,3	0,71±0,03
ПнПГ-790	83,7±3,8	3,9±0,4	88,3±7,2	0,70±0,04

*Примітка.*  $p < 0,05$  відносно контролю.

Активация глутаматных рецепторов є одним з основних шляхів, що призводять до продукції вільних радикалів внаслідок кальційзалежної активації каскаду арахідонової кислоти, синтезу оксиду азоту [9].

Відомо, що елементи аденілатциклазного і гуанілатциклазного комплексів є інтегральними мембранними білками, тому активність АЦ і ГЦ найбільшою мірою залежить від стану клітинних мембран. Стан системи вторинних посередників – циклічних нуклеотидів – у головному мозку тварин, на нашу думку, є відображенням суттєвих змін в інтегративній системі «нейрогормон – рецептор – внутрішньоклітинний циклазний каскад». Система циклічних нуклеотидів у щурів характеризується пригніченням ланки аденілатциклаза – цАМФ і активацією ланки гуанілатциклаза – цГМФ, що може пояснюватися стимулюва-

ним станом рецепторів, які пригнічують активність АЦ ( $D_2$ -дофамінових,  $HT_1$ -серотонінових рецепторів), і тих, що стимулюють фосфоінозитидний каскад, учасником якого є Н-рецептори (зокрема,  $\alpha_1$ -адренорецептори і  $HT_2$ -серотонінові рецептори).

#### Висновки

Прості полієфіри впливають на стан системи пострецепторної реалізації сигналів: активують гуанілатциклазну й інгібують аденілатциклазну месенджерні системи, що підтверджується підвищенням активності гуанілатциклази і вмісту цГМФ на фоні зниження активності аденілатциклази і вмісту цАМФ.

Отримані дані щодо змін активності ферментів синтезу циклічних нуклеотидів свідчать про мембранотропну дію досліджуваних сполук.

#### Література

1. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986. 280 с.
2. Дорофеев Г.И., Кожемякин Л.А., Ивашкин В.Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма. Л.: Наука, 1978. 182 с.
3. Федоров Н.А., Радуловацкий М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. М.: Медицина, 1990. 176 с.
4. Ланг С.М., Уилсон Д. Лабораторная крыса. Лаб. животные 1993; 3, 2: 100–110.
5. Lowry O.H., Rosen-Brough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951; 193: 265–275.
6. Юдаев Н.А., Афиногенова С.А., Казеев К.Н. Активность аденилатциклазы и содержание циклических нуклеотидов в опухолях надпочечников человека при синдроме Иленко–Кушинга. Биохимия 1981; 46, 1: 55–61.

7. Чирков Ю.Ю., Тыщук И.А., Белушкина Н.Н. Гуанилатциклаза тромбоцитов крови человека. Биохимия 1987; 52, 6: 956–963.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 154 с.
9. Копаниця М.В. Позасинаптичні рецептори нейротрансмітерів: поширення, механізми активації та фізіологічна роль. Нейрофізіологія 1997; 27, 6: 448–458.

**СОДЕРЖАНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ИХ СИНТЕЗА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОСТЫХ ПОЛИЭФИРОВ**

**О.А. Наконечная, В.И. Жуков, С.А. Стеценко**

Изучено содержание циклических нуклеотидов и активность ферментов их синтеза в гомогенате головного мозга экспериментальных животных в случае влияния простых полиэфиров. Установлено повышение активности гуанилатциклазной на фоне снижения аденилатциклазной мессенджерной системы, что свидетельствует об интегративных нарушениях состояния внутриклеточного метаболизма.

**Ключевые слова:** циклические нуклеотиды, аденилатциклаза, гуанилатциклаза.

**CONTENTS OF CYCLIC NUCLEOTIDES AND ACTIVITY OF THEIR SYNTHESIS ENZYMES IN RATS BRAIN AT CONDITIONS OF POLYETHERS ACTION**

**O.A. Nakonechna, V.I. Zhukov, S.A. Stetsenko**

The research displays the action of polyethers upon cyclic nucleotides contents and their synthesis enzymes in experimental rat brain. The article establishes the increase in guanylat cyclase activity on the background of decrease in adenyлат cyclase messenger system, which signifies integrative status disturbances of intracellular metabolism.

**Key words:** cyclic nucleotides, adenyлат cyclase, guanylat cyclase.

Поступила 15.11.09

## ТЕРАПІЯ

### ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА

*П.П. Гуйда, С.П. Молотягина*

*Харьковский национальный медицинский университет  
ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины», г. Харьков*

На основании данных литературы и собственных наблюдений детально освещены характерные клинические проявления и важные лабораторные показатели, лежащие в основе диагностики антифосфолипидного синдрома, приведены современные диагностические критерии заболевания, отражены принципы терапии.

**Ключевые слова:** антифосфолипидный синдром, клиника, классификация, диагностические критерии, лечение.

Антифосфолипидный синдром (синдром Hughes) – аутоиммунное системное заболевание, связанное с поражением различных органов и систем [1–6]. Достоверных данных об истинной распространённости заболевания нет [1, 2].

Центральной клинико-патогенетической проблемой антифосфолипидного синдрома (АФС) является склонность к образованию тромбов в мелких и крупных сосудах. В основе клинических и лабораторных проявлений заболевания лежит взаимодействие антифосфолипидных антител с антигенами [1–3]. Основными патогенетическими нарушениями при АФС считаются изменения количества (тромбоцитопения) и функциональной активности тромбоцитов (увеличение продукции тромбоксана А<sub>2</sub> и агрегационной способности), свойств эндотелиальных клеток (снижение синтеза простациклина, увеличение продукции факторов активации и агрегации тромбоцитов, эндотелина-1, снижение активности антитромбогенного белка тромбомодулина, угнетение выработки фибринолитических факторов), функции ответственных за гемостаз гуморальных агентов, а также структурно-функциональные расстройства со стороны нервной системы. Патогенетическая же роль антифосфолипидных антител в тромбообразовании до конца не изучена. Считается, что они лишь создают гиперкоагуляционный фон, формирование же тромба происходит под влиянием различных разре-

шающих прокоагуляционных факторов – курения, беременности, травм, оперативных вмешательств и др. [1, 2, 4].

К факторам риска развития сосудистых тромбозов при АФС относятся:

- ожирение, гиперлипидемия, сахарный диабет, нефротический синдром, курение;
- длительный постельный режим, иммобилизация, послеоперационные состояния, беременность и послеродовый период;
- синдром повышенной вязкости, васкулиты, миелопролиферативные заболевания, опухоли, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, гемоцистинурия;
- наследственные тромбофилические состояния типа дефицита белка С или белка S, мутация гена фактора V.

В то же время при гистологическом исследовании сосудов больных АФС не были выявлены признаки воспаления в зоне формирующегося тромба, что свидетельствует о нецелесообразности применения глюкокортикостероидов при первичном АФС.

Среди основных клинических проявлений АФС наиболее часто (более 30 %) встречаются венозные (рецидивирующие тромбозы глубоких вен нижних конечностей, лёгочных сосудов, сосудов печени, почек, сетчатки) и артериальные (периферические гангрены, церебральные нарушения, инфаркт миокарда, тромбоз артерий сетчатки) тромбозы, привычное невынашивание беременности (спонтанные аборт в ранних сроках беременности), тромбоцитопения, пора-

жение ЦНС, сетчатое ливедо, трофические язвы голени, около- и подногтевые инфаркты. Для лёгочной патологии характерны тромбоэмболия лёгочной артерии и лёгочная гипертензия. Артериальная гипертензия, наряду с поражением клапанного аппарата сердца, считается одним из наиболее частых сердечно-сосудистых проявлений АФС [7–9]. К другим кардиологическим нарушениям относятся инфаркт миокарда, внутрисердечные тромбы, окклюзия шунта, эндокардит и пороки сердца при системной красной волчанке. Поражения печени могут проявляться синдромом Бадда–Киари, инфарктом печени, узловой регенеративной гиперплазией печени, повышением активности трансаминаз. Почечная патология проявляется тромбозом почечных артерий, инфарктами почек, внутриклубочковым микротромбозом, артериальной гипертензией, почечной недостаточностью. Часты также протеинурия (96 %) и нарушение фильтрационной функции почек (71 %) [9]. При поражении надпочечников отмечаются надпочечниковая недостаточность, тромбоз центральной вены, синдром Аддисона. К глазным нарушениям относятся тромбозы артерий и вен сетчатки, инфаркт сетчатки, атрофия зрительного нерва. Признаками поражения костной системы являются остеопороз и асептический некроз костей. Неврологические проявления чаще представлены цереброваскулярными нарушениями – рецидивирующими транзиторными ишемическими атаками и ишемическими инсультами [4]. Кроме того, могут наблюдаться мигрень, хорей, судороги, деменция, поперечный миелит, психические нарушения, симптомы, напоминающие рассеянный склероз. Для акушерской патологии, кроме спонтанных аборт в ранних сроках беременности, характерны повторная внутриутробная гибель плода во II–III триместре, плацентарные тромбозы и инфаркты, поздний токсикоз, преэклампсия и эклампсия, задержка внутриутробного развития плода, HELLP-синдром. Гематологические изменения обычно проявляются тромбоцитопенией, гемолитической анемией, синдромом Эванса, редко – сочетанием гемолитической анемии и тромбоцитопении.

При вторичном АФС, наряду с указанными признаками, наблюдаются клинические проявления основного заболевания – системной красной волчанки, системной склеродермии, ревматоидного артрита, болезни Шегрена, системного васкулита.

Согласно современной классификации, предусмотрено выделение первичного, вторичного, катастрофического и серонегативного АФС [1–5, 10, 11].

При первичном АФС, встречающемся в 50 % случаев, не находят каких-либо известных причин его возникновения.

Вторичный АФС развивается на фоне аутоиммунных заболеваний (системная красная волчанка, системная склеродермия и др.), приёма медикаментов (новокаинамид, хинидин, гидралазин, Д-пеницилламин, изониазид, аминазин), вирусных и бактериальных инфекционных заболеваний и злокачественных опухолей.

Катастрофический АФС характеризуется внезапно возникшей и быстро развивающейся полиорганной недостаточностью, чаще в ответ на провоцирующие факторы – стресс, инфекцию, оперативные вмешательства. Вследствие множественных артериальных и венозных тромбозов, нередко сочетающихся с кровотечениями, возникают нарушения мозгового и коронарного кровообращения, тромбоэмболия лёгочной артерии, острая почечная недостаточность с артериальной гипертензией, надпочечниковая недостаточность, лёгочная недостаточность, гангрена, гемолитико-уремический синдром, острый респираторный дистресс-синдром и др. Летальность без лечения при этой форме АФС достигает 60–70 % [4].

Серонегативным считается АФС с типичными клиническими проявлениями при отсутствии антифосфолипидных антител, определение которых проводилось всеми тремя методами (выявление антител к кардиолипину методом иммуноферментного анализа, тесты на волчаночный антикоагулянт и ложноположительная реакция Вассермана).

Немаловажной проблемой до настоящего времени остаётся диагностика АФС, представляющая значительные трудности для врачей различных специальностей, в том числе ревматологов [4, 5, 11–13]. Диагностика заболевания базируется на совокупности характерных клинических проявлений и лабораторных показателей, при этом ведущими считаются клинические проявления.

Причиной диагностических ошибок, имевших место при первичном и вторичном АФС, в большинстве случаев является, на наш взгляд, недооценка врачами симптоматики заболевания и признаков системности поражения. Подтверждением тому могут

служить наши наблюдения в течение последних двух лет.

Больная С., 51 года, поступила в ревматологическое отделение 1 ноября 2007 г. с жалобами на резкую общую слабость, головокружение, сердцебиение, одышку при не большой физической нагрузке, боли в области сердца давящего характера, сухой мучительный кашель, быструю утомляемость, повышение температуры тела до субфебрильных цифр, периодически до 40 °С. Считает себя больной с января 2001 г., когда развился острый тромбоз левой общей бедренной вены, по поводу чего оперирована в НИИ общей и неотложной хирургии (г. Харьков). В дальнейшем отмечались общая слабость, рецидивирующий тромбофлебит, артериальная гипертензия, сахарный диабет, периодически лихорадка. С марта 2007 г. у больной отмечались повторные тромбоэмболии лёгочной артерии, по поводу чего она лечилась в клиниках Киева и Харькова. В большинстве клиник регистрировали анемию и повышение СОЭ до 51–53 мм/ч. Были диагностированы ИБС, стабильная стенокардия, гипертоническая болезнь II ст., пролапс митрального клапана, хронический тромбофлебит глубоких вен левой нижней конечности, тромбоэмболия лёгочной артерии, сахарный диабет, хронический гепатит, спленомегалия, хотя больная неоднократно консультирована ревматологами. При обследовании в августе 2007 г. в Институте терапии им. Л.Т. Малой были обнаружены антифосфолипидные антитела.

Наличие типичных клинических проявлений (рецидивирующие тромбофлебиты глубоких вен нижних конечностей, острый тромбоз левой общей бедренной вены, повторные тромбоэмболии лёгочной артерии, артериальная гипертензия) и обнаружение антифосфолипидных антител позволили диагностировать определённый АФС.

Во втором случае у больной Т., 36 лет, на протяжении восьми лет отмечались многократные спонтанные аборт в ранних сроках беременности, рецидивирующие тромбофлебиты вен нижних конечностей, длительно незаживающие трофические язвы голеней, полиартралгии, лихорадка, тахикардия, одышка, общая слабость, головокружение. Неоднократно консультирована терапевтами, ревматологами, хирургами, в том числе сосудистыми. При обследовании в нашей клинике при повторных анализах обнаружены LE-клетки, тромбоцитопения, повышение СОЭ до 60–65 мм/ч. В январе

2008 г. впервые был установлен диагноз: системная красная волчанка, вторичный антифосфолипидный синдром. После назначения адекватной терапии, включая глюкокортикостероиды, нормализовалась температура тела, зажили трофические язвы голеней, исчезли полиартралгии, тахикардия, одышка, головокружение; количество тромбоцитов нормализовалось, LE-клетки не определялись. Достигнутая ремиссия сохраняется более одного года.

В обоих случаях типичная клиническая картина АФС, имевшая место у больных и подтверждённая лабораторными показателями, оценивалась врачами разных специальностей односторонне, без учёта признаков системности поражения, что и приводило к диагностическим ошибкам.

Скрининговыми лабораторными методами подтверждения АФС являются волчаночный антикоагулянт и антитела к кардиолипину, однако при их отсутствии и при наличии клинической картины АФС определяются другие разновидности антифосфолипидных антител, выявляемые у половины больных системной красной волчанкой с АФС и у трети пациентов с первичным АФС [14].

Для своевременной постановки правильного диагноза используются диагностические критерии АФС [3, 7], в том числе рекомендованные к клиническому применению Ассоциацией ревматологов Украины [15]. При диагностике определённого АФС учитываются клинические и биологические критерии.

Клинические критерии: привычное невынашивание беременности, венозные тромбозы, артериальная окклюзия, трофические язвы голеней, сетчатое ливедо, гемолитическая анемия, тромбоцитопения. Биологический критерий – высокий уровень антифосфолипидных антител.

Наличие у пациента двух и более клинических критериев и антифосфолипидных антител позволяет поставить диагноз АФС.

Диагноз возможного АФС ставится при наличии одного клинического симптома или синдрома, характерного для АФС, и высокого уровня антифосфолипидных антител или при наличии двух и более симптомов или синдромов, характерных для АФС, и низкого уровня антифосфолипидных антител.

При дифференциации первичного и вторичного вариантов АФС необходимо определить возможные причины заболевания (приём медикаментов, бактериальная или

вирусная инфекция) или болезни, на фоне которых развился АФС (аутоиммунные заболевания, злокачественные опухоли), что важно для выбора лечебной тактики.

Для лечения АФС используются средства, предусмотренные стандартами лечения ревматических болезней [1, 2, 4–6, 11, 16], в частности разработанными Ассоциацией ревматологов Украины [15]. Основу терапии АФС составляют:

- антикоагулянты непрямого действия и антиагреганты (варфарин в высоких дозах, аспирин – 100 мг/сутки, тиклопидин – 250 мг 2 раза в сутки, пентоксифиллин);
- глюкокортикостероиды (только при АФС, развившемся на фоне аутоиммунных заболеваний) – преднизолон 0,5–1,0 мг/кг в сутки, возможно в сочетании с иммуносупрессорами;
- аминохинолиновые производные (делагил, плаквенил);
- нестероидные противовоспалительные препараты;
- экстракорпоральные методы (плазмаферез в сочетании с адекватной антикоагулянтной терапией);
- другие препараты: даназол (при тромбocyтopenии), человеческий иммуноглобулин внутривенно (при акушерской патологии), антиоксиданты, витамины В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевая кислота.

Имеются сообщения об эффективности вазопростана в комплексной терапии системной красной волчанки с АФС и первичного АФС, способствующего уменьшению вазоспастического компонента и выраженности ливедо, стабилизации артериального давления, улучшению азотовыделительной функции почек и уменьшению протеинурии [17].

Лечебная тактика у больных с первичным и вторичным АФС одинакова, но при вторичном АФС необходимо устранить возможную причину его развития (отмена лекарственного препарата, лечение инфекции) и лечить фоновое заболевание с использованием общепринятых лекарственных средств.

Таким образом, данные литературы и наши собственные наблюдения свидетельствуют о значительных трудностях, возникающих при диагностике АФС. Своевременной постановке правильного диагноза способствует знание характерных клинических проявлений и лабораторных признаков заболевания, лежащих в основе диагностики АФС. Это знание важно для врачей любой специальности, так как АФС считается мультидисциплинарной проблемой.

## Литература

1. Насонов Е.Л., Алекберова З.С., Калашикова Л.А. и др. Антифосфолипидный синдром (синдром Hughes): 10 лет изучения в России. *Клин. медицина* 1998; 76, 2: 4–11.
2. Яременко О.Б. Антифосфолипидный синдром. *Здоров'я України* 2007; 12/1: 78–80.
3. Панченко В., Тогоев А. Антифосфолипидный синдром. *Врач* 1999; 2: 22–23.
4. Яворская В.А. Антифосфолипидный синдром. *Международ. мед. журн.* 2003; 4: 44–47.
5. Агаджанова А.А. Основные подходы к комплексной терапии антифосфолипидного синдрома в клинике невынашивания беременности. *Акуш. и гинекол.* 1999; 3: 6–8.
6. Решетняк Т.М., Кондратьева Л.В., Патрушева Н.Л., Патрушев Л.И. Варфарин при лечении антифосфолипидного синдрома. *Терап. архив* 2007; 79, 5: 47–54.
7. Насонов Е.Л., Карпов Ю.А., Алекберова З.С. и др. Артериальная гипертензия и антифосфолипидный синдром. *Терап. архив* 1996; 68, 2: 37–40.
8. Решетняк Т.М., Котельникова Г.П., Фомичева О.А. и др. Кардиологические аспекты антифосфолипидного синдрома. Ч. I. Клапанные поражения сердца при первичном и вторичном антифосфолипидном синдроме и системной красной волчанке. *Кардиология* 2002; 42, 8: 38–43.
9. Шилов Е.М., Козловская Н.Л., Метелева Н.А. и др. Клинические проявления нефропатии, связанной с антифосфолипидным синдромом, при первичном антифосфолипидном синдроме. *Терап. архив* 2003; 75, 6: 22–27.
10. Насонов Е.Л. Современные подходы к профилактике и лечению антифосфолипидного синдрома. *Терап. архив* 2003; 75, 5: 83–87.
11. Ревматология: Клинические рекомендации. Под. ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 288 с.
12. Гуйда П.П. Проблемные вопросы антифосфолипидного синдрома. Щорічні терапевтичні читання: Теоретичні та клінічні аспекти діагностики і лікування внутрішніх хвороб: Матер. наук.-практ. конф. Харків, 2008: 63.
13. Коняев Б.В. Антифосфолипидный синдром. *Клин. медицина* 1997; 75, 4: 52–53.
14. Решетняк Т.М., Войцеховская Б., Алекберова З.С. и др. Антитела к различным фосфолипидам у больных системной красной волчанкой и первичным антифосфолипидным синдромом. *Клин. медицина* 1999; 77, 5: 33–37.

15. Ревматические болезни: номенклатура, классификация, стандарты диагностики и лечения. Под ред. В.Н. Коваленко и Н.М. Шубы. К., 2002. 214 с.

16. Решетняк Т.М., Александрова Е.Н., Алекберова З.С. и др. Кортикостероиды в лечении вторичного антифосфолипидного синдрома. Клиническая медицина 2002; 80, 6: 17–21.

17. Решетняк Т.М., Алекберова З.С., Насонова В.А. Применение вазaproстана у больных системной красной волчанкой с антифосфолипидным синдромом. Терапевтический архив 1999; 71, 5: 40–47.

#### ДІАГНОСТИКА І ЛІКУВАННЯ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ

**П.П. Гуйда, С.П. Молотязіна**

На підставі даних літератури і власних спостережень детально висвітлені характерні клінічні прояви та важливі лабораторні показники, на яких базується діагностика антифосфолипідного синдрому, наведені сучасні діагностичні критерії захворювання, відображені принципи терапії.

**Ключові слова:** антифосфолипідний синдром, клініка, класифікація, діагностичні критерії, лікування.

#### DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF THE ANTIPHOSPHOLIPIDE SYNDROME

**P.P. Guyda, S.P. Molotyagina**

The authors on the basis of the data of literature and own supervision covers in details characteristic clinical displays and important laboratory parameters underlying the diagnostics of the antiphospholipide syndrome. Modern diagnostic criteria of the disease are resulted, principles of therapy are reflected.

**Key words:** antiphospholipide syndrome, clinics, classification, diagnostic criteria, treatment.

Поступила 19.11.09

## ГІПОАДИПОНЕКТИНЕМІЯ У ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ І АБДОМІНАЛЬНИМ ОЖИРІННЯМ

**Т.М. Амбросова**

*Харківський національний медичний університет*

Вивчено роль адипонектину в розвитку клініко-метаболических порушень при артеріальній гіпертензії, що асоційована з абдоминальним ожирінням, у 85 пацієнтів (22 чоловіки і 63 жінки), середній вік яких складав  $(59,10 \pm 1,39)$  року. Окружність талії (ОТ), індекс талія/стегно (Т/С), індекс маси тіла (ІМТ), рівень глюкози, інсуліну, глікозильованого гемоглобіну та індекс НОМА були найнижчими в найвищій 3-й тертилі розподілу вмісту адипонектину у порівнянні з найнижчою 1-ою тертиллю. Подібні статистичні відмінності стосувалися і активності ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6, рівні яких були найнижчими в групі з високою тертиллю адипонектину. При проведенні кореляційного аналізу встановлено статистично вірогідні негативні зв'язки адипонектину з ОТ, Т/С, ІМТ і інсуліном.

**Ключові слова:** адипонектин, абдоминальне ожиріння, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, інсулінорезистентність.

Здатність компонентів жирової тканини бути мішенню для відповідних аутоантитіл свідчить про реальність імунологічної регуляторної і терапевтичної дії на функції цієї тканини, включаючи продукцію гормонів і гормоноподібних субстанцій. Жирова тканина більше не розглядається як інертне сховище певних речовин, баласт організму. Згідно з даними [1–3], вона є ендокринним і паракринним елементом, здатним впливати на інші органи і системи. На сучасному етапі увага вчених прикута до гормоноподібних речовин – адипокінів (*adipose derived hormones*). Саме вони можуть стати додатковими ланками в ланцюзі патогенезу порушень вуглеводного і ліпідного обмінів, які призводять до розвитку кардіоваскулярних захворювань, інсулінорезистентності (ІР), ожиріння.

Інтерес до адипонектину значною мірою визначається тим, що на відміну від інших адипокінів його зв'язок з ІР носить зворотно пропорційний характер. Падіння концентрації адипонектину в крові, з одного боку, передуює початку ожиріння, з іншого – сприяє формуванню ІР при ряді патологічних процесів, у тому числі при захворюваннях серцево-судинної системи. Дослідження [4, 5] свідчать про зв'язок зниження рівня плазмового адипонектину з формуванням і прогресуванням ІР і асоційованих з нею станів.

Гіпоадипонектинемія встановлена у хворих з атеросклерозом [6], метаболическим синдромом (МС) [7], артеріальною гіпертен-

зією (АГ) [8, 9], і зроблено висновок, що вона асоціюється з формуванням ІР, але патогенетичні ланцюги цього взаємовпливу не з'ясовані. Зниження вмісту адипонектину слід розглядати як ранній маркер розвитку ІР. Цей зв'язок простежується і на генетичному рівні: у людей з ожирінням і проявами МС виявлений поліморфізм гена адипонектину [10]. При експериментальному введенні адипонектину спостерігаються антидіабетичні, протизапальні і антиатерогенні ефекти, що підтверджує унікальність властивостей цього адипокіну [4–6].

Метою роботи було визначення ролі адипонектину в розвитку клініко-метаболических порушень за умови АГ, асоційованої з абдоминальним ожирінням (АО).

**Матеріал і методи.** В дослідження включили 85 пацієнтів (22 чоловіки і 63 жінки), середній вік яких складав  $(59,10 \pm 1,39)$  року і у яких було діагностовано АГ згідно з критеріями Європейського товариства гіпертензії (ESH)/Європейського товариства кардіологів (ESC) [11]. Наявність і ступінь ожиріння оцінювали за індексом маси тіла (ІМТ):  $IMT = \text{маса тіла} / \text{зріст}^2$  (кг/м<sup>2</sup>). Для оцінки типу розподілу жирової тканини, а саме визначення АО використовували критерії МС Міжнародної федерації діабету (International Diabetes Federation, IDF, 2005), згідно з якими збільшення окружності талії (ОТ) > 94 см у чоловіків і > 80 см у жінок вважалося ознакою АО. Кров на біохімічні й імуноферментні дослідження забирали із ліктьової вени вранці натще, не

раніше як за 12 год голодування. Для контролю вуглеводного обміну в сироватці крові, узятій натщесерце, визначали вміст глюкози. Як інформативний метод характеристики довгострокового глікемічного контролю використовували визначення глікозильованого гемоглобіну ( $HbA_{1c}$ ). За допомогою імуноферментної методики визначали рівень інсуліну з використанням набору фірми DRG Instruments GmbH (Німеччина). IP оцінювали за допомогою гомеостатичної моделі або критерію HOMA (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance):  $HOMA = [концентрація інсуліну (мкОД/мл) \times глюкоза натщесерце (ммоль/л)] / 22,5$ .

IP вважали доведеною при  $HOMA > 2,77$ . Рівень ФНО- $\alpha$  визначали імуноферментним методом набором фірми «Вектор Бест» (Росія). Концентрацію аполіпропротеїну В (апоВ) визначали імуноферментним методом з використанням набору фірми Orion Diagnostica (Фінляндія). Рівень ІЛ-6 визначали за допомогою імуноферментної методики з використанням набору ProCon-IL-6 (Росія). Рівень плазмового адипонектину оцінювали за допомогою імуноферментної методики з використанням набору фірми BioVendor (Німеччина). Всі імуноферментні дослідження проведено на аналізаторі Fax-Start (США).

Біохімічне дослідження ліпідного спектра включало визначення концентрацій загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) ферментативним методом з використанням наборів реагентів Diacon DS (DDS, Росія). Вміст холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) розраховували за формулою W.T. Friedewald:  $ХС ЛПНЩ = ЗХС - (ХС ЛПВЩ + ТГ / 2,22)$ , де  $ТГ / 2,22$  – вміст холестерину у складі ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ). Коефіцієнт атерогенності (КА) обчислювали за формулою Ф. Климова:  $КА = (ЗХС - ХС ЛПВЩ) / ХС ЛПВЩ$  [12].

Отримані дані обробили методами варіаційної статистики. Достовірність відмінностей між показниками визначали за допомогою двохвибіркового t-критерію Стьюдента. Для дослідження взаємозв'язків між показниками виконали кореляційний і мультирегресійний аналіз.

**Результати та їх обговорення.** Основні клініко-метаболическі показники обстежених пацієнтів наведені в табл. 1.

З метою аналізу вкладу рівня адипонектину в розвиток метаболических порушень па-

цієнтів було розподілено на дві групи залежно від наявності АО. Порівняльна характеристика антропометричних показників, метаболічних змін і активності адипокінів у групах порівняння наведена в табл. 2. При аналізі змін адипонектину зниження його рівня зареєстровано в групі пацієнтів з АО, яке було статистично вірогідним. Подібні дані отримані в інших дослідженнях, де продемонстровано вірогідний зв'язок між АО і діабетогенними, атерогенними, тромботичними та прозапальними станами [13, 14].

За нашими даними, рівень адипонектину в групі АГ з АО у чоловіків нижчий за такий у жінок, а в групі АГ без ознак АО рівні адипонектину у чоловіків і жінок були однаковими. Показники адипонектину в групах порівняння (табл. 2) у жінок не були статистично відмінні, а серед чоловіків ці відмінності були достовірними.

У пацієнтів з АО спостерігалися зміни антропометричних і біохімічних показників, а саме вірогідно збільшувалися ІМТ і ОТ. Гемодинамічні показники (САТ і ДАТ) не мали вірогідних відмінностей. При оцінці змін вуглеводного обміну у пацієнтів з АО відмічалось вірогідне підвищення рівня інсуліну, глюкози,  $HbA_{1c}$  та відповідно індексу HOMA. Ліпідний профіль не мав достовірних відмінностей в групах порівняння. На відміну від фракцій ліпопротеїдів, що визначаються за загальноприйнятою методикою, при оцінці апоВ виявлені достовірно значущі відмінності, що характеризувалися вірогідним зростанням в групі гіпертензивних пацієнтів з АО. АпоВ-вмісні ліпопротеїди – це молекули ХС ЛПДНЩ і ХС ЛПНЩ, які приймають активну участь в атерогенезі. Встановлено, що збільшення кардіоваскулярного ризику у хворих з цукровим діабетом і АГ обумовлено високою атрактивністю апоВ-вмісних ліпопротеїдів до глікозаміногліканів ендотелію судин, що сприяє формуванню і прогресуванню атером. За даними [15, 16], сукупність АО з гіперінсулініемією і підвищеним рівнем апоВ у 20 разів збільшує ризик розвитку ішемічної хвороби серця у чоловіків середнього віку. Підвищення активності апоВ розглядають як фактор ризику формування і прогресування атеросклеротичного ураження судин у хворих з АГ і АО.

Активність інших адипокінів, а саме ФНО- $\alpha$ , була вірогідно вищою в групі з АО, а активність ІЛ-6 мала тенденції до збільшення, але не була статистично вірогідною. Отже, рівень адипонектину знижувався при

Таблиця 1. Загальна характеристика обстежених пацієнтів з артеріальною гіпертензією

Показник	M±m	Інтервал min–max
Вік, роки	59,10±1,39	28–85
ОТ, см	97,28±1,59	65–138
Т/С	0,850±0,008	0,68–1,06
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,12±0,63	21,4–50,3
САТ, мм рт. ст.	161,23±2,56	130–230
ДАТ, мм рт. ст.	94,34±1,59	60–150
ЧСС, уд/хв	82,63±1,36	56–120
Глюкоза, ммоль/л	5,28±0,23	3,4–14,9
Інсулін, мкОД/мл	19,44±1,44	2,43–64,18
НОМА, ум. од.	6,02±0,67	0,55–37,65
HbA <sub>1c</sub> , %	5,95±0,26	3,3–15,6
ЗХС, ммоль/л	6,79±0,14	2,37–9,20
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,59±0,04	0,74–2,50
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,28±0,14	0,88–6,80
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,81±0,02	0,34–1,39
ТГ, ммоль/л	1,77±0,05	0,89–3,07
КА, ум. од.	2,68±0,10	1,00–6,25
АпоВ, г/л	1,62±0,15	0,59–4,15
ФНП-α, нг/мл	18,37±2,52	0,99–89,45
ІЛ-6, нг/мл	12,00±0,28	7,21–14,00
Адипонектин, мкг/мл	6,02±0,36	0,68–12,73
жін	6,12±0,45	0,68–13,20
чол	5,79±0,61	1,08–10,45

Примітка. ОТ – окружність талії; індекс Т/С – співвідношення талія–стегно; САТ – систолічний артеріальний тиск; ДАТ – діастолічний; ІЛ-6 – інтерлейкін 6.

Тут і в табл. 2 і 3.

збільшенні ІМТ, індексу НОМА і рівня інсуліну.

Оцінювали внесок різних рівнів адипонектину (особливо гіпоадипонектинемії) в розвиток клініко-метаболических порушень у пацієнтів з АГ без АО. Для цього всіх обстежених поділили на три рівні групи згідно з тертилями рівня адипонектину (табл. 3).

Слід зазначити, що такі антропометричні показники, як ОТ, талія/стегно (Т/С), ІМТ, були мінімальними в групі з високим рівнем адипонектину, а в групах з середнім і низьким рівнем адипонектину зростали. При аналізі показників вуглеводного спектра встановлено, що між рівнем адипонектину і рівнями інсуліну, глюкози, глікозилизованого гемоглобіну та індексом НОМА простежується зворотний зв'язок, тобто по мірі зростання адипонектину зменшуються по-

рушення вуглеводного обміну. Щодо показників ліпідного спектра, то зі зростанням рівня адипонектину достовірно знижувався рівень ЗХС, а вміст ХС ЛПВЩ, навпаки, збільшувався. Інші фракції ліпідів не мали достовірних відмінностей по тертилях. Щодо рівня атерогенного апоВ, то він мав стабільні тенденції до зменшення від нижньої до верхньої тертилі з максимальними показниками апоВ в тертилі з низьким вмістом адипонектину і найменшим рівнем в тертилі з високим вмістом адипонектину. Дані зміни апоВ можна розглядати як маркер атерогенності ліпопротеїдів плазми, особливо у пацієнтів з нехарактерними для метаболічних порушень змінами ліпідного профілю. Аналіз активності інших адипокінів, а саме ФНП-α і ІЛ-6, демонстрував схожі тенденції і характеризувався зниженням їх

Таблиця 2. Порівняльна характеристика пацієнтів обстежених груп залежно від наявності абдомінального ожиріння (АО) за класифікацією IDF (2005)

Показник	АГ без АО (n=22)	АГ з АО (n=63)	p
Вік, роки	57,45±2,65	59,68±1,63	>0,05
САТ, мм рт. ст.	168,40±6,49	158,88±3,38	>0,05
ДАТ, мм рт. ст.	95,86±3,07	93,81±1,87	>0,05
ОТ, см	76,36±1,52	97,84±1,57	<0,05
Індекс Т/С	0,77±0,01	0,88±0,01	>0,05
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,27±1,17	33,46±0,67	<0,05
Інсулін, мкОД/мл	14,69±1,88	21,09±1,79	<0,05
HbA <sub>1c</sub> , %	5,45±0,32	6,12±0,33	<0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,59±0,22	6,52±0,29	<0,05
НОМА, ум. од.	3,86±0,63	6,77±0,87	<0,05
ЗХС, ммоль/л	5,82±0,25	5,78±0,17	>0,05
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,59±0,07	1,59±0,06	>0,05
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,26±0,27	3,29±0,17	>0,05
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,86±0,05	0,81±0,02	>0,05
ТГ, ммоль/л	1,71±0,13	1,80±0,05	>0,05
КА, ум. од.	2,46±0,22	2,75±0,11	>0,05
ТГ, ммоль/л	1,71±0,13	1,80±0,05	>0,05
АпоВ, г/л	1,24±0,18	1,78±0,20	<0,05
ФНП-α, пг/мл	13,71±2,84	20,09±3,26	<0,05
ІЛ-6, пг/мл	10,92±0,64	12,40±0,27	>0,05
Адипонектин, мкг/мл	6,39±0,77	5,91±0,42	<0,05
жін	6,40±1,01	6,05±0,52	>0,05
чол	6,38±1,28	5,52±0,68	<0,05

рівнів по мірі зростання концентрацій адипонектину, що, можливо, пов'язане з антагоністичною дією адипонектину на активність хронічного системного запалення і формування ендотеліальної дисфункції, роль яких у формуванні АГ і ожиріння є доведеною [17–19].

Для більш детального вивчення взаємозв'язків адипонектину з клініко-метаболічними показниками обстежених пацієнтів провели кореляційний аналіз. Його результати підтверджують негативний зв'язок адипонектину з ОТ ( $r=-0,28$ ,  $p=0,008$ ), Т/С ( $r=-0,26$ ,  $p=0,013$ ), МТ ( $r=-0,29$ ,  $p=0,007$ ) та інсуліном ( $r=-0,22$ ,  $p=0,038$ ). У подальшому було проведено лінійний регресійний аналіз із включенням у модель в якості незалежних змінних таких показників, як вік, САД, ДАТ, ІМТ, ОТ, Т/С, індекс НОМА, рівні глюкози і інсуліну, HbA<sub>1c</sub>, ФНП-α, ІЛ-6, а в якості залежної змінної – рівень адипо-

нектину. Встановлено, що ОТ ( $\beta=-0,284$ ,  $p=0,006$ ), індекс Т/С ( $\beta=-0,268$ ,  $p=0,01$ ), МТ ( $\beta=-0,29$ ,  $p=0,004$ ) і інсулін ( $\beta=-0,225$ ,  $p=0,031$ ) є незалежними факторами, пов'язаними з рівнем адипонектину ( $r^2=0,29$ ,  $p=0,031$ ).

Виявлені різними авторами зв'язки гіпоадипонектинемії з ожирінням, абдомінальним типом розподілу жирової тканини [13], ІР [20], гіпертригліцеридемією [21], зниженням ХС ЛПВЩ [22] відображають важливу роль адипонектину в генезі ожиріння, МС [23] і АГ, а гіпоадипонектинемія вважається фактором ризику серцево-судинних захворювань [24].

Автори [11] провели дослідження в унікальній когорті індіанців Піма з високою поширеністю ожиріння й діабету і встановили зниження концентрації адипонектину, а також довели, що рівень адипонектину корелює з розвитком ІР, тобто гіпоадипо-

Таблиця 3. Гендерні, вікові, антропометричні й клініко-метаболическі показники в різних тертилях адипонектину

Показник	1-ша тертиль	2-га тертиль	3-тя тертиль
Чол/жін	7/21	7/21	10/19
Вік, роки	59,25±2,59	56,92±2,31	61,06±2,33
Адипонектин, мкг/мл			
max	1,92±0,18	5,46±0,22	9,50±0,24
min	0,68-3,68	3,78-7,45	7,55-12,73
ОТ, см	101,50±3,43	94,21±2,77*	90,20±1,99*
Індекс Т/С	0,86±0,02	0,85±0,01	0,84±0,01*
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,30±1,31	30,18±1,07*	27,88±0,90*
САТ, мм рт. ст.	158,92±6,02	164,64±4,69	160,51±5,09
ДАТ, мм рт. ст.	93,21±3,18	95,86±2,49	93,93±2,63
Глюкоза, ммоль/л	6,90±0,27	5,91±0,50	5,36±0,38*
Інсулін, мкОД/мл	20,56±2,37	17,15±2,91*	14,61±2,25 <sup>#</sup>
НОМА, ум. од.	6,02±0,91	5,28±1,57*	4,75±0,97 <sup>#</sup>
HbA <sub>1c</sub> , %	6,01±0,45	5,81±0,42	5,77±0,47*
ЗХС, ммоль/л	6,79±0,20	5,98±0,26	5,22±0,28
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	0,97±0,07	0,99±0,08	1,44±0,07*
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,27±0,22	3,27±0,27	3,30±0,25
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,81±0,03	0,80±0,04	0,82±0,04
ТГ, ммоль/л	1,74±0,09	1,82±0,80	1,76±0,09
КА, ум. од.	2,51±0,16	2,62±0,15	2,87±0,20
АпоВ, г/л	1,96±0,28	1,76±0,33*	1,50±0,22 <sup>#</sup>
ФНП-α, пг/мл	19,82±4,23	17,38±5,06*	15,86±3,95*
ІЛ-6, пг/мл	12,59±0,63	11,60±0,43	9,78±0,34*

Примітка. \*p<0,05, <sup>#</sup> p<0,01; вірогідність відмінностей у порівнянні з першою тертиллю.

нектинемія є фактором ризику формування ІР і цукровим діабетом 2-го типу, але до тепер не з'ясовано, чи є гіпоадипонектинемія генетично обумовленим дефектом, чи пов'язана з розвитком ожиріння.

Проведений нами аналіз в тертилях і кореляційний аналіз дозволили виявити низку взаємозв'язків з деякими статевими, антропометричними і біохімічними показниками у пацієнтів з АГ і АО. Рівень адипонектину нижче у чоловіків у порівнянні з жінками, а також має тенденцію до збільшення відповідно збільшенню віку. Ці дані співвідносяться з результатами досліджень інших авторів [25]. І це може бути одним із факторів, що пояснює збільшення частоти ішемічної хвороби серця серед чоловіків.

Наше дослідження підтвердило дані про негативний зв'язок рівня адипонектину з МТ, ОТ, індексом Т/С і показниками інсулі-

ну, що доведено в дослідженнях інших авторів [19, 26].

Механізми, відповідні за зниження адипонектину при АО та МС, досі мало вивчені. Існують дані про те, що адипонектин сприяє зменшенню запальної реакції, яка робить негативний внесок у розвиток кардіоваскулярної патології. Припускають, що це пов'язано з антагоністичною дією адипонектину на активність ФНП-α, збільшення активності якого доведена при ожирінні, а також ІР і АГ [17], а з іншого боку, ФНП-α здатен супресувати експресію гена адипонектину, що пояснює його зниження при ожирінні. Є дослідження, які демонструють позитивні зв'язки проявів МС з експресією і рівнем у плазмі інших адипокінів, таких як ФНП-α, ІЛ-6, резистин, лептин, при цьому лише адипонектин негативно корелює з клініко-метаболическими проявами МС

[13]. Але нами не отримано підтвердження існування зв'язків адипонектину з активністю інших адипокінів – ФНП- $\alpha$  і ІЛІ-6.

Отриманий нами зворотний кореляційний зв'язок між адипонектином і рівнем інсуліну підтверджений дослідженнями [27, 28], автори яких висувують гіпотезу зв'язку гіперінсулінемії з адипонектинемією, що інсулін знижує продукцію адипонектину.

Отже, встановлена нами гіпоадипонектинемія і негативні кореляційні зв'язки адипонектину з антропометричними показниками й рівнем інсуліну у хворих з АГ і супутнім АО можна трактувати як фактор ризику формування ІР і цукрового діабету 2-го типу. Встановлені зв'язки між антропометричними характеристиками, порушеннями вуглеводного, ліпідного і цитокінового профілю у пацієнтів з АГ і супутнім АО дозволяють поглибити патогенетичні уявлення про вплив ІР, атерогенної дисліпидемії, дисфункції адипокінів (а саме адипонектину) на формування кардіоваскулярного ризику та розробити стратегію призначення немедикаментозних засобів корекції стилю життя і лікування хворих з АГ і супутнім АО з метою запобігання серцево-судинних ускладнень.

#### Висновки

1. У хворих на артеріальну гіпертензію, асоційовану з абдомінальним ожирінням, виявлено статистично вірогідні зміни вуглеводного гомеостазу, а саме підвищення рівнів глюкози, інсуліну, глікозильованого гемоглобіну й індексу інсулінорезистентності – НОМА.

2. В групі пацієнтів з артеріальною гіпертензією і абдомінальним ожирінням зафіксовано достовірно найнижчий рівень адипонектину й найвищий рівень активності ФНП- $\alpha$  в порівнянні з групою пацієнтів з артеріальною гіпертензією без ознак абдомінального ожиріння.

3. У пацієнтів з артеріальною гіпертензією рівень адипонектину вірогідно нижче у чоловіків у порівнянні з жінками, а також має тенденції до збільшення відповідно збільшенню віку.

4. У пацієнтів з артеріальною гіпертензією виявлено негативні кореляційні зв'язки рівня адипонектину з масою тіла, окружністю талії, індексом талія/стегно та концентрацією інсуліну.

#### Література

1. Ahima R.S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity* 2006; 14, S8: 242S–249S.
2. Trujillo M.E., Scherer P.E. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr. Rev.* 2006; 27, 7: 762–778.
3. Schaffler A., Muller-Ladner U., Scholmerich J., Buchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr. Rev.* 2006; 27, 5: 449–467.
4. Weyer C., Funahashi T., Tanaka S. et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2001; 86: 1930–35.
5. Von Eynatten M., Schneider J.G., Humpert P.M. et al. Decreased plasma lipoprotein lipase in hypoadiponectinemia: an association independent of systemic inflammation and insulin resistance. *Diabetes Care* 2004; 27: 2925–29.
6. Lau D., Dhillon B., Yan H. et al. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; 288: 2031–41.
7. Kadowaki T., Yamauchi T., Kubota N. et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 2006; 116 (7): 1784–92.
8. Iwashima Y., Katsuya T., Ishikawa K. et al. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension* 2004; 43: 1318–23.
9. Karthikeyan V.J., Lip C.Y.H. Antihypertensive treatment, adiponectin and cardiovascular risk. *J. Human Hypertens.* 2007; 21: 8–11.
10. Maeda N., Takahashi M., Funahashi T. et al. PPAR ligands increase expression and plasma concentration of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001; 50: 2094–99.
11. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2007; 28: 1462–1536.
12. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: Руководство для врачей. СПб.: ПитерКом, 1999. 512 с.
13. Matsushita K., Yatsuya H., Tamakoshi K. et al. Comparison of circulating adiponectin and proinflammatory markers regarding their association with metabolic syndrome in Japanese men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 871.
14. Lindsay R.S., Funahashi T., Hanson R.L. et al. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 2002; 360: 57–58.

15. Sniderman A.D., Furberg C.D., Keech A. *et al.* Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and targets for statin treatment. *Lancet* 2003; 361 (9359): 777–780.
16. Pischon T., Girman C.J., Sacks F.M. *et al.* Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the predictor of coronary heart disease in men. *Circulation* 2005; 112: 3375–83.
17. Hotamisligil G.S. The role of TNF- $\alpha$  and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J. Int. Med.* 1999; 245: 621–625.
18. Vozarova B., Weyer C., Hanson K. *et al.* Circulation interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes. Res.* 2001; 9: 414–417.
19. Matsuzawa Y., Funahashi T., Kihara S., Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 29–33.
20. Savage D., Petersen K.F., Shuiman G.I. Mechanisms of insulin resistance in human and possible links with inflammation. *Hypertension* 2005; 45: 828–836.
21. Matsuzawa S. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2006; 3: 35–42.
22. Sinaiko A., Steinberger J., Moran A. *et al.* Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors, and oxidative stress during adolescence. *Circulation* 2005; 111: 1985–91.
23. Trujillo M., Scherer P.E. Adiponectin-journey from an adiposity secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *J. Intern. Med.* 2005; 257: 167–175.
24. Bunero-Corral A., Montori V.M., Somers V.K. *et al.* Association of body-weight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. *Lancet* 2006; 368: 666–678.
25. Lowlor D.A., Smith G.D., Ebrahim S. *et al.* Plasma adiponectin levels are associated with insulin resistance, but do not predict future risk of coronary heart disease in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 5677–83.
26. Yamamoto Y., Hirose H., Saito I. *et al.* Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index in the Japanese population. *Clinical Science* 2002; 103: 137–142.
27. Lihn A., Ostergaard T., Nyholm B. *et al.* Adiponectin expression in adipose tissue is reduced in first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 2003; 284: E443–E448.
28. Koh K.K., Quon M.J., Han S.H. *et al.* Vascular and metabolic effects of combined therapy with ramipril and simvastatin in patients with type 2 diabetes. *Hypertension* 2005; 45: 1088–94.

#### ГИПОАДИПОНЕКТИНЕМИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

*Т.Н. Амбросова*

Изучена роль адипонектина в развитии клинико-метаболических нарушений при артериальной гипертензии, ассоциированной с абдоминальным ожирением, у 85 пациентов (22 мужчины и 63 женщины), средний возраст которых ( $59,10 \pm 1,39$ ) лет. Окружность талии (ОТ), индекс талия/бедро (Т/Б), индекс массы тела (ИМТ), уровень глюкозы, инсулина, гликозилированного гемоглобина и индекс НОМА были самыми низкими в 3-й тертиле с наибольшим уровнем адипонектина по сравнению с 1-й тертилью. Подобные статистически достоверные отличия также были характерны для активности ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, уровни которых были самыми низкими в группе с высоким тертилем адипонектина. При проведении корреляционного анализа установлены статистически значимые отрицательные связи адипонектина с ОТ, индексом Т/Б, ИМТ и уровнем инсулина.

**Ключевые слова:** адипонектин, абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия, инсулинорезистентность.

#### HYPOADIPONECTINEMIA IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND ABDOMINAL OBESITY

*T.N. Ambrosova*

The adiponectin role in the development of clinical metabolic disorders in arterial hypertension associated with abdominal obesity at 85 patients (22 males and 63 females) of averaged aged ( $59.10 \pm 1.39$ ) years were examined. Waist circumference (WC), waist/hip ratio (W/H), body mass index (BMI), glucose, insulin, HbA1c levels and HOMA index were lowest in highest 3rd tertile of adiponectine levels as compared with lowest 1st tertile. The same statistical differences were found in TNF- $\alpha$  and IL-6, levels were lowest in group with high adiponectine level. The negative statistically significant correlation relationships between adiponectin and WC, W/H, BMI, insulin were found.

**Key words:** adiponectin, abdominal obesity, arterial hypertension, dyslipidemia, insulin resistance.

Поступила 06.11.09

## ВЛИЯНИЕ КЕТОТИФЕНА НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

**В.И. Волков, Э.Н. Сердобинская-Канивец, С.А. Серик, Л.М. Самохина**

*ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой» АМН Украины, г. Харьков*

Показано, что хроническая сердечная недостаточность (СН) у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) характеризуется существенным повышением сывороточной активности химазы и тонина, особенно при наличии у них сопутствующего сахарного диабета (СД). Повышение протеиназной активности сопровождается значительным снижением активности их ингибитора –  $\alpha$ -2-МГ у всех больных, особенно при наличии СД. Существенных изменений активности  $\alpha$ -1-ИП при СН у больных ИБС как с диабетом, так и без него не происходило. Выявлено, что стандартная терапия способствует повышению активности  $\alpha$ -1-ИП у всех больных с СН независимо от наличия СД. Добавление кетотифена к стандартной терапии больным с СН способствует торможению протеиназной активности и дополнительно повышает активность  $\alpha$ -1-ИП. У больных с активностью химазы выше нижней тертили кетотифен способствует улучшению баланса в системе протеиназа – ингибитор протеиназ в результате значительного снижения активности химазы и тонина, а также существенного повышения активности не только  $\alpha$ -1-ИП, но и  $\alpha$ -2-МГ.

**Ключевые слова:** сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2-го типа, протеиназы, ингибиторы протеиназ, кетотифен.

Несмотря на достигнутые успехи в лечении больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), смертность от этой патологии остаётся высокой [1]. Прогноз продолжительности жизни таких пациентов неудовлетворительный: 40 % больных, поступающих в стационар с сердечной недостаточностью (СН), умирают в течение года, 50 % – в течение четырёх лет [2].

Постоянная сочетанная блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатoad-реналовой систем лежит в основе современных схем терапии ХСН, базирующихся на положительных результатах различных многоцентровых исследований, однако даже она не обеспечивает 100% -ный результат. Как оказалось, при длительной терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) концентрация ангиотензина-П в плазме крови возвращается к исходным значениям, несмотря на прежнюю степень блокады самого фермента. Объяснением этому служит наличие дополнительных АПФ-независимых путей образования данного пептида, особенно на тканевом уровне, которые активируются в условиях СН при длительной терапии ингибиторами

АПФ [3]. В этом случае основную роль в преобразовании ангиотензина-I в ангиотензин-II играют уже не АПФ, а специфические протеиназы – химаза, катепсины, тонин [3].

Перечисленные факты послужили предпосылкой к созданию блокаторов рецепторов ангиотензина-II, добавление которых к ингибиторам АПФ должно было обеспечить более полную блокаду нейрогормональной системы и, как следствие, уменьшить общую смертность и число госпитализаций. Однако данное предположение было подтверждено лишь частично. Многоцентровые исследования RESOLVD, CHARM-Added, ValHeFT и VALIANT показали уменьшение числа госпитализаций по причине СН в группах двойной терапии, при этом достоверной разницы между общей частотой госпитализаций и смертностью не было. Пациенты, получающие комбинированную терапию, имели значительно более высокий риск осложнений, таких как гиперкалиемия, ухудшение функции почек, гипотензия [4]. Не исключено, что достижение более эффективной блокады ангиотензина-II может быть достигнуто при открытии новых путей ингибирования этого пептида.

Перспективним представляється изучение ефектов блокування химази як найбільше специфічного фермента АПФ-независимого тканевого пути образования ангиотензина-II. Снижение уровня этой протеиназы в миокарде у животных с СН различного генеза при помощи специфических синтетических её ингибиторов (ВСЕАВ, TY-51469, SUNC8257) позволило добиться значительного уменьшения кардиального фиброза, гипертрофии миокарда и диастолической дисфункции [5–7]. Предполагается, что с целью уменьшения активности химазы также можно назначать стабилизаторы мембран тучных клеток, например кетотифен, который будет снижать не только показатели этой протеиназы, но и уменьшит уровень других медиаторов СН, синтезирующихся тучными клетками: интерлейкинов 4, 5, 6, фактора некроза опухолей- $\alpha$ , АПФ, трансформирующего фактора роста- $\beta$  [8]. В исследовании [9] отмечается эффективность применения кетотифена при СН у крыс.

В проведённой нами ранее клинической работе было показано, что СН при ишемической болезни сердца (ИБС) и сахарном диабете (СД) 2-го типа характеризуется существенным повышением активности химазы и тонина [10]. У больных с диабетом, помимо повышения активности указанных протеиназ, было выявлено значительное снижение уровня их естественного ингибитора- $\alpha$ -2-макроглобулина ( $\alpha$ -2-МГ), что свидетельствует о более выраженном нарушении в системе протеиназа – ингибитор протеиназ у этих пациентов. Поэтому представляет интерес именно у больных с СН, обусловленной ИБС и СД, оценить влияние стабилизатора мембран тучных клеток на активность протеиназ и их ингибиторов.

Целью работы была оценка влияния кетотифена на сывороточную активность химазы, тонина и их ингибиторов –  $\alpha$ -1-ИП и  $\alpha$ -2-МГ – у больных с ХСН, обусловленной ИБС с СД 2-го типа и без него.

**Материал и методы.** В исследование было включено 100 больных с ХСН II–IV функционального класса (ФК), обусловленной ИБС, из них у 51 диагностирован СД 2-го типа. Все пациенты получали стандартную терапию: эналаприл 5–20 мг/сут, бисопролол 2,5–10 мг/сут, диуретики в эффективных дозировках, аспирин 75–100 мг/сут; при фракции выброса менее 45 % назначали спиронолактон 25–50 мг/сут, ряду пациентов с антиангинальной целью добавляли нитраты – изосорбид-5-мононитрат 20–

60 мг/сут. Больные с диабетом принимали метформин гидрохлорид 500–1700 мг/сут и/или гликлазид 80–320 мг/сут. Путём случайной выборки (в порядке последовательности поступления в стационар) пациентам на три месяца назначали кетотифен в дозе 3 мг/сут. Были сформированы следующие группы: больные с диабетом, получающие кетотифен ( $n=25$ ); больные с диабетом, получающие только стандартную терапию ( $n=26$ ); пациенты без диабета, получающие кетотифен ( $n=22$ ); пациенты без диабета, получающие только стандартную терапию ( $n=24$ ). Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц. В исследование не включали больных с недавними (до 10 дней) эпизодами острой СН, нестабильной стенокардией, СД 1-го типа, уровнем гликозилированного гемоглобина более 10 %, острыми и хроническими воспалительными заболеваниями в стадии обострения. Возраст обследованных колебался в пределах от 23 до 70 лет. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Активность химазы, тонина,  $\alpha$ -1-ИП и  $\alpha$ -2-МГ определяли в сыворотке крови высокочувствительным ферментативным методом. Метод основан на использовании в качестве субстрата протеолитической реакции иммобилизованного на поверхности полистирола маркёрного фермента (пероксидаза хрена), который предварительно был конъюгирован с субстратом белковой природы [11]. Для определения уровня химазы предварительно проводили реакцию подавления ферментов, таких как трипсин, плазмин, сывороточный калликреин, а также частично тонин (имеет и трипсин- и химотрипсинподобную активность), добавлением 1:1 соевого ингибитора трипсина в концентрации 0,01 мкг/мл, инкубировали 5 мин при 37 °С. Потом проводили реакцию расщепления иммобилизованного комплекса маркёрного фермента и фрагмента 3–8 ангиотензина-II. Результаты выражали в Е (мкмоль субстрата в мин). Определяя активность тонина, перед протеолитической реакцией подавляли активность калликреиноподобных ферментов в исследуемых образцах добавлением 1:1 апротинина (20 мкг/мл) и инкубировали 5 мин при 37 °С. В качестве субстрата использовали протаминсульфат. Результаты выражали в Е (мкмоль субстрата в мин). Трипсиноингибиторную активность  $\alpha$ -1-ИП определяли используя в качестве субстрата альбумин сыворотки быка. Уровень этого

ингибитора оценивали после протеолитической реакции по остаточной активности маркёрного фермента и выражали в г/(л·ч). Для определения уровня  $\alpha$ -2-МГ в качестве субстрата протеолитической реакции использовали протаминсульфат. После проведения реакции образования комплекса протеиназа – ингибитор протеиназ к реакционной смеси добавляли 1:1 соевый ингибитор трипсина в концентрации 150 мкг/мл и инкубировали 5 мин при 37 °С для связывания свободных протеиназ. Уровень  $\alpha$ -2-МГ в исследуемых образцах рассчитывали по остаточной активности трипсина, связанного с  $\alpha$ -2-МГ. После удаления продуктов реакции определяли остаточную активность маркёрного фермента при помощи иммуноферментного фотометра-анализатора Human reader фирмы «Human» (Германия). В исследовании использовали трипсин фирмы «Spofa» (Чехия), фрагмент 3–8 ангиотензина-II, пероксидазу хрена, апротинин фирмы ICN (США), соевый ингибитор трипсина производства «Reanal» (Венгрия), альбумин сыворотки быка, протаминсульфат, полистироловые планшеты (Россия).

В комплекс инструментальных методов входили рентгенотелевизионное исследование органов грудной клетки с выявлением признаков венозного застоя в легких, эхокардиография с использованием сонографа «Aloka SSD-280 LS», электрокардиография. Всем пациентам проводили тест с 6-минутной ходьбой для определения толерантнос-

ти к физической нагрузке. Полученные данные статистически обрабатывали.

**Результаты и их обсуждение.** У больных с СН при ИБС на момент рандомизации выявлено достоверное повышение активности химазы и тонина по сравнению с группой контроля (табл. 1). У пациентов с СН при ИБС и СД уровень этих эндопептидаз был повышен значительно не только по сравнению с группой контроля ( $p<0,05$ ), но и по сравнению с больными без диабета ( $p<0,05$ ), табл. 1. Исходная активность естественного ингибитора протеиназ  $\alpha$ -2-МГ у всех пациентов с СН, наоборот, значительно снижалась по сравнению с контрольными показателями ( $p<0,05$ ). В группе больных диабетом уровень этого ингибитора оказался самым низким – значительно меньше в сравнении как с группой контроля, так и с группой больных без диабета ( $p>0,05$ ).

Изменения активности  $\alpha$ -1-ИП у больных с диабетом и без него были недостоверными по сравнению со здоровыми лицами (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют, что СН у больных с ИБС с СД 2-го типа и без него характеризуется существенным повышением сывороточной активности химазы и тонина. Наиболее выраженное повышение активности указанных протеиназ отмечается у больных с диабетом. Повышение уровня этих ферментов сопровождается значительным снижением активности их естественного ингибитора –  $\alpha$ -2-МГ – у всех

Таблица 1. Активность сериновых протеиназ и их ингибиторов у больных с СН, обусловленной ИБС и СД 2-го типа ( $M\pm m$ )

Показатель	Контроль (n=25)	СН+ИБС (n=49)	СН+ИБС+СД <sub>2</sub> (n=51)
Химаза, Е·10 <sup>-3</sup>	4,04±0,14	5,94±0,65*	8,12±0,88*
Тонин, Е·10 <sup>-3</sup>	0,56±0,19	1,01±0,19*	1,86±0,20*
$\alpha$ -2-МГ, г/(л·ч)	0,30±0,05	0,19±0,03*	0,13±0,01*
$\alpha$ -1-ИП, г/(л·ч)	7,44±0,09	7,32±0,11	7,57±0,07

Примечание.  $p<0,05$ ; \* по сравнению с контролем; # по сравнению с группой СН+ИБС.

Таблица 2. Активность химазы, тонина и их ингибиторов у больных с СН

Показатель	СН+ИБС			
	стандартная терапия (n=24)		стандартная терапия + кетотифен (n=22)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Химаза, Е·10 <sup>-3</sup>	5,75±0,87	6,54±1,03	6,14±1,01	3,93±1,28#
Тонин, Е·10 <sup>-3</sup>	1,07±0,35	1,45±0,38	0,94±0,16	0,71±0,17#
$\alpha$ -2-МГ, г/(л·ч)	0,23±0,05	0,19±0,07	0,16±0,03	0,23±0,06
$\alpha$ -1-ИП, г/(л·ч)	7,46±0,10	7,76±0,09*	7,17±0,20	7,88±0,10*

Примечание.  $p<0,05$ ; \* по сравнению с результатами до лечения; # по сравнению со стандартной

больных, особенно при диабете. Существенных изменений активности  $\alpha$ -1-ИП при СН у больных с ИБС как при диабете, так и без него не происходит. Полученные результаты совпадают с результатами, полученными нами ранее [10] и другими авторами, в которых также было зафиксировано повышение уровня химазы и тонина при СН и снижение  $\alpha$ -2-МГ при данной патологии [6, 12].

Анализ динамики сериновых протеиназ на фоне стандартной терапии СН у больных с ИБС с СД 2-го типа и без него не выявил существенного изменения уровня химазы и тонина, хотя некоторое его нарастание в сыворотке крови по сравнению с исходными данными всё-таки отмечалось (табл. 2). Достоверных изменений активности  $\alpha$ -2-МГ в этих группах также выявлено не было. У всех больных, получающих базовое лечение, отмечено существенное увеличение активности  $\alpha$ -1-ИП по сравнению с исходными показателями ( $p < 0,05$ ). Таким образом, можно сделать заключение, что стандартная терапия способствует повышению активности  $\alpha$ -1-ИП у больных с СН при ИБС как с диабетом, так и без него, но не оказывает значительного влияния на активность химазы, тонина и  $\alpha$ -2-МГ.

У больных, получающих дополнительно к основной терапии кетотифен, как с диабетом, так и без него в конце лечения выявлена тенденция к снижению протеиназной активности, которая не достигла достоверных изменений ( $p > 0,05$ ). Однако у пациентов как с диабетом, так и без него, получающих кетотифен, зафиксированы достоверно более низкие конечные показатели химазы по сравнению с конечными показателями протеиназ в группе стандартной терапии ( $p < 0,05$ ), а у лиц без диабета отмечены ещё и достоверно более низкие конечные цифры тонина ( $p < 0,05$ ). У всех больных после приёма стабилизатора мембран тучных клеток отмечено существенное нарастание актив-

ности  $\alpha$ -1-ИП по сравнению с исходными данными ( $p < 0,05$ ), при этом у больных с СД, получавших кетотифен, конечные показатели указанного ингибитора были достоверно более высокими и по сравнению с его конечным уровнем в группе больных с диабетом, не получавших кетотифен ( $p < 0,05$ ). Значительных изменений уровня  $\alpha$ -2-МГ выявлено не было, хотя некоторое повышение его активности после проведённой терапии кетотифеном как при диабете, так и без него по сравнению только со стандартной терапией всё-таки отмечалось (табл. 2). Таким образом, добавление кетотифена к стандартной терапии больным с СН, обусловленной ИБС и СД 2-го типа, приводит к торможению активности химазы, тонина и дополнительно увеличивает активность  $\alpha$ -1-ИП.

Нами проанализирована динамика исследуемых показателей под влиянием кетотифена у больных с наиболее высокой активностью химазы (две верхние тертили), которая при диабете составляла  $5,22 \text{ Е} \cdot 10^{-3}$ , а без диабета –  $3,55 \text{ Е} \cdot 10^{-3}$ . У всех пациентов как с диабетом, так и без него на фоне приёма стабилизатора мембран тучных клеток отмечено достоверное снижение уровня химазы, тонина и существенное нарастание активности  $\alpha$ -1-ИП,  $\alpha$ -2-МГ по сравнению с исходными показателями ( $p < 0,05$ ), табл. 3.

Полученные результаты указывают на то, что у больных с СН с диабетом и без него наиболее выраженный эффект кетотифена отмечается при исходно повышенном значении химазы. Именно у этих пациентов назначение стабилизатора мембран тучных клеток позволяет добиться наиболее значимого снижения активности протеиназ и существенного увеличения уровня их естественных ингибиторов – нормализации баланса в системе протеиназа – ингибитор протеиназ.

Таким образом, в результате проведённых исследований нами ещё раз было под-

при ИБС и СД 2-го типа на фоне стандартной терапии ( $M \pm m$ )

СН+ИБС+СД <sub>2</sub>			
стандартная терапия (n=26)		стандартная терапия + кетотифен (n=25)	
до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
8,16 $\pm$ 1,35	9,20 $\pm$ 1,28	8,07 $\pm$ 1,15	6,02 $\pm$ 1,16 <sup>#</sup>
1,72 $\pm$ 0,25	1,76 $\pm$ 0,30	2,00 $\pm$ 0,32	1,34 $\pm$ 0,43
0,11 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,10	0,15 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,08
7,51 $\pm$ 0,09	7,70 $\pm$ 0,07*	7,63 $\pm$ 0,11	7,90 $\pm$ 0,11* <sup>#</sup>

терапией.

Таблица 3. Влияние терапии кетотифеном на активность протеиназ и их ингибиторов при СН, обусловленной ИБС и СД 2-го типа, в зависимости от активности химазы, распределённой по тертилям ( $M \pm m$ )

Показатель	ХСН+ИБС (n=16) (химаза $> 3,55 \cdot 10^{-3}$ )		ХСН+ИБС+СД <sub>2</sub> (n=19) (химаза $> 5,22 \cdot 10^{-3}$ )	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Химаза, $E \cdot 10^{-3}$	$8,61 \pm 1,01$	$4,73 \pm 1,87^*$	$10,18 \pm 1,12$	$7,00 \pm 1,41^{* \#}$
Тонин, $E \cdot 10^{-3}$	$1,03 \pm 0,20$	$0,63 \pm 0,18^*$	$2,03 \pm 0,30$	$0,95 \pm 0,32^*$
$\alpha$ -2-МГ, г/(л·ч)	$0,13 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,09^*$	$0,15 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,10^{* \#}$
$\alpha$ -1-ИП, г/(л·ч)	$7,37 \pm 0,12$	$7,99 \pm 0,09^*$	$7,54 \pm 0,14$	$7,90 \pm 0,11^*$

Примечание.  $p < 0,05$ ; \* по сравнению с результатами до лечения; # по сравнению с группой без диабета.

тверждено, что СН II–IV ФК, обусловленная ИБС и СД 2-го типа, характеризуется значительным повышением сывороточной активности химазы и тонина. Возможными механизмами повышения протеиназной активности при данной патологии являются оксидативный стресс, воспалительная активация и атеросклеротические нарушения, свойственные больным с ИБС и СН, которые, с одной стороны, обуславливают повреждение клеточных мембран тучных клеток и выход протеолитических ферментов из их гранул в интерстициальную жидкость, кровотока, с другой – снижают синтез естественных ингибиторов протеолиза, что приводит к уменьшению выведения химазы, тонина из кровотока и повышению их активности в сыровотке [6, 10, 12, 13]. Более выраженное повышение активности обеих протеиназ при диабете может объясняться интенсивным проявлением названных патогенетических механизмов, а также наличием дополнительных метаболических факторов, например, гипергликемии и конечных продуктов избыточного гликозилирования, которые сами по себе могут увеличивать активность ферментов образования ангиотензина-II [14, 15].

Нарастание активности указанных сериновых протеиназ в сыровотке крови как при диабете, так и без него сопровождается выраженным снижением активности их естественного ингибитора –  $\alpha$ -2-МГ, которое может быть обусловлено его повышенным расходом на связь с химазой и тонином и последующим выведением из организма, а также уменьшением его синтеза клетками печени из-за атеросклеротических, метаболических и воспалительных нарушений. Достоверное изменение только  $\alpha$ -2-МГ при СН на фоне ИБС с диабетом и без него, вероятно, связано с тем, что  $\alpha$ -2-МГ по скорости включения в реакцию ингибирования

трипсиноподобных протеиназ является первым по сравнению с  $\alpha$ -1-ИП [12] и что он подавляет активность химазы в комплексе с гепарин-протеогликаном, который защищает эту протеиназу от действия  $\alpha$ -1-ИП [16].

При изучении динамики сериновых протеиназ, независимо от их исходной активности, на фоне стандартной терапии в течение трех месяцев у всех больных выявлено некоторое нарастание активности химазы и тонина, которое при проведении статистического анализа оказалось недостоверным. Отсутствие значительного увеличения протеиназной активности может быть связано с компенсаторным повышением уровня  $\alpha$ -1-ИП. Можно предположить, что стандартная терапия, которая проводилась обследуемым пациентам, способствовала нарастанию активности  $\alpha$ -1-ИП в сыровотке крови.

Назначение стабилизатора мембран тучных клеток – кетотифена дополнительно к основной терапии больным с СН и ИБС независимо от исходного уровня химазы способствует дополнительному увеличению активности  $\alpha$ -1-ИП у всех пациентов, особенно при наличии СД, а также тормозит активацию химазы и тонина. У больных с активностью химазы выше нижней тертили кетотифен способствует нормализации баланса в системе протеиназа – ингибитор протеиназ вследствие значительного повышения активности не только  $\alpha$ -1-ИП, но и  $\alpha$ -2-МГ, а также существенного снижения активности химазы и тонина.

Оценивая патогенетическое значение снижения активности химазы, необходимо учитывать, что данная протеиназа не только воздействует на образование ангиотензина-II, но и способна влиять на течение СН посредством других механизмов. Она индуцирует апоптоз кардиомиоцитов и сосудистых гладкомышечных клеток посредством разрушения фибронектина с последующим

нарушением фокальной адгезии [8, 13, 17], активизирует трансформирующий фактор роста- $\beta$ , фактор некроза опухолей- $\alpha$  и матричной металлопротеиназы (ММП), такие как ММП-1 [6, 13], ММП-3 и ММП-9 [18], что способствует разрушению межклеточного матрикса, развитию интерстициального фиброза, ухудшению внутрисердечной гемодинамики и снижению сократительной функции миокарда. Перечисленные механизмы ещё раз указывают на то, что ингибирование химазы может положительно влиять на течение СН.

Перспективным является дальнейшее исследование клинических эффектов длительного применения кетотифена при ХСН, более широкая оценка влияния этого стабилизатора мембран тучных клеток на качество жизни, внутрисердечную гемодинамику и другие биохимические маркёры СН, ИБС и СД.

#### Выводы

1. При сердечной недостаточности, обусловленной ишемической болезнью сердца, и особенно при её сочетании с сахарным диа-

бетом 2-го типа отмечается значительное повышение активности химазы, тонина и выраженное снижение активности их естественного ингибитора  $\alpha$ -2-макроглобулина на фоне отсутствия изменений  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ.

2. Стандартная терапия сердечной недостаточности у больных с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа сопровождается незначительным нарастанием активности химазы, тонина, но при этом способствует значительному повышению активности  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ.

3. Назначение кетотифена больным с сердечной недостаточностью при ишемической болезни сердца с существенным повышением активности химазы как у больных с диабетом, так и без него способствует значительному снижению показателей химазы, тонина и существенному увеличению уровня их естественных ингибиторов –  $\alpha$ -2-макроглобулина и  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ.

Дальнейшая оценка клинических эффектов кетотифена будет продолжена.

#### Литература

1. Mann D.L., Bristow M.R. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation* 2005; 112, 4: 2837–49.
2. Dickstein K., Cohen-Solal A., Filippatos G. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. *Eur. Heart J.* 2008; 29: 2388–442.
3. Мареев В.Ю., Пожарский Н.И., Скворцов А.А., Челмакина С.М. Модулирование активности системы нейрогуморальной регуляции при хронической сердечной недостаточности. Блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. *РМЖ* 2000; 8, 2: 87–93.
4. Phillips C.O., Kashani A., Ko D.K. et al. Adverse effects of combination angiotensin II receptor blockers plus angiotensin-converting enzyme inhibitors for left ventricular dysfunction. A quantitative review of data from randomized clinical trials. *Arch. Intern Med.* 2007; 167, 18: 1930–36.
5. Matsumoto T., Wada A., Tsutamoto T. et al. Chymase inhibitor prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2555–58.
6. Palaniyandi S., Nagai Y., Watanabe K., Ma M. et al. Chymase inhibition reduces the progression to heart failure after autoimmune myocarditis in rats. *Experim. Biology and Medicine* 2007; 232: 1213–21.
7. Takai S., Jin D., Sakaguchi M. et al. A novel chymase inhibitor, 4-[1-([bis-(4-methyl-phenyl)-methyl]-carbamoyl)3-(2-ethoxy-benzyl)-4-oxo-azetidine-2-xyloxy]-benzoic acid (BCEAB), suppressed cardiac fibrosis in cardiomyopathic hamsters. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 305: 17–23.
8. Doggrell S., Wanstall J. Vascular chymase: pathophysiological role and therapeutic potential of inhibition. *Cardiovasc. Res.* 2004; 61, 4: 653–662.
9. Janicki J., Brower G.L. Treating / preventing heart failure via inhibition of mast cell degranulation. United States Patent № 6,140,348. Int. A61K31/4535. Appl. № 09/375,372. Field. 17. Aug. 1999. 31 Oct. 2000.
10. Сердобинская-Канивец Э.Н., Волков В.И., Серик С.А., Самохина Л.М. Особенности участия сериновых протеиназ в патогенезе сердечной недостаточности, обусловленной ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа. *Укр. кардіол. журн.* 2009; 5: 73–77.
11. Самохина Л.М., Дубинин А.А. Способ определения активности протеиназ или их ингибиторов в биологических жидкостях. Пат. России № 1655991. МПК G 01 № 33/48, C 12 Q 1/38/. Заявка № 4654144; заявл. 22.02.89 г.; опубл. 20.01.94 г.
12. Самохіна Л.М., Лазарева С.О., Волков В.І. Особливості участі тоніну і кальпаїнів у патогенезі серцевої недостаточності. *Досягнення біології та медицини* 2007; 9, 1: 14–17.
13. Leskinen M.J., Lindstedt K.A. Wang Y., Kovanen P.T. Mast cell chymase induces smooth muscle cell apoptosis by a mechanism involving fibronectin degradation and disruption of focal adhesions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 238.

14. Koka V., Wang W., Huang X.R. *et al.* Advanced glycation end products activate a chymase-dependent angiotensin II-generating pathway in diabetic complications. *Circulation* 2006; 113: 1353–60.
15. Lavrentyev E.N., Estes A. M., Malik K.U. Mechanism of high glucose-induced angiotensin II production in rat vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 2007; 101, 5: 455–464.
16. Самохіна Л.М., Гольдрин Е.Н., Милославський Д.К., Бабаджан В.Д. Ингибиторы протеиназ в регуляции активности химазы при гипертонической болезни. Новые горизонты в развитии терапии: Сб. научн. тр. МОЗ Украины, ХГМУ, Ин-т терапии АМН Украины. Харьков: Торсинг, 2002: 198–202.
17. Hara M., Matsumori A., Ono K. *et al.* Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. *Circulation* 1999; 100: 1443–49.
18. Chen L.Y., Li P., He Q. *et al.* Transgenic study of the function of chymase in heart remodelling. *J. Hypertens.* 2002; 20: 2047–55.

**ВПЛИВ КЕТОТИФЕНУ НА АКТИВНІСТЬ ПРОТЕЇНАЗ І ЇХ ІНГІБІТОРІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ СЕРЦЕВУ НЕДОСТАТНІСТЬ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ ТА ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2-ГО ТИПУ**  
**В.І. Волков, Е.М. Сердобінська-Канівець, С.А. Серік, Л.М. Самохіна**

Показано, що хронічна серцева недостатність (СН) у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) характеризується суттєвим підвищенням сироваткової активності хімази і тоніну, особливо у хворих із супутнім ЦД 2-го типу. Підвищення протеїназної активності супроводжується значним зниженням активності їх інгібітора –  $\alpha$ -2-МГ у всіх хворих на СН, особливо при наявності ЦД. Суттєвих змін активності  $\alpha$ -1-ІП при СН у хворих на ІХС як з діабетом, так і без нього не відбувається. Виявлено, що стандартна терапія сприяє підвищенню активності  $\alpha$ -1-ІП у всіх хворих на СН незалежно від наявності діабету. Додавання кетотифену до стандартної терапії хворим на СН призводить до гальмування протеїназної активності і додатково підвищує активність  $\alpha$ -1-ІП. У хворих з активністю хімази вище нижньої тертилі кетотифен сприяє поліпшенню балансу в системі протеїназа – інгібітор протеїназ внаслідок суттєвого зниження протеїназної активності, а також значного підвищення активності не тільки  $\alpha$ -1-ІП, але й  $\alpha$ -2-МГ.

**Ключові слова:** серцева недостатність, ішемічна хвороба серця, цукровий діабет 2-го типу, протеїнази, інгібітори протеїназ, кетотифен.

**EFFECT OF KETOTIFEN ON PROTEINASES AND THEIR INHIBITORS ACTIVITY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE, WHICH INDUCED BY ISCHEMIC HEART DISEASE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

**V.I. Volkov, E.N. Serdobinskaya-Kanivets, S.A. Serik, L.M. Samokhina**

It is shown, that chronic heart failure (HF), which induced by ischemic heart disease (IHD) characterized by significantly increasing of chymase and tonin activity, particularly in patients with concomitant diabetes. Elevation of proteinase activity accompanied by significant decreasing of it inhibitor  $\alpha$ -2-MG in all patients, particularly in patients with diabetes. The changes of  $\alpha$ -1-PI activity were nonsignificant in HF patients with and without type 2 diabetes. Standard therapy induces elevation of  $\alpha$ -1-PI activity in all patients with HF independently from diabetes presence. Ketotifen tacking to standard therapy in HF patients induce inhibition of proteinase activity and increase  $\alpha$ -1-PI activity additionally. In patients with chymase activity above the lower tertile, ketotifen induce balance improvement in the proteinase – proteinase inhibitor system, because it decrease chymase, tonin activity significantly and also increase not only  $\alpha$ -1-PI, but also  $\alpha$ -2-MG activity substantially.

**Key words:** heart failure, ischemic heard disease, type 2 diabetes, proteinases, proteinases inhibitors, ketotifen.

Поступила 13.01.10

## ЗАВИСИМОСТЬ УРОВНЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ОТ ГИПОМАГНИЕМИИ, ГЛЮКОЗЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

**С.А. Крапивко**

*Харьковский национальный медицинский университет  
Городская клиническая больница № 27, г. Харьков*

Изучено влияние магния оротата на сердечно-сосудистую систему, в частности на уровень артериального давления и гемодинамические показатели у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), а также на углеводный обмен у больных с ХСН и сахарным диабетом 2-го типа.

**Ключевые слова:** *магния оротат, артериальная гипертензия, глюкоза крови, хроническая сердечная недостаточность.*

Значительную роль дефицита магния в развитии и становлении артериальной гипертензии (АГ) подтверждают результаты исследований, в которых показано, что вследствие дефицита магния показатели артериального давления (АД) устанавливаются на более высоком уровне, а хронический дефицит магния приводит к сосудистому ремоделированию [1]. Концентрация ионизированного магния в сыворотке крови и содержание магния внутри клеток ниже у больных с эссенциальной гипертензией или при сочетании гипертензии и ожирения по сравнению с содержанием катиона у здоровых людей [2, 3].

Магний активно регулирует кальций-связывающую способность большинства биологических мембран, тем самым участвуя в управлении трансмембранного движения кальция, защищая клетку от избыточного захвата кальция митохондриями; всё это позволяет рассматривать его в качестве естественного физиологического природного антагониста кальция. Как результат кальцийблокирующего действия проявляется дозозависимое вазодилатирующее влияние магния вследствие снижения тонуса гладких мышц. Также магний вызывает уменьшение выделения катехоламинов и понижение чувствительности сосудов к этим прессорным агентам; способен усиливать натрийурез, повышая почечный кровоток посредством активизации простаглицлина [4, 5].

При гипомagneмии больные становятся в определённой степени резистентны к действию гипотензивных препаратов. Кро-

ме того, результаты эпидемиологических исследований [6] позволяют утверждать, что применение препаратов магния способно предотвратить развитие АГ.

Активация симпатoadренальной системы, нарушения ионного транспорта, снижение эластичности аорты, увеличение чувствительности к стрессу также являются механизмами повышения АД при дефиците магния. Недостаток магния при сердечной недостаточности свидетельствует о том, что заболевание, как правило, является результатом прогрессирования АГ, а также её осложнений [7].

Целью данного исследования было оценить влияние магния оротата на уровень АД, уровень глюкозы крови, индекс массы тела (ИМТ) и их взаимозависимость у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) и сахарным диабетом (СД) 2-го типа в стадии декомпенсации.

Диагноз СД 2-го типа устанавливали при определении гликемии натощак 6,1 ммоль/л и больше (при условии предшествующего голодания не менее 8–12 часов) или случайно в течение суток выше 11 ммоль/л (при наличии клинических симптомов заболевания). Для подтверждения результатов анализа проводились неоднократно.

**Материал и методы.** Нами было обследовано 98 больных с ХСН, из них 68 с СД 2-го типа. АГ (устанавливалась в зависимости от поражения органов-мишеней согласно Рекомендациям ВОЗ, 1999) отмечалась у 98 % больных; 29,6 % больных перенесли инфаркт миокарда. Диагноз ХСН устанавли-

вался на основании жалоб больных, данных анамнеза, объективного обследования, лабораторных и инструментальных методов исследования. В исследование включались больные I–II функционального класса (ФК) ХСН. ФК ХСН определяли согласно Классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA, 1964). Средний возраст больных составил  $(63,7 \pm 1,0)$  лет; ИМТ –  $27,9 \pm 0,4$ . Среди обследованных было 41,8 % мужчин и 58,2 % женщин. В 1-ю группу вошли больные с ХСН и СД 2-го типа, получавшие магния оротат – 38 пациентов, во 2-ю группу – 30 пациентов с ХСН и СД 2-го типа, не получавшие магния оротат, в 3-ю группу – 30 пациентов с ХСН без СД 2-го типа, получавшие магния оротат. Всем больным проведены электрокардиография, количественная эхокардиография, рентгенография органов грудной клетки, тест 6-минутной ходьбы и исследование уровня эндотелина-1 и метаболитов азота ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ) «R&D Systems, Total Nitric Oxide Assay», липидов крови, уровня магния в сыворотке крови «Kone LabSystems», уровня гликозилированного гемоглобина в сыворотке крови.

Больные получали базисную терапию согласно стандартам лечения ХСН и СД 2-го типа, а также рекомендациям Европейского общества кардиологов – ингибитор АПФ – лизиноприл, АРА II, индапамид, аспекард, статины, гипогликемическая терапия. Лечение продолжалось в течение 10–12 недель. Пациентам 1-й и 3-й групп при отсутствии противопоказаний назначали дополнительно к стандартной терапии магния оротат 1000 мг 3 раза в сутки – 7 дней, потом по 500 мг 2 раза в сутки. Повторное обследование проводили через 12 недель. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование показало, что уровни систолического артериального давления (САД) и диасто-

лического (ДАД) были достоверно выше у пациентов 1-й группы. Достоверной разницы в уровне магния в крови не выявлено (табл. 1). Но у пациентов 1-й и 3-й групп отмечалась гипомagneмия –  $(0,71 \pm 0,02)$  и  $(0,64 \pm 3,1)$  ммоль/л соответственно, а у пациентов 2-й группы уровень магния был в пределах нормы, которая составляла  $(0,74 \pm 1,2)$  ммоль/л [8].

После лечения у пациентов с ХСН и ХСН+СД 2-го типа, получавших магния оротат, отмечалось повышение содержания магния в сыворотке крови на 21,1 %, а также снижение уровня САД на 25,8 %, ДАД на 17,44 %, частоты сердечных сокращений (ЧСС) на 15,6 %, пульса на 15,27 % по сравнению с пациентами с ХСН+СД 2-го типа, не получавшими магния оротат, у которых показатели магния, АД, пульса и ЧСС изменились незначительно (табл. 2).

Полученные нами результаты согласуются с данными о влиянии магния на уровень АД при пероральном приёме у больных с АГ, которая явилась причиной ХСН [9, 10], и на снижение ЧСС [11].

Больные с ХСН и СД 2-го типа в зависимости от стадии АГ также были разделены на две группы: с АГ II стадии было 59 чел., с АГ III стадии – 25. Уровни магния, САД, ДАД, ЧСС достоверно не различались, но имелась разница в показателях конечного систолического объёма (КСО), конечного систолического размера (КСР), фракции выброса (ФВ), и в процессе лечения эти показатели изменялись (табл. 3).

Так, ФВ у пациентов 1-й группы достоверно увеличилась на 10 %, 2-й группы – на 18 %. КСР уменьшился на 9,39 %, а КСО на 20,95 % в 1-й группе пациентов и соответственно на 22,82 и 40,2 % – во 2-й. Полученные данные подтверждают полученные ранее данные о влиянии магния на ФВ, КДО и КСО [8].

Была отмечена обратная корреляционная зависимость между уровнем САД и ИМТ

*Таблица 1. Биохимические и гемодинамические показатели в группах обследованных больных*

Показатель	Группы больных		
	1-я, ХСН+СД 2-го типа, получавшие магния оротат (n=38)	2-я, ХСН+СД 2-го типа, не получавшие магния оротат (n=30)	3-я, ХСН (n=30)
САД, мм рт.ст.	$166,1 \pm 2,5$	$156,2 \pm 0,4$	$148,6 \pm 4,9$
ДАД, мм рт.ст.	$96,3 \pm 1,2$	$93,7 \pm 3,1$	$88,6 \pm 3,8$
Глюкоза крови, ммоль/л	$7,75 \pm 0,33$	$7,02 \pm 0,12$	$4,29 \pm 0,12$
Магний, ммоль/л	$0,71 \pm 0,02$	$0,64 \pm 3,1$	$0,76 \pm 0,04$

Таблица 2. Динамика гемодинамических показателей и уровня магния у больных с ХСН и СД 2-го типа

Показатель	Группы больных			
	1-я, ХСН+СД 2-го типа (n=38)		2-я, ХСН+СД 2-го типа (n=30)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ЧСС, уд/мин	78,7±1,4	66,4±0,6*	74,5±0,8	69,4±0,4 <sup>#</sup>
Пульс, уд/мин	77,9±1,3	66,0±0,6*	80,2±1,0	73,90±1,01 <sup>#</sup>
САД, мм рт. ст.	166,1±2,5	123,2±1,0*	156,2±0,4	145,0±2,1*
ДАД, мм рт. ст.	96,3±1,2	79,5±1,0*	93,7±3,1	87,5±0,6 <sup>#</sup>
Магний, ммоль/л	0,71±0,02	0,86±0,02*	0,64±3,1	78,7±1,4 <sup>#</sup>

Примечание. \* p<0,01; <sup>#</sup> p>0,05; достоверность по отношению к показателям до лечения.

Таблица 3. Стадии АГ до и после лечения у больных с ХСН и СД 2-го типа

Показатель	АГ II стадии (n=59)		АГ III стадии (n=25)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ЧСС, уд/мин	78,4±1,6	66,4±0,6*	79,4±3,0	66,4±1,2*
Пульс, уд/мин	77,2±1,4	65,8±0,6*	79,4±3,0	66,4±1,2*
САД, мм. рт. ст.	164,7±2,7	123,9±1,2*	169,2±5,5	121,4±1,7*
ДАД, мм. рт. ст.	96,0±1,4	79,9±1,0*	97,0±2,3	78,6±2,1*
КДО, мл	109,3±4,8	100,7±4,3*	121,1±8,5	89,5±7,3*
КСО, мл	46,3±2,6	36,6±2,0 <sup>^</sup>	61,4±5,7	36,7±4,0 <sup>^</sup>
КДР, см	4,78±0,09	4,34±0,09*	4,98±0,15	4,10±0,15*
КСР, см	3,30±0,07	2,99±0,07 <sup>#</sup>	3,68±0,15	2,84±0,14 <sup>#</sup>
ФВ, %	58,0±1,1	63,9±0,9 <sup>^</sup>	51,0±1,7	60,2±1,6 <sup>^</sup>

Примечание. \* p>0,05; <sup>#</sup> p<0,05; <sup>^</sup> p<0,01.

(r=-0,44, p<0,01), уровнями глюкозы крови (r=-0,42, p<0,01), магния (r=-0,47, p<0,01).

Так, при повышении уровня САД >200 мм рт. ст. уровень ИМТ повышался с 28,18±0,39 до 30,57±1,09, то есть увеличивался на 8,48 %; при увеличении САД >160 мм рт. ст. уровень глюкозы увеличился на 27,35 %: с (6,47±0,51) до (8,24±0,40) ммоль/л; при повышении уровня САД >150 мм рт. ст. уровень магния достоверно уменьшался с (0,83±0,07) до (0,69±0,02) ммоль/л. Полученные данные свидетельствуют, что чем выше уровень АД, тем ниже уровень магния в сыворотке крови, таким образом, получается замкнутый круг – чем выше АД, тем ниже уровень магния, что, в свою очередь, приводит к повышению его.

Также отмечена прямая зависимость между уровнем глюкозы крови и уровнями ДАД (r=0,45, p<0,01), ИМТ (r=0,64, p<0,01). При уровне глюкозы крови >6,5 ммоль/л ИМТ увеличивается с 27,13±0,57 до 29,16±

0,46, то есть на 7,48 %. В то же время при повышении уровня глюкозы крови увеличивается уровень ДАД на 8,08 %. Так, при уровне глюкозы <5,6 ммоль/л ДАД равняется 90,56±2,49, а при уровне >5,6 ммоль/л – 97,88±1,27.

Исследование показало положительное влияние магния оротата на гемодинамические показатели у больных с ХСН и СД 2-го типа, влияние уровня глюкозы крови на ИМТ и уровень АД. Таким образом, эффект магния оротата достигается при добавлении его к стандартной терапии больным с АГ.

Наши данные согласуются с полученными ранее данными [12] о том, что у больных АГ существует системный дефицит магния, при этом уровень АД находится в обратной зависимости от содержания внутритканевого магния. Следовательно, препарат магния оротат следует рекомендовать всем больным с повышенной массой тела, артериальной гипертензией и повышенным уровнем глюкозы в крови.

### Література

1. *Altura B.M., Altura B.T.* Cardiovascular risk factors and magnesium: relationships to atherosclerosis, ischemic heart disease and hypertension. *Magnes. Trace Elem.* 1991–1992; 10 (2–4): 182–192.
2. *Classen H.G.* Magnesium orotate-experimental and clinical evidence. *Rom. J. Intern. Med.* 2004; 42 (3): 491–501.
3. *Лазебник Л.Б., Дроздова С.Л.* Коррекция магниевого дефицита при сердечно-сосудистой патологии. *Кардиология* 1997; 5: 103–104.
4. *Коломиец В.В., Боброва Е.В.* Физиологические механизмы регуляции метаболизма магния. *Укр. кардіол. журн.* 1998; 4: 54–58.
5. *Шилов А.М., Рабинович Ж.Г., Мельник М.В. и др.* Дефицит магния и артериальная гипертония (терапевтическая коррекция). *Рос. мед. вести* 2000; 2: 62–65.
6. *Chakraborti S., Chakraborti T., Mandal M. et al.* Protective role of magnesium in cardiovascular disease: a review. *Mol. Cell. Biochem.* 2002 Sept.; 238 (1–2): 163–179.
7. *Witte K.K., Clark A.L.* Micronutrients and their supplementation in chronic cardiac failure. An update beyond theoretical perspectives. *Heart Fail. Rev.* 2006 Mar.; 11 (1): 65–74.
8. *Терапия магнезиуморотатом. Таблетки Магнерот.* Научный обзор. М.: Медпрактика, 2001: 31.
9. *Berglund A., Andersson O.K., Berglund G., Fagerberg B.* Antihypertensive effect of diet compared with drug treatment in obese men with mild hypertension. *BMJ* 1989; 299: 480–485.
10. *Stevens V.J., Obarzanek E., Cook N.R. et al.* Long-term weight loss and changes in blood pressure: results of the trials of hypertension prevention, phase II. *Ann. Intern. Med.* 2001; 134 (1): 1–11.
11. *Рагозина Н.П., Чуринов К.В., Чурина С.К.* Пероральные препараты магния при остром инфаркте миокарда: влияние на течение заболевания и развитие аритмий. *Вестн. аритмол.* 2000; 19: 23–28.
12. *Явелов И.С., Сметанина И.И., Аверков О.В., Грацианский Н.А.* Влияние внутривенной инфузии сульфата магния на общую систолическую функцию левого желудочка и клинические проявления сердечной недостаточности у больных с подозрением на ОИМ. Результаты двойного слепого плацебо-контролируемого исследования. *Кардиология* 1996; 9: 28–39.

### ЗАЛЕЖНІСТЬ РІВНЯ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ ВІД ГІПОМАГНІЄМІЇ, ГЛЮКОЗИ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ І ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ

**С.О. Кравівко**

Вивчено вплив магнію оротату на серцево-судинну систему, зокрема на рівень артеріального тиску і гемодинамічні показники у хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН), а також вплив на вуглеводний обмін у хворих з ХСН і цукровим діабетом 2-го типу.

**Ключові слова:** магнію оротат, артеріальна гіпертензія, глюкоза крові, хронічна серцева недостатність.

### DEPENDENCE OF LEVEL OF ARTERIAL HYPERTENSION ON HYPOMAGNESEMIA, GLUCOSE OF BLOOD FOR PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

**S.O. Krapivko**

Influence of magnesium orotate on the cardiovascular system was studied, in particular on the level of blood pressure and haemodynamic indexes for patients with chronic heart failure, accompanied for patients with type 2 diabetes mellitus.

**Key words:** magnesium orotate, arterial hypertension, glucose of blood, chronic heart failure.

Поступила 29.09.09

## СОСТОЯНИЕ КОНСУЛЬТАТИВНОЙ РЕВМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ЖИТЕЛЯМ ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

*С.А. Триполка, В.В. Жеребкин*

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Проанализировано, как оказывается консультативная ревматологическая помощь жителям Харьковской области на протяжении последних нескольких лет. Показаны проблемы, возникающие при оказании лечебно-консультативной помощи, и предложены меры по их преодолению.

**Ключевые слова:** ревматологическая помощь, распространённость заболевания, кадровый потенциал.

Ревматические болезни имеют важное социальное и медицинское значение в связи с неуклонным ростом распространённости их как в общей, так и в детской популяции, в связи с чем Всемирная организация здравоохранения объявила 2000–2010 годы декадой борьбы с заболеваниями костей и суставов [1–3]. Несмотря на рост распространённости ревматических болезней и их тяжёлое инвалидизирующее течение, служба, оказывающая специализированную ревматологическую помощь жителям районов области, не имеет необходимого материального и кадрового потенциала.

Специализированную ревматологическую помощь больным, проживающим в области, оказывает ревматологический кабинет поликлинического отделения областной клинической больницы (ОКБ). Ревматологический кабинет также даёт плановые амбулаторно-поликлинические консультации больным в районах области, областных медицинских учреждениях, проводит организационно-методическую работу в области, решает трудные вопросы по направлению областной ВКК и МСЭК. Контигент профильных больных включает пациентов с воспалительными и аутоиммунными заболеваниями эндо-, мио- и перикарда; диффузными заболеваниями соединительной ткани; воспалительными и дегенера-

тивными заболеваниями суставов; аутоиммунными заболеваниями сосудов и др. За год в среднем к ревматологу обращается около 5–6 тыс. больных. Динамика врачебных консультаций представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, число принятых больных в 2008 и 2009 гг. несколько уменьшилось. Это связано в основном с уменьшением числа больных, проживающих в районах области. Нагрузка на 1 час приёма врача-ревматолога в консультативной поликлинике ОКБ снизилась с 3,5 в 2006 г. до 3,1 в 2009 г., однако функция врачебной должности остаётся достаточно высокой – 115 %. Относительно стабильным остаётся и большое количество повторных консультаций, что связано с отсутствием полного объёма необходимого биохимического и иммунологического обследования больных в районах области, с низким социальным уровнем пациентов, не имеющих возможности оплатить исследования, длинной очередностью УЗИ-исследований. Большое количество повторных консультаций обусловлено также характером ревматологической патологии, торпидностью течения большинства ревматических заболеваний, длительным сроком подбора базисной терапии, необходимостью контрольных осмотров и оценки качества лечения в связи с отсутствием в большинстве районов специалистов, зани-

*Таблица 1. Динамика консультаций ревматологов по годам*

Проконсультировано	2006	2007	2008	2009
Всего	6025	5640	5134	5133
По районам области	5787	5360	4851	4810
По Харькову	238	280	259*	323
Из них первичных	4447	3467	3758	3654

\* 24 чел. из других областей Украины.

мающихся вопросами ревматических болезней.

В последние годы остаются относительно стабильными и соответствующими статистическим нормативам следующие показатели: общее число больных, нагрузки на час работы (3,4 при норме 2,9) и функции врачебной должности (110 %).

Источники направления больных на консультативный приём в областную поликлинику в 2008 и 2009 гг. приведены в табл. 2.

*Таблица 2. Источники направления больных на консультацию в областную поликлинику в 2008 и 2009 гг.*

Источники направления	Число больных	
	2008	2009
Центральная районная больница (ЦРБ)	4008	3987
Городские больницы	275	275
Участковый врач	64	64
Семейные амбулатории	571	571
Детский врач	1	1
Областные ЛПУ	14	14
РВК, ОВК	52	52
Выезды в районы	66	66
Прикрепленные	6	6
Другие	21	21
Без направлений	128	117

То, что большинство больных направляются на консультативный приём в ЦРБ, правильно, а вот то, что около 10 % больных направляются участковыми врачами, минуя районные больницы, приводит к необходимости назначения повторной консультации из-за низкого уровня обследования в участковых больницах. В 2008 г. в два раза по сравнению с 2006 г. снизилось число больных, обратившихся на приём к ревматологу без направления, что связано с улучшением в районах области организации ревматологической службы и появлением там штатных ревматологов. В большинстве случаев самостоятельно обращаются за консультативной помощью больные из отдалённых сёл области или жители Харьковского и Дергачёвского районов, для которых транспортное сообщение с ОКБ доступнее, чем с районной больницей. Это также увеличивает число больных, нуждающихся в повторной консультации, ибо встаёт необходимость обследования их в условиях ОКБ.

Основной процент направленных составили жители районных центров и посёлков городского типа (75 %). Доступность ревма-

тологической помощи сельскому населению несколько выросла (на 5 %), однако остаётся недостаточной, что во многом связано с низким социальным уровнем данной категории больных. Не учитывается возможность оздоровления данного контингента вне периода весенне-летних полевых работ, что требует усиления работы кураторов и районных специалистов по устранению данных недостатков.

Направляемость из районов области на консультативный приём к ревматологу в поликлинику ОКБ приведена в табл. 3.

Как видно из табл. 3, лидерами по направляемости являются Боровской, Волчанский, Дергачёвский, Печенежский, Змиевской, Красноградский, Харьковский районы и г. Люботин. Достаточно низким в течение ряда лет остаётся количество больных, направленных из Барвенковского, Богодуховского, Первомайского районов. И если данный показатель в Барвенковском районе можно объяснить значительной удалённостью от областного центра, неудовлетворительным транспортным сообщением, то Богодуховский и Первомайский районы находятся в значительно более удобных транспортных условиях по сравнению с Боровским районом, однако больных из этих районов направляется практически в два раза меньше. Это можно объяснить недостаточной работой с пациентами ревматологического профиля врачей ЦРБ. И это с учетом того, что в каждом из отстающих районов нет штатного районного ревматолога.

Оценивая динамику направляемости [4], необходимо отметить значительно возросшее (практически в два раза) число больных из Красноградского и Печенежского районов. В течение ряда лет остаются стабильными направления больных из Балаклеевского, Шевченковского, Близнецовского, Змиевского, Купянского районов. Всё это свидетельствует о хорошей работе районных специалистов с больными ревматологического профиля.

В течение последних лет сохраняется стойкая тенденция по уменьшению больных из Изюмского, Валковского, Нововодолажского районов, и в то же время в Изюмском и Валковском районах выявляется низкий уровень оказания ревматологической помощи. Так, больные, направленные из Изюмского района, как правило, проходят там минимум обследований, обращаются на приём уже в крайне запущенных стадиях заболевания, прой-

Таблица 3. Направляемость по районам на консультацию к ревматологу в областную поликлинику за 2006–2009 гг.

Район	2006		2007		2008		2009	
	абс. ч.	ИП	абс. ч.	ИП	абс. ч.	ИП	абс. ч.	ИП
Балакле́йский	325	36,8	326	36,81	307	37,8	367	42,2
Барвенковский	98	33,9	53	18,2	61	22,4	75	28,5
Близнецовский	79	34,2	60	29,8	79	35,9	55	25,6
Богодуховский	99	23,0	63	19,3	80	19,2	55	13,4
Боровской	88	44,9	63	40,1	81	43,1	80	43,3
Валковский	195	56,4	121	51,1	108	32,0	129	38,6
Великобурлукский	106	40,9	88	38,9	81	32,6	59	24,1
Волчанский	209	40,8	215	41,1	239	48,0	234	47,5
Двуречанский	63	30,9	45	28,1	61	31,2	78	40,7
Дергачёвский	466	48,5	398	46,7	470	49,2	406	42,6
Зачепиловский	36	20,6	59	30,5	38	22,5	29	17,4
Змиевской	395	51,4	321	49,6	334	44,5	350	47,2
Золочевский	89	28,9	65	23,2	76	25,8	91	31,6
Изюмский	324	43,2	203	30,2	175	23,8	211	39,6
Кегичёвский	62	27,3	71	36,7	52	23,4	64	29,1
Коломакский	15	17,9	11	18,2	29	36,0	17	21,4
Красноградский	137	28,8	145	33,28	213	45,5	163	35,2
Краснокутский	96	31,2	52	16,8	89	29,4	111	37,1
Купянский	287	36,6	220	31,0	273	31,5	290	33,7
Лозовской	327	33,8	269	30,3	243	23,9	249	24,6
Нововодолажский	204	54,4	148	47,4	127	35,0	94	26,2
Первомайский	158	31,2	126	27,9	75	15,0	105	21,4
Печенежский	58	36,6	39	40,1	73	66,9	64	53,1
Сахновщинский	71	33,8	64	24,7	55	23,2	54	23,1
Харьковский	1185	64,7	992	78,9	1024	55,9	943	51,4
Чугуевский	332	39,8	245	31,7	221	27,0	242	23,2
Шевченковский	78	35,0	84	36,9	77	35,4	68	31,7
г. Люботин	142	64,3	103	50,6	259	105,1	323	131
г. Харьков	238	2,2	208	2,1	110	0,76	112	0,72

для неадекватные курсы лечения по месту жительства.

Распределение больных по нозологическим единицам в 2007–2009 гг. представлено в табл. 4.

Основной группой больных, обратившихся на консультативный приём к ревматологу, как и в предыдущие годы, являются больные с заболеваниями костно-мышечной системы и соединительной ткани – 4315 чел. (82,8 % от общего количества больных). В основном это больные с воспалительными и дегенеративными заболеваниями суставов. Однако наряду с этим увеличилось число больных с диффузными заболеваниями соединительной ткани. Относительно стабильным остаётся число больных ревматоидным артритом и реактивным артритом. Практически в два раза выросло число больных с полиостеоартрозом, что связано с проведением активной кураторской рабо-

ты в районах области и ориентацией районных ревматологов и семейных врачей на выявляемость и актуальность данной патологии (табл. 4).

Несколько возросло число больных с подагрическим артритом, что во многом связано с улучшением качества диагностики данной патологии, освещением данного вопроса на днях специалиста и лекциях, проведённых при кураторских выездах. Небольшой процент (около двух) составляют больные с миокардиодистрофией, вегетосудистой дистонией, ишемической болезнью сердца, дилатационной кардиомиопатией, остеохондрозом, синдромом Рейно, которые были направлены к ревматологу участковыми врачами. Это вызвано неправильной интерпретацией клинических или инструментальных данных. После установления диагноза эти больные были направлены ревматологом для дальнейшего лече-

Таблица 4. Распределение больных по нозологическим единицам в 2007–2009 гг.

Нозологические формы	Число больных по годам		
	2007	2008	2009
Ревматоидный артрит	1063	880	880
Первичный полиостеоартроз	572	1205	963
Подагра	430	553	454
Болезнь Бехтерева	238	186	207
Реактивный артрит	860	674	745
Псориатическая артропатия	67	158	108
Коллагенозы	300	346	511
Васкулиты	117	84	125
Ревматизм	940	509	552

ния к соответствующим специалистам ОКБ (кардиологу, травматологу, невропатологу).

Общее число больных, поступивших в 2008 г. в ревматологическое отделение, составило 925. Как и в предыдущие годы, основным источником направлений больных в отделение является консультативная поликлиника ОКБ, на протяжении ряда лет данный показатель остаётся стабильно высоким – более 90 % (в 2008 г. 93,9 %), что свидетельствует о правильном направлении работы по отбору пациентов на госпитализацию, а также работы областного специализированного центра. Плановая госпитализация обеспечивает более полное обследование больных на догоспитальном этапе и является резервом для сокращения сроков пребывания больных в стационаре.

Основной процент госпитализируемых больных в отделение в плановом порядке остаётся достаточно стабильным. Сохраняется небольшой процент больных, направленных в ревматологическое отделение в ургентном порядке. При анализе амбулаторных карт таких больных выявлена поздняя диагностика и несвоевременное направление из районов области, что обуславливает тяжесть их состояния и некурабельность.

Наряду с клиническим обследованием, широко используются и другие современные методы исследования: биохимические, инструментальные, иммунологические. Количество последних возросло. Помимо достаточно известных методов, таких как определение антистрептолизина, ревматоидного фактора, широкое распространение в последние годы получило определение антител к ДНК, к криоглобулинам, антицитруллиновым антител для диагностики раннего ревматоидного артрита [1], исследование волчаночного антикоагулянта для

ранней диагностики СКВ, антител к разнообразным возбудителям, играющим патогенетическую роль в развитии и прогрессировании ревматологических заболеваний, полимеразной цепной реакции, определение антифосфолипидных антител, что, несомненно, повышает качество диагностического процесса. Однако не всегда у больных имеется возможность оплачивать необходимые исследования, что является сдерживающим фактором для более широкого использования названных диагностических проб. Достаточно высоким остаётся использование рентгенологических исследований. Это и проведение рентгенологического обследования в условиях ОКБ и консультация рентгенологических снимков, сделанных по месту жительства, в связи с отсутствием в районах области квалифицированного, подготовленного по вопросам остеологии рентгенолога. Большую диагностическую ценность для больных с пороками сердца представляет УЗИ, особенно в динамическом наблюдении. Эхокардиокопия даёт возможность оценить характер прогрессирования клапанных поражений, установить необходимость и своевременность оперативного лечения, проведения консультации кардиохирурга, а также уточнить генез порока и возможность септических осложнений.

Специализированную ревматологическую помощь в большинстве районов области оказывают семейные врачи, не прошедшие специальной подготовки, что не может не отражаться на качестве лечебно-диагностического процесса, своевременной выявляемости ревматических заболеваний. Ревматические болезни требуют затрат [5], которые обусловлены длительным, а в подавляющем большинстве и пожизнен-

ным медикаментозным лечением, протезированием клапанов сердца, эндопротезированием суставов. Необходимо также учитывать и непрямые затраты на оплату больничных листов, пособий по инвалидности, вызванные утратой трудоспособности.

Льготное обеспечение лекарственными препаратами ревматологических больных на амбулаторно-поликлиническом этапе лечения недостаточное. Новые высокоэффективные иммунодепрессанты и биологические агенты не включены в список льготных лекарственных препаратов.

Таким образом, высокая распространённость и постоянный рост ревматических заболеваний, ранняя инвалидизация, связанная с недостаточной эффективностью и качеством медицинской, медико-социальной и медико-педагогической помощи ревматологическим больным, крайне медленное внедрение в практику высокотехнологичных методов диагностики, лечения и реабилитации больных, несовершенная материально-техническая база лечебно-профилактических учреждений области, низкая информированность пациентов о ревматических болезнях, отсутствие кадрового потенциала для работы в районах области сделали проблему ревматических болезней одной из серьёзнейших медицинских проблем.

В связи со сказанным следует считать целесообразным:

- укрепление материально-технической базы лечебно-профилактических учреждений районов области для оказания ревматологической помощи;

- создание областного регистра пациентов с ревматическими болезнями;

- формирование кадрового потенциала по ревматологии для работы в районах области;

- разработку и внедрение комплексных программ диспансеризации и реабилитации ревматологических больных;

- обеспечение больных на амбулаторно-поликлиническом этапе современными лекарственными препаратами вне зависимости от наличия инвалидности;

- создание «Школы ревматологического больного» для улучшения информированности пациентов о ревматических болезнях;

- разработку программ медико-социальной, медико-психологической и медико-педагогической помощи ревматологическим больным.

Проведение указанных мероприятий позволит снизить сроки постановки диагноза и сократить непрямые экономические потери [6], снизить частоту развития временной и стойкой утраты трудоспособности, повысить качество жизни пациентов с ревматологической патологией и улучшить психосоциальную адаптацию и профессиональную пригодность пациентов.

### Литература

1. Беневоленская Л.И., Бржезовский М.М. Эпидемиология ревматических болезней. М.: Медицина, 1988: 133–192.
2. Амирджанова В.Н., Койлубаева Г.М. Методология оценки качества жизни в практике ревматолога: Науч.-практич. ревматол. 2003; 2: 23–27.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998: 459.
4. Свінціцький А.С., Яременко О.Б., Пузанова О.Г., Хомченкова Н.І. Ревматичні хвороби та синдроми. К.: Книга плюс, 2006. 680 с.
5. Насонова В.А., Фоломеева О.М. Медико-социальное значение XIII класса болезней для населения России. Научн.-практич. ревматол. 2001; 1: 7–11.
6. Фоломеева О.М., Эрдеc III.Ф. Распространенность и социальная значимость ревматических заболеваний в Российской Федерации. Доктор (ревматология) 2007; 10: 3–12.

### СТАН КОНСУЛЬТАТИВНОЇ РЕВМАТОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ МІСЖАНЦЯМ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

**С.А. Трипілка, В.В. Жеребкін**

Проведений аналіз надання консультативної ревматологічної допомоги мешканцям Харківської області впродовж останніх трьох років. Показані проблеми, що виникають при наданні лікувально-консультативної допомоги, і запропоновані заходи з їх подолання.

**Ключові слова:** ревматологічна допомога, поширеність захворювання, кадровий потенціал.

### RHEUMATOLOGIC CARE IN THE KHARKOV REGION

**S.A. Tripilka, V.V. Zhrebkin**

The analysis of rheumatologic care in the Kharkov region during the last three years was completed. Problems of the rheumatologic care were described, and development of the rheumatologic care was proposed.

**Key words:** rheumatological care, dissemination of disease, active potential.

Поступила 05.10.09

## ПЕДІАТРІЯ

ФУНКЦІОНАЛЬНІ МОЖЛИВОСТІ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ  
В УМОВАХ ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ У ДІТЕЙ  
З ХРОНІЧНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ НИРОК*Н.І. Макєєва**Харківський національний медичний університет*

Для визначення резервних можливостей серця і особливостей адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження дітей з хронічним захворюванням нирок було обстежено 54 дитини віком від 7 до 17 років. Встановлено, що прогресування хронічного захворювання нирок призводить до поступового погіршення функціональних можливостей серцево-судинної системи в умовах фізичного навантаження, що ілюструється проградієнтним зменшенням працездатності і зниженням ефективності енергозабезпечення фізичного навантаження.

**Ключові слова:** діти, хронічне захворювання нирок, резервні можливості серця.

Формування так званих дорослих типів патології серцево-судинної системи у 1/3 пацієнтів починається в дитячому віці. Пізня діагностика і недооцінка клінічних симптомів кардіальних порушень лежать в основі захворюваності і летальності дітей старших вікових груп, а ефективність профілактичних програм залежить від їх ранньої реалізації [1]. У хворих на хронічну ниркову недостатність (ХНН) проблема серцево-судинної патології дуже актуальна [2]. Це пов'язано з тим, що серцево-судинні захворювання при ХНН виникають в 20–35 разів частіше, ніж в популяції загалом, а показники кардіоваскулярної летальності в групах, однорідних за статтю і віком, у багато разів перевищують такі ж самі в загальній популяції [3]. У кожного другого хворого, який починає отримувати хронічний діаліз, наявна хронічна серцева недостатність (ХСН), а у хворих без ХНН щорічна частота розвитку ХСН de novo складає 7,6 % [4]. Тому хронічне захворювання нирок (ХЗН) слід вивчати, враховуючи взаємозв'язок прогресування ниркової патології і розвитку структурно-функціональних змін серця з формуванням кардіоваскулярних ускладнень. В літературі є роботи, що присвячені вивченню стану міокарда, резервних можливостей серця у дітей з ХЗН починаючи з початкової стадії, але їх мало. Відомо, що в більшості

випадків формування серцево-судинних порушень у дітей з початковими стадіями ХЗН перебігає асимптомно. Це викликає необхідність використання провокаційних методів для ідентифікації функціональних змін серцево-судинної системи. Фізичне навантаження вважається ідеальним, найбільш фізіологічним методом провокації, що дозволяє оцінити повноцінність компенсаторно-приспосувальних механізмів організму, а при наявній або прихованій патології – ступінь функціональної неспроможності серцево-судинної системи [5].

Діагностування кардіальної дисфункції та своєчасна її корекція на ранніх етапах ХЗН є однією з можливостей попередження розвитку кардіоваскулярних подій у цього контингенту хворих.

Метою роботи було вдосконалення ранньої діагностики функціональних змін серцево-судинної системи у дітей з ХЗН шляхом визначення резервних можливостей серця і особливостей адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження.

**Матеріал і методи.** Обстежено 54 дитини (38 хлопчиків і 16 дівчаток) віком від 7 до 17 років з ХЗН. В залежності від стадії ХЗН діти були розподілені на групи: 1-ша (n=37) – пацієнти з ХЗН I стадії, 2-га (n=17) – II стадії. Нозологічна структура, що лежала в основі формування ХЗН у обстежених дітей

обох груп була однотипною (хронічний гломерулонефрит, спадковий нефрит, хронічний обструктивний пієлонефрит на фоні вродженої аномалії органів сечовивідних шляхів). Під час дослідження всі пацієнти мали ремісію або неповну ремісію основного захворювання. Контрольну групу склали 108 практично здорових дітей (58 хлопчиків і 50 дівчаток) того ж віку. У дітей контрольної групи не було кардіальних скарг, органічних захворювань серця, показники систолічної функції лівого шлуночка не відрізнялися від нормативних, не було мітрального стенозу і мітральної регургітації, тахікардія – понад 110–120 уд/хв. Для визначення функціональних можливостей серцево-судинної системи в умовах фізичного навантаження проводили функціональні проби за допомогою електрокардіографічного діагностичного комплексу з велоергометричною системою CardioLab2000 (ХАІ-МЕДИКА, м. Харків). Навантаження проводили за схемою переривчастого ступінчасто-зростаючого навантаження (навантаження на 1-му етапі – 0,5 Вт/кг, на 2-му – 1 Вт/кг, на 3-му – 1,5 Вт/кг) з тривалістю кожного етапу 3 хв в позиції сидіння при швидкості педалювання 1 с<sup>-1</sup>. Періоди навантаження чергувалися з періодами 3-хвилинного відпочинку. Під час ВЕМ безперервно контролювали зміни ЕКГ, рівень артеріального тиску (АТ), як систолічного (САТ), так і діастолічного (ДАТ), частоту серцевих скорочень (ЧСС), враховували загальноклінічний стан пацієнта. Під час проведення дозованого фізичного навантаження оцінювали порогову потужність (Wп), об'єм виконаної роботи (ОВР), максимальне споживання кисню (МСК), обчислювали наступні показники: хронотропний резерв серця (ХРС), індекс хронотропного резерву серця (ІХРС), інотропний резерв серця (ІРС), індекс інотропного резерву серця (ІІРС), подвійний добуток (ПД) за формулами:

$$\begin{aligned} \text{ХРС} &= \text{ЧСС останнього етапу навантаження} - \text{ЧСС початкова, уд/хв}, \\ \text{ІХРС} &= \text{ЧСС останнього етапу навантаження} / \text{ЧСС початкова, ум. од.}, \\ \text{ІРС} &= \text{САТ останнього етапу навантаження} - \text{САТ початковий, мм рт. ст.}, \\ \text{ПД} &= (\text{САТ останнього етапу навантаження} \times \text{ЧСС останнього етапу навантаження}) / 100, \text{ ум. од.} \end{aligned}$$

Незважаючи на те, що ВЕМ для оцінки функціональних можливостей серцево-судинної системи у дітей використовують досить часто, в літературі ми не знайшли чіт-

ких нормативних даних показників для оцінки резервів і адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження, що проводиться при ВЕМ за схемою переривчастого ступінчасто-зростаючого навантаження. Тому на початку роботи функціональні проби за цією методикою були проведені дітям контрольної групи.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою критеріїв Шапіро–Вілکا або  $\chi^2$  Пірсона, t-критерію Стюдента, U-критерію Манна–Уїтні (MW), F-критерію. Враховуючи вікову і статеву відмінність деяких показників у дітей, використовували Z-оцінки. Z-оцінкою була міра відхилення від середнього арифметичного значення нормативного показника для цієї вікової групи і статі, що виражалася в одиницях стандартного відхилення цього ж ряду або за формулою  $Z = (X - X_N) / S_N$ , де X – величина отриманого показника у обстеженої дитини;  $X_N$  – середнє арифметичне значення нормативного показника в даній віковій групі для тієї ж статі;  $S_N$  – стандартне відхилення середнього арифметичного значення нормативного показника. Статистично значущими вважалися відмінності  $p < 0,05$ .

Всі дослідження відповідали етичним принципам медичного дослідження, що проводиться на людях, які були прийняті Гельсінською декларацією, і належної клінічної практики (GCP).

**Результати та їх обговорення.** Статистичні характеристики показників оцінки резервів і адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження за результатами ВЕМ у дітей контрольної групи наведені в табл. 1. Проведене обстеження дітей з ХЗН дозволило констатувати наступне. Якщо знижену витривалість до фізичного навантаження під час опитування відзначали 17 [(31,5±6,4) %] дітей, то знижена толерантність до фізичного навантаження зафіксована у вірогідно більшої кількості дітей – 41 [(75,9±5,9) %],  $p < 0,05$ . Під час проведення проби були виявлені як суб'єктивні, так і об'єктивні ознаки зниженої адаптації до фізичного навантаження у дітей з ХЗН обох груп (табл. 2). Статистично значущих відмінностей між кількістю дітей з ХЗН I і II стадій з наявністю ознак зниженої адаптації до фізичного навантаження не було отримано.

Порівняння основних показників резервних можливостей серця і працездатності дітей з ХЗН і дітей контрольної групи показало наступне. У дітей з ХЗН I стадії спосте-

*Таблиця 1. Показники резервних можливостей серця і адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження у дітей контрольної групи ( $X \pm Sx$ )*

Показник	Діти контрольної групи (n=108) віком, років			
	Стать	7–10 (14 хлопчиків, 13 дівчаток)	11–13 (18 хлопчиків, 16 дівчаток)	14–17 (26 хлопчиків, 21 дівчина)
ХРС, уд/хв	Хлопчики	65,25±6,23	59,41±14,05	62,57±15,67
	Дівчата	66,75±14,19	61,54±16,80	64,00±12,76
ІХРС, ум. од.	Хлопчики	1,68±0,12	1,71±0,22	1,84±0,32
	Дівчата	1,80±0,27	1,71±0,25	1,70±0,23
ІРС, мм рт. ст.	Хлопчики	20,00±8,16	21,06±8,28	25,83±11,26
	Дівчата	13,25±5,75	16,36±5,04	27,60±4,33
ІРС, ум. од.	Хлопчики	1,21±0,09	1,20±0,07	1,23±0,10
	Дівчата	1,14±0,06	1,16±0,05	1,24±0,04
ПД, ум. од.	Хлопчики	182,62±16,07	182,47±30,40	191,49±30,32
	Дівчата	172,36±17,08	183,70±18,25	222,20±24,37
МСК, л/хв	Хлопчики	4,95±1,31	5,52±1,15	6,25±0,56
	Дівчата	4,79±1,59	5,22±1,06	6,08±0,52

*Таблиця 2. Ознаки зниженої адаптації до фізичного навантаження у дітей з хронічним захворюванням нирок (ХЗН)*

Ознаки	Діти з ХЗН І ст. (n=37), 1-ша група		Діти з ХЗН ІІ ст. (n=17), 2-га група	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Скарги під час проведення тесту	12	32,4±7,8	7	41,2±12,3
ЕКГ-зміни під час проведення проби:				
девіація сегмента ST	5	13,5±7,8	4	23,5±10,6
зниження вольтажу зубця R	3	8,1±4,5	4	23,5±10,6
порушення процесів реполяризації	10	27,0±7,4	5	29,4±11,3
розширення комплексу QRS	2	5,4±3,7	2	11,48±8,10

*Примітка.*  $p > 0,05$ .

рігається тенденція до зменшення резервів серця (ХРС, ІРС) на фоні погіршення енергозабезпечення фізичного навантаження, про що свідчить статистично значуще зменшення МСК (табл. 3). У дітей з ХЗН ІІ стадії зазначені порушення поглиблюються, що виражається в статистично значущому зменшенні ХРС у порівнянні з показниками як контрольної групи, так групи дітей з ХЗН І стадії. Прогradientно зменшується і ефективність енергозабезпечення фізичного навантаження. Крім подальшого виснаження ХРС, цю тезу підтверджує наявність стабільно низького МСК і тенденція до зменшення ПД (див. табл. 2). Відомо, що фізичну працездатність людини можна оцінити саме за рівнем МСК. Збільшення кількості витраченої енергії зазвичай супровод-

жується підвищенням ЧСС, АТ, хвилинного об'єму серця [6]. Доказом наявної кардіальної дисфункції у дітей з ХЗН можна вважати появу скарг на втому, біль у серці, м'язах ще до досягнення теоретичного максимального об'єму спожитого кисню. Очевидно, це пов'язане з тим, що коронарний кровообіг не може впоратися зі зростаючою потребою міокарда в кисні [7]. Додатковими симптомами, що доводять зазначене, можна вважати появу ЕКГ-змін під час проведення проби [8]. В той самий час у дітей, що не мали суб'єктивних і об'єктивних ознак зниженої толерантності до фізичного навантаження при низькому рівні МСК, наявність знижених ХРС, ІРС можна розглядати як пристосувальну реакцію в умовах тривалого прогресуючого

Таблиця 3. Статистичні характеристики Z-оцінок показників резервних можливостей серця і адаптації серцево-судинної системи до фізичного навантаження у дітей з ХЗН

Показник	Me ( Lq; Uq )		P <sub>1-2</sub>
	діти з ХЗН I ст. (n=37), 1-ша група	діти з ХЗН II ст. (n=17), 2-га група	
ХРС	-0,67 (-1,92; 0,14)	-1,44 (-2,16; -0,86) <sup>*</sup>	<0,05
ІХРС	-0,74 (-1,33; -0,07)	-1,20 (-1,55; -0,90) <sup>*</sup>	<0,05
ІРС	-0,51 (-1,41; -0,49)	-0,51 (-1,41; 0,81)	>0,05
ІРС	-0,48 (-1,45; 0,49)	-0,48 (-1,50; 1,00)	>0,05
ПД	0,12 (-1,33 ; 0,93)	-0,64 (-1,40; -0,04)	>0,05
МСК	-2,77 (-4,37; -0,62) <sup>*</sup>	-1,67 (-3,84; -0,43) <sup>*</sup>	>0,05

Примітка. Me – медіана; Lq – нижній кuartиль; Uq – верхній кuartиль; p<sub>1-2</sub> – рівень значущості відмінностей показників 1-ї і 2-ї груп; \* – значуща різниця (p<0,05) порівняно з показниками дітей контрольної групи.

патологічного процесу в нирках, що спрямована на підвищення фізичної витривалості. Відомо, що толерантність до навантаження можна підвищити шляхом зменшення ЧСС і АТ, що призведе до зниження потреби міокарда в кисні, який потрібен для цього.

Комплексною оцінкою всіх параметрів у групі дітей з ХЗН II стадії (в порівнянні з 1-ю групою) виявлено статистично значущу їх більшість зі зниженою толерантністю до фізичного навантаження – (94,1±5,9) і (67,5±7,8) % відповідно, p<0,05.

Розширення комплексу QRS у чотирьох дітей з ХЗН під час проведення ВЕМ, що свідчить про порушення провідності міокарда, змусило продовжити поглиблене обстеження цих пацієнтів. Було проведено добове моніторування ЕКГ. У двох дітей зафіксовані наступні види аритмій: у однієї дитини на фоні синусового ритму вночі – епізод надшлуночкової тахікардії з ЧСС 211 уд/хв, тривалістю 20 с, що зник мимоволі; у іншій дитини визначена надшлуночкова екstrasистолія, причому з максимальною кількістю передчасних комплексів у нічні години.

Отже, проведені дослідження дозволяють стверджувати про необхідність комплексного обстеження пацієнтів з ХЗН з обов'язковою оцінкою функціональної спроможності міокарда, у тому числі і в умовах фізичного навантаження. Наступна корекція виявлених порушень може сприя-

ти попередженню розвитку кардіоваскулярних ускладнень.

### Висновки

1. У 79,67 % дітей з початковими стадіями хронічного захворювання нирок під час проведення проб з фізичним навантаженням були визначені функціональні порушення з боку серцево-судинної системи.

2. Прогресування хронічного захворювання нирок призводить до поступового погіршення функціональних можливостей серцево-судинної системи в умовах фізичного навантаження, що ілюструється проградієнтним зменшенням працездатності і зниженням ефективності енергозабезпечення фізичного навантаження.

3. Про наявність кардіальної дисфункції у дітей з хронічним захворюванням нирок може свідчити виникнення скарг і/або змін на ЕКГ під час проведення функціональних проб з фізичним навантаженням.

**Перспективи подальших розробок.** Наявність функціональних порушень з боку серцево-судинної системи у переважній більшості дітей з початковими стадіями хронічного захворювання нирок зумовлює необхідність подальшого вивчення трансформації цих змін під час прогресування патології нирок у бік хронічної ниркової недостатності, а також співставлення виявлених змін з відхиленнями центральної і ренальної гемодинаміки і функціональним станом нирок.

### Література

1. Oxenham H., Sharpe N. Prognostic stratification in heart failure what's the point. Eur. Heart J. 2000; 21: 1815–16.
2. Волгина Г.В., Перепеченых Ю.В., Бикбов Б.Т. и др. Факторы риска кардиоваскулярных заболеваний у больных с хронической почечной недостаточностью. Нефрология и диализ 2000; 2, 4: 252–257.

3. Томилина Н.А., Волгина Г.В., Бикбов Б.Т. Распространенность и факторы риска развития гипертрофии миокарда левого желудочка сердца у больных с хронической почечной недостаточностью. Нефрология 2003; 7 (1): 258–261.
4. Parekh R.S., Carroll C.E., Wolfe R.A., Port F.K. Cardiovascular mortality in children and young adults with end-stage kidney disease. J. Pediatr. 2002; 141 (2): 191–197.
5. Аронов Д.М., Лупанов В.П. Функциональные пробы в кардиологии. 2-е изд. М., 2003. 296 с.
6. Михайлов В.М. Нагрузочное тестирование под контролем ЭКГ: велоэргометрия, тредмилл-тест, степ-тест, ходьба. Иваново: А-Гриф, 2005. 440 с.
7. Кудряшев В.Э., Иванов С.В., Белецкий Ю.В. Количественная оценка нарушений кровообращения (пробы с физической нагрузкой). М.: Медицина, 2000. 224 с.
8. Тавровская Т.В. Велоэргометрия. СПб.: Нео, 2007. 134 с.

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ПОЧЕК**

**Н.И. Макеева**

Для определения резервных возможностей сердца и особенностей адаптации сердечно-сосудистой системы к физической нагрузке детей с хроническим заболеванием почек было обследовано 54 ребёнка в возрасте от 7 до 17 лет. Определено, что прогрессирование хронического заболевания почек приводит к постепенному ухудшению функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы в условиях физической нагрузки, что иллюстрируется прогредиентным уменьшением работоспособности и снижением эффективности энергообеспечения физической нагрузки.

**Ключевые слова:** дети, хроническое заболевание почек, резервные возможности сердца.

#### **FUNCTIONAL POSSIBILITIES OF CARDIOVASCULAR SYSTEM DURING EXERCISE IN CHILDREN WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE**

**N.I. Makieieva**

There have been carried out study of cardiac reserve possibilities and adaptation peculiarities to exercise in 54 children aged 7–17 years old with chronic kidney disease. It was established chronic kidney disease causes gradual worsening of cardiovascular system functional possibilities during exercise. It is illustrated with gradual reduction of capacity for work and power supply effectiveness deterioration of exercise.

**Key words:** children, chronic kidney disease, cardiac reserve possibilities.

Поступила 18.11.09

## ВИКОРИСТАННЯ ТРОПОНІНУ І В ДІАГНОСТИЦІ МІОКАРДІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ДІТЕЙ З ТЕТРАДОЮ ФАЛЛО

**М.О. Гончарь**

*Харківський національний медичний університет*

Викладені сучасні дані літератури про діагностику і перебіг тетради Фалло у дітей. Представлені особисті спостереження 123 пацієнтів з тетрадою Фалло в до- і після-операційному періоді, у яких досліджували систолічну і діастолічну функцію шлуночків і плазмову концентрацію тропоніну І з метою діагностики ушкодження міокарда.

**Ключові слова:** природжені вади серця, тетрада Фалло, тропонін, міокардіальна дисфункція, діагностика.

Відомо, що гемодинамічні порушення у пацієнтів з природженими вадами серця з часом можуть призводити до незворотних змін у міокарді [1–3]. Це в першу чергу стосується вад зі збідненням малого кола кровообігу, серед яких найпоширенішою є тетрада Фалло. Ця комбінована природжена вада серця анатомічно складається зі стенозу вихідного відділу правого шлуночка (ПШ), дефекту міжшлуночкової перегородки (ДМШП), гіпертрофії міокарда ПШ і декстрапозиції аорти [4, 5] і становить до 5,0–11,9 % серед інших природжених вад серця [6, 7]. Гемодинамічну ситуацію і важкість перебігу тетради Фалло визначають ступінь стенозу легеневої артерії і розміри ДМШП [6–9]. За відсутності своєчасної хірургічної корекції у дитини розвиваються тяжкі ускладнення на тлі хронічної гіпоксії (тромбоз або емболія мозкових судин, абсцес мозку, бактеріальний ендокардит тощо). Радикальна операція залишається єдиним методом лікування і включає резекцію інфундибулярного стенозу, пластику ДМШП, реконструкцію вивідного тракту ПШ [7–10]. У разі неможливості проведення радикальної операції виконують паліативну (як правило, накладання системно-легеневих анастомозів Blalock–Taussing між а. subclavia і легеневою артерією) для тимчасового поліпшення стану дитини [11]. Доведено значне збільшення з віком у хворих на тетраду Фалло діаметра кардіоміоцитів ПШ, що вже на перших роках життя призводить до розвитку важких змін (ядерної дегенерації і міжклітинного фіброзу) [12]. Відома послідовність переходу гіпертрофованих кардіоміоцитів із стадії

компенсації до стадії декомпенсації [3, 13]. Не викликає сумніву, що функціональні зміни серцево-судинної системи завжди пов'язані з відповідною структурною перебудовою клітини серцевого м'яза, а прогресуючі зміни міокарда можуть призводити навіть до розвитку мікронекрозів [6, 13]. Тетрада Фалло, як правило, не проявляється серцевою недостатністю (СН) з періоду новонародженості [7, 14]. Коли вада не є критичною і дитина не потребує невідкладної оперативної корекції, має помірне об'ємне перевантаження серця, ретельна оцінка функціонального стану міокарда, що працює в умовах хронічної гіпоксії, є важливою для визначення доклінічних ознак міокардіальної дисфункції і вибору оптимальних строків для кардіохірургічної корекції, коли в міокарді дитини ще не розвинулись незворотні зміни. Адже саме природжені вади серця провідні дослідники наголошують серед чинників ішемічних змін міокарда у дітей, вважаючи важливим фактором дезадаптивного ремоделювання серця вплив гіпоксії на міокард і можливість його ушкодження у дітей раннього віку [2]. На нашу думку, суттєве доповнення до можливостей ультразвукової діагностики міокардіальної дисфункції дає вивчення концентрації специфічних біомаркерів, здатних визначити пошкодження міокарда.

Останнім часом увагу кардіологів привертають тропоніни – універсальні для послигової мускулатури протеїни, що локалізовані на тонких міофіламентах її скорочувального апарату. Доведена висока специфічність тропоніну І (TnI) щодо ушкодження міокарда [15–17]. Автори [18, 19] порів-

няли морфофункціональні показники діяльності серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертрофічною кардіоміопатією, віднесених до різних груп, в залежності від наявності у них нормального або підвищеного рівня TnI. Дослідники встановили підвищення рівня тропоніну у пацієнтів зі зниженими показниками швидкості скорочення міокарда і значною гіпертрофією міжшлуночкової перегородки. Автори [18] пропонують вважати підвищення концентрації TnI індикаторами субклінічного ураження кардіоміоцитів і прогресування термінальної гіпертрофії міокарда. Навіть незначне підвищення рівня TnI вважають маркером поганого прогнозу у хворих з СН [16]. Дані про інформативність біомаркерів у дітей з природженими вадами серця нечисленні, часом суперечливі, роботи щодо їх використання в клінічному спостереженні і лікуванні пацієнтів з природженими вадами серця відсутні.

Метою дослідження було вивчення інформативності TnI у дітей з тетрадою Фалло і їх використання для визначення міокардіальної дисфункції та індивідуалізації терапії.

**Матеріал і методи.** 123 пацієнтам у віці від 1 місяця до 16 років з тетрадою Фалло виконані клініко-анамнестичне і інструментальне дослідження, що включало ЕКГ в 12 відведеннях, рентгенографію органів грудної клітки, доплерехокардіографію із визначенням градієнта тиску між ПШ і легеневою артерією, між ЛШ і ПШ; систолічної функції ЛШ і припливного відділу ПШ методом Simpson, діастолічної функції шлуночків серця на основі аналізу трансмітрального і транстрикуспідального потоків. У 44 пацієнтів з тетрадою Фалло визначено плазмову концентрацію TnI (DAI, США), до аномальних показників якого віднесли концентрацію в плазмі, вищу за 0,5 нг/мл.

Отримані дані статистично обробили.

**Результати і їх обговорення.** Всі досліджувані діти були розподілені на дві групи: I – до оперативної корекції, II – прооперовані у віддаленому катамнезі спостережен-

ня. Діти кожної групи були розподілені на дві підгрупи за показником нормального (1) або підвищеного (2) рівня TnI. Серед обстежених було 78 (63,4 %) хлопчиків і 45 (36,6 %) дівчинок, у тому числі 31 (25,2 %) хворий до оперативної корекції вади і 92 (74,8 %) дитини у віддалені терміни після операційного спостереження. Розподіл досліджених з тетрадою Фалло на групи за віком і статтю наведений в таблиці.

Середній вік пацієнтів до оперативної корекції складав  $(0,75 \pm 0,23)$  року, після корекції до трьох років після операції –  $(1,89 \pm 0,23)$  року, від 3 до 12 років –  $(11,13 \pm 0,48)$  року. Середні показники росту і маси до оперативної корекції вади мали тенденцію до зниження відносно вікової норми:  $(68,12 \pm 4,32)$  см і  $(8,19 \pm 1,77)$  кг відповідно. Гіпотрофія виявлена у 15 (48,1 %) хворих (переважно з наявністю ціанозу). Сатурація кисню у досліджених в доопераційному періоді, за даними пульсоксиметрії, коливалась від 52 до 85 %. Порухення систолічної функції ЛШ встановлено у 45,2 % обстежених в доопераційному періоді, ПШ – у 22,8 %. Порухення діастолічної функції ЛШ діагностовано у 25,8 % дітей з тетрадою Фалло, ПШ – у 51,6 %. Клінічні ознаки СН виявлені у 34,8 % пацієнтів. Середній вік проведення хірургічної корекції склав  $(2,45 \pm 0,56)$  року. Одразу радикально були прооперовані 77 (73,7 %) пацієнтів, які мали достатні розміри ЛШ і відповідний діаметр гілок легеневої артерії. Паліативна корекція передувала радикальній у 15 (27,2 %) дітей, проводилась у віці  $(0,75 \pm 0,35)$  року.

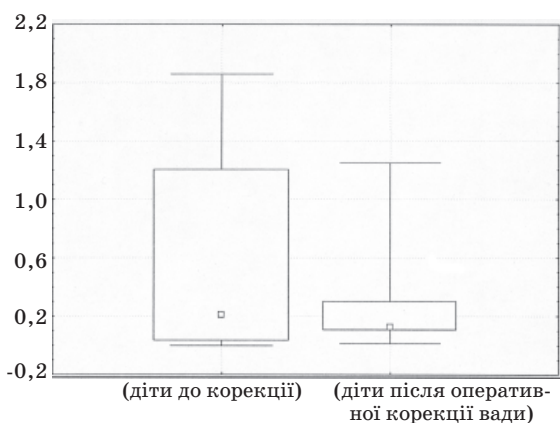
Відомо, що використання методу дисків за Simpson дозволяє проводити оцінку об'ємних параметрів тільки припливного відділу ПШ. Це пов'язано з тим, що припливний і відтічний відділи ПШ розташовуються в різних площинах і однооментна їх візуалізація неможлива [1]. Оскільки припливний і відтічний відділ ПШ мають приблизно однакові розміри, ряд авторів вважає можливим використовувати оцінку систолічної функції припливного відділу

*Розподіл хворих з тетрадою Фалло за віком і статтю до і після оперативної корекції*

Хворі	Кількість хворих		
	хлопчики	дівчата	всього
До оперативної корекції	23	8	31
Після оперативної корекції	55	37	92
Всього	78	45	123
%	63,4	36,6	100,0

ППШ за наведеним методом для отримання інформації щодо систолічної функції ППШ в цілому [20]. У віддаленому катамнезі порушення систолічної функції ЛПШ встановлено у 19,5 % дітей, ППШ – у 22,8 %. Клінічні ознаки СН виявлено у 5,8 % обстежених. Діастолічна дисфункція ЛПШ довготривало зберігається у 23,9 % прооперованих, ППШ – у 36,9 %.

Середні значення TnI склали: медіана в доопераційному періоді Me (I) = 0,207 нг/мл, інтерквартильний розмах (тобто діапазон, до якого належить 50 % варіації) = 0,027–1,205 нг/мл; медіана у віддаленому катамнезі після операції Me (II) = 0,123 нг/мл, інтерквартильний розмах = 0,100–0,300 нг/мл. Середні показники концентрації TnI у дітей з тетрадою Фалло в до- і післяопераційному періоді наведені на рисунку.



Показники плазмової концентрації тропоніну I у дітей з тетрадою Фалло в доопераційному періоді і віддаленому катамнезі після корекції вади.

Підвищення рівня TnI встановлено у 9 (20,4 %) досліджених (2-га підгрупа): Me (2) = 1,0 нг/мл, інтерквартильний розмах = 0,96–1,76 нг/мл, тоді як у дітей з нормальним TnI (1-ша підгрупа) середні значення Me (1) = 0,12 нг/мл, інтерквартильний розмах = 0,08–0,19 нг/мл ( $p < 0,01$ ). Серед пацієнтів з підвищеним рівнем TnI перинатальне ураження ЦНС мало місце у 75 % обстежених, низька маса при народженні – у 50 %, затримка фізичного і психомоторного розвитку – у 100 %. Клінічні ознаки серцевої недостатності діагностовано у 50 % хворих з підвищеним рівнем TnI. У віддаленому післяопераційному періоді підвищення рівня TnI виявлено у 6 дітей, серед яких 4 (75,0 %) мали рещунтування ДМШП, дилатацію порожнини ППШ (100 %), гіпертрофію стінки ППШ (100 %), значну регургітацію на клапані легеневої

артерії (75 %). За даними ЕКГ, виявлені повна блокада правої гілки пучка Гіса (75 %), виражені порушення процесів реполяризації шлуночків (100 %), ознаки гіпертрофії міокарда ППШ (100 %). У більшості пацієнтів з підвищеним вмістом TnI радикальній корекції вади передувало накладення анастомозу.

Встановлена середньої сили кореляційна залежність між підвищенням рівня TnI і показниками фізичного розвитку дитини ( $r = +0,46$ ,  $p = 0,05$ ), між підвищенням рівня TnI і наявністю асинергії скорочень міокарда ( $r = +0,67$ ,  $p = 0,01$ ), між підвищенням рівня TnI і товщиною стінки ППШ ( $r = +0,63$ ,  $p = 0,03$ ), між підвищенням рівня TnI і наявністю аритмії серцевої діяльності ( $r = +0,41$ ,  $p = 0,01$ ), рещунтуванням септального дефекту ( $r = +0,61$ ,  $p = 0,03$ ), швидкістю зсідання еритроцитів ( $r = +0,64$ ,  $p = 0,02$ ), а також зворотна кореляційна залежність між підвищенням рівня TnI і фракцією викиду ППШ ( $r = -0,56$ ) і ударним індексом ППШ ( $r = -0,56$ ). Пацієнти з нормальним і підвищеним рівнем TnI також мали вірогідні розбіжності по показниках наявності діастолічної дисфункції ЛПШ ( $p = 0,02$ ), транспульмональної регургітації ( $p = 0,03$ ) і залишкового градієнта тиску на клапані легеневої артерії ( $p = 0,03$ ) з вірогідним підвищенням значень TnI при наявності означеної патології.

Інтерпретація підвищених значень вмісту тропоніну в крові у 20,4 % досліджених пацієнтів з тетрадою Фалло потребує індивідуальної комплексної оцінки і подальшого вивчення на більшій кількості пацієнтів. Ми враховували наявність клінічних ознак СН, змін на ЕКГ, обумовлених хронічною гіпоксією, ультразвукові характеристики систолічної і діастолічної функцій шлуночків, вираженість ремоделювання серця, у тому числі гіпертрофію стінки ППШ, транспульмональну регургітацію тощо. Навіть при відсутності клінічних ознак СН і збереженій систолічній функції ЛПШ підвищення концентрації TnI у дітей з тетрадою Фалло доцільно враховувати як ознаку міокардіальної дисфункції, що потребує вживання певних терапевтичних заходів і призначення індивідуальних, більш ранніх термінів хірургічної корекції.

### Висновки

1. У пацієнтів з тетрадою Фалло в до- і післяопераційному періодах спостереження методом доплерокардіографії виявляються систолічна і діастолічна дисфунк-

ція шлуночків, яка передуює клінічній маніфестації серцевої недостатності.

2. Виявлене підвищення рівня тропоніну I у 20,4 % дітей з тетрадою Фалло свідчить про ушкодження міокарда, генез якого потребує уточнення.

3. Встановлені кореляційні залежності в межах групи з підвищеним тропоніном I між концентрацією біомаркера в крові, трофічним статусом дитини, змінами на ЕКГ і

даними УЗД (порушенням систолічної і діастолічної функції міокарда, вираженістю процесів ремоделювання серця).

**Перспектива подальших розробок:** Доцільно продовжити подальші дослідження в напрямку використання тропоніну I для поліпшення діагностики міокардіальної дисфункції, прогнозування розвитку серцевої недостатності, індивідуалізації терапії і реабілітаційних заходів у дітей з тетрадою Фалло.

### Література

1. Каган Н.Н., Чертова Л.Л., Моршинина Л.В. и др. Возможности эхокардиографии в обследовании детей после хирургической коррекции врожденных пороков сердца. Детская кардиология – 2004: Матер. Всерос. конгресса. М., 2004: 58–59.
2. Физиология и патология сердечно-сосудистой системы у детей первого года жизни. Под ред. М.А. Школьниковой, Л.А. Кравцовой. М.: Медпрактика-М, 2002: 113–124.
3. Туманян М.Р., Кассирский Г.И., Дедушкина Н.Ю. и др. Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы с помощью велоэргометрии в отдаленном периоде после радикальной коррекции тетрады Фалло, выполненной в раннем детском возрасте. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия 2000; 6: 59–64.
4. Белозеров Ю.М., Болбилов В.В. Ультразвуковая семиотика и диагностика в кардиологии детского возраста. М.: МЕДпресс, 2001. 176 с.
5. Белоконов Н.А., Лукушкина Е.Ф. Функциональная адаптация сердечно-сосудистой системы детей с врожденными пороками сердца после операции. Врожденные и приобретенные пороки сердца: Матер. III Всерос. семинара памяти проф. Н.А. Белоконова. Архангельск, 2003: 25.
6. Волосовец О.П. Природжені вади серця у новонароджених: стратегія і тактика лікаря у ранньому постнатальному періоді. Перинатол. та педіатр. 1999; 2: 28–33.
7. Сухарева Г.Е. Результаты и функциональная адаптация сердечно-сосудистой системы после хирургического лечения тетрады Фалло у детей, проживающих в АР Крым. Таврич. мед.-биол. вестн. 2006; 2: 16–22.
8. Шарыкин А.С. Врожденные пороки сердца: Руководство для педиатров, кардиологов, неонатологов. М.: Теремок, 2005. 381 с.
9. Лазоришинцев В.В., Руденко Н.М., Книшів Г.В. Невідкладна допомога при основних патологічних синдромах у немовлят з уродженими вадами серця. К.: УкрНДІСВД, 2001. 90 с.
10. Мутафьян О.А. Пороки сердца у детей и подростков. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 556 с.
11. Педіатричні аспекти ведення дітей з природженими вадами серця. За ред. О.П. Волосовця, Г.С. Сенаторової, М.О. Гончарь. Тернопіль: ТДМУ, 2008: 82–83.
12. Егорова И.Ф., Серов Р.А., Туманян М.Р., Шарыкин А.С. Результаты анализа интраоперационных биопсий миокарда у детей с тетрадой Фалло. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия 2001; 4: 8.
13. Струков А.И., Серов В.В. Патологічна анатомія. Харків: ФАКТ, 2004: 693–694.
14. Сенаторова А.С., Гончарь М.А., Страшок А.И. и др. Тактика наблюдения и лечения детей с врожденными пороками сердца. Совр. педиатрия 2006; 2 (11): 123–125.
15. Пехота В.С., Пехота В. Білкові маркери пошкодження серцевого м'яза. Лаб. діагностика 2003; 3: 62–70.
16. Thygesen K., Alpert J.S., White H.D. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. Eur. Heart J. 2007; 28: 2525–38.
17. Sabatine M.S., Morrow D.A., de Lemos J.A. et al. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischemia using the ultrasensitive assay: results from TIMI 35. Eur. Heart J. 2009; 30: 162–169.
18. Katus H.A., Giannitsis E., Jaffe A.S., Thygesen K. Higher sensitivity troponin assays: Quo vadis? Eur. Heart J. 2009; 30: 127–128.
19. Luna C., Adie M.A., Tessler I., Acherman R. Troponin I elevation after supraventricular tachycardia in a child with hypertrophic cardiomyopathy. Pediatr. Cardiol. 2001; 22, 2: 147–9.
20. Бокерия Л.А., Сокольская Н.О. Эхокардиографическая оценка функции миокарда у больных с врожденными пороками сердца в раннем послеоперационном периоде. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2004. 76 с.

---

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРОПОНИНА I В ДИАГНОСТИКЕ МИОКАРДИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С ТЕТРАДОЙ ФАЛЛО****М.А. Гончарь**

Изложены современные данные литературы о диагностике и течении тетрады Фалло у детей. Представлены личные наблюдения 123 пациентов с тетрадой Фалло в до- и послеоперационном периоде, у которых исследовали систолическую и диастолическую функцию желудочков и плазменную концентрацию тропонина I с целью диагностики повреждения миокарда.

**Ключевые слова:** врождённые пороки сердца, тетрада Фалло, тропонин, миокардиальная дисфункция, диагностика.

**USE OF TROPONIN I IN DIAGNOSTICS OF THE MYOCARDIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN WITH FALLOT'S TETRADE****M.O. Gonchar**

An article contains modern data about diagnostics and duration of Fallot's tetrad in children. The personal supervision of 123 patients with Fallot's tetrad before and after the surgical correction is presented, including defining the systolic and diastolic myocardial dysfunction as well as troponin I plasma level to diagnose the myocardial disease.

**Key words:** congenital heart disease, Fallot's tetrad, biomarkers, myocardial dysfunction, diagnostics.

Поступила 16.11.09

## РОЛЬ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА ПЛАЗМЫ КРОВИ В ИЗМЕНЕНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

**В.Г. Чернуский, Ю.В. Одинец\*, А.Д. Морозова\*, О.Л. Говаленкова**

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина*

*\*Харьковский национальный медицинский университет*

Показаны дисфункциональные нарушения эндотелия сосудов и липидного обмена у детей, больных бронхиальной астмой, от которых зависит выраженность цитотоксических и иммунопатологических реакций со стороны иммунокомпетентных клеток, определяющих тяжесть течения заболевания. Полученные данные позволяют наметить пути профилактики и патогенетической коррекции выявленных изменений у данного контингента детей.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дети, эндотелий сосудов, липиды, холестерин, липопротеины, патогенез.

Бронхиальная астма (БА), несмотря на определённые успехи в изучении патогенеза и лечении, остаётся одним из наиболее распространённых заболеваний во всех возрастных группах [1, 2]. По данным ВОЗ, заболеваемость и смертность от данного заболевания имеет неуклонный рост, причины которого остаются неизвестными. БА относят к группе заболеваний, приводящих к раннему старению организма и преждевременной инвалидизации данного контингента больных [2].

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что БА представляет собой хроническое воспаление в бронхолёчной системе, лежащее в основе клинической картины заболевания [1]. В патогенезе БА у детей существенное значение имеют аллергические, иммуноинфильтративные и генетические факторы, воздействие раздражающих веществ и инфекционного фактора. Процесс аллергического рецидивирующего воспаления протекает с участием тучных клеток / базофилов, определяющих раннюю фазу, а также макрофагов (моноцитов), эозинофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, определяющих позднюю фазу хронического рецидивирующего воспаления в бронхолёчной системе. Известно, что некоторый вклад в патогенез заболевания могут вносить и другие факторы, ответственные за активность эффекторных клеток. Так, нарушение кровообращения влияет на формирование выраженных морфологических

изменений, а также осложнений системного характера при данной патологии. Состояние системного кровообращения и микроциркуляции определяется состоянием эндотелия сосудов. Изучение особенностей эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса при БА у детей позволяет углубить представления о патогенетических звеньях БА, а также имеет большое значение для диагностики, лечения, профилактики осложнений и рецидивирования заболевания. В связи с этим важно определить липидный спектр плазмы крови в изменении эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса при БА у детей [2, 3].

Липиды в плазме крови детей, больных БА, представлены в основном жирными кислотами (ЖК), триглицеридами (ТГ), холестерином (ХС) и фосфолипидами (ФЛ). Большинство липидов (ХС, ТГ и др.) являются важными компонентами мембранной структуры, в том числе и иммунокомпетентных клеток. Липиды не растворимы в воде, поэтому в плазме они транспортируются в комплексе с белками, известными под названием липопротеины. Последние классифицируются на основе плотности: хиломикроны (самая низкая плотность), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), промежуточной плотности (ЛППП), низкой плотности (ЛПНП), высокой плотности (ЛПВП). Необходимо отметить, что лёгкие являются первым органом на пути хиломикронов, часть которых задерживается

мезенхимальными элементами. Это так называемая липопектическая функция лёгких – выполнять роль буфера, регулирующего поступление жира в артериальную кровь. Наряду с этим в лёгких расщепляются ТГ, окисляются высшие ЖК и кетоновые тела. Поступление хиломикронов в русло крови после приёма жирной пищи приводит к возникновению алиментарной гиперлипидемии. Она достигает максимума через 3–4 часа после еды, а через 6–9 часов у здоровых детей концентрация липидов в крови возвращается к норме. У детей, больных БА, хиломикроны проникают в кровь быстрее вследствие повышенной проницаемости кишечной стенки. Длительность гиперлипидемии зависит ещё и от исходного уровня липидов, качества жира, функционального состояния желудочно-кишечного тракта, жёлчеотделения, активности липолитических ферментов и т. д. Гиперхолестеринемия и гипертриглицеридемия способствуют повышению уровня цитотоксической активности эффекторных клеток, синтезу и продукции цитокинов с бронхоконстрикторными свойствами.

ЛПНП являются главными переносчиками ХС и регулируют его уровень в плазме крови. При рождении концентрация ХС в сыворотке крови очень низкая – менее 2,6 ммоль/л, ХС-ЛПНП – менее 1,0 ммоль/л. Уровень ХС повышается в первый год жизни ребёнка и остаётся неизменным до начала полового созревания. Уровень общего ХС у детей, как правило, не превышает 4,1 ммоль/л. Концентрация ЛПНП достигает уровня взрослых после полового созревания детей. Значения, соответствующие физиологической норме, представлены в табл. 1.

Целью настоящего исследования явилось определение роли липидного спектра плазмы крови в изменении эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса у детей, больных БА.

**Материал и методы.** Под наблюдением находилось 115 детей в возрасте от 5 до 14 лет

(100 больных БА – основная группа и 15 практически здоровых – контрольная группа). Всем детям проводили электроплетизмографическую оценку NO-синтезной активности эндотелия сосудов. С этой целью использовали тест с постокклюзионной реактивной гиперемией, характеризующий степень выраженности зависимой от эндотелия дилатации сосудов предплечья. Изучали особенности липидного спектра плазмы крови. Тест реактивной гиперемии позволяет диагностировать дисфункцию эндотелия сосудов. По степени угнетения эндотелийзависимой вазодилатации дети с БА были разделены на две подгруппы: в 1-ю вошли 20 детей с сохранённой способностью к эндотелийзависимой вазодилатации, или без дисфункции эндотелия, во 2-ю – 80 детей с патологически низкой способностью к эндотелийзависимой дилатации, или с дисфункцией эндотелия. Электроплетизмографическую оценку NO-синтезной активности эндотелия сосудов предплечья осуществляли по общепринятой методике [4] в модификации [5] на реоанализаторе 5А-05 (Украина). С этой целью использовали тест с постокклюзионной реактивной гиперемией, характеризующий степень выраженности эндотелийзависимой дилатации сосудов предплечья в первые две минуты после 4-минутной окклюзии кровотока плечевой артерии. Окклюзия кровотока плечевой артерии достигалась путём наложения на плечо манжеты манометра для измерения артериального давления и повышения в ней давления до 180–200 мм рт. ст. В качестве контроля использовали оценку степени прироста кровотока в предплечье у детей в ответ на приём нитроглицерина (0,01 мг/кг), что характеризует состояние эндотелийнезависимых или миогенных механизмов вазодилатации сосудов предплечья. Увеличение пульсового кровотока в предплечье после окклюзии на 10 % и менее трактовали как снижение NO-синтезной активности эндотелия, а после приёма нитроглицерина на 19 % и более – как сохранение способнос-

Таблица 1. Концентрация липидов плазмы крови, ммоль/л

Концентрация	ХС <sub>общ</sub>	ХС-ЛПНП	ХС-ЛПВП*	ТГ	ФЛ
Желательная	<5,2	<3,36	>1,0	<2,0	<2,12
Погранично высокая	5,2–6,5	3,36–4,14	0,9–1,0	2,0–2,5	2,12–2,60
Высокая	>6,5	>4,14	<0,9	>2,5	>2,6

\* Патологические изменения связаны со снижением уровня.

ти миоцитов отвечать на действие экзогенного воздействия или сохранение гуанилат-циклазного, или эндотелийнезависимого, механизма дилатации сосудов [5].

Изучение липидного спектра плазмы включало определение общих липидов, ЛПНП (или HDL-холестерол), ЛПВП (или HDH-холестерол), ТГ с использованием диагностических наборов реактивов фирмы «Termo-electron Corporation» (Финляндия) на автоматическом биохимическом анализаторе «Конелаб-30» [4]. Кровь для исследования липидов брали утром, после 14 часов перерыва между приёмом пищи, когда в норме хиломикроны, образованные из пищевых жиров, уже выводятся организмом [6, 7]. Все исследуемые дети были в периоде обострения БА и перед взятием крови для исследования в течение двух недель находились на своём обычном режиме питания.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты теста с реактивной гиперемией представлены в табл. 2. Установлено, что у здоровых

детей (контрольная группа) эндотелийзависимая постокклюзионная дилатация сосудов оказалась сохранённой ( $p < 0,001$ ).

Максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье после проведения окклюзионной пробы у детей основной группы оказался на  $(7,2 \pm 4,76) \%$  выше исходных данных ( $p < 0,001$ ).

Прирост пульсового кровотока в предплечье после приёма нитроглицерина у детей 1-й и 2-й подгрупп оказался на 19 % выше исходных данных (табл. 3). Анализ данных также показал, что у 80 % больных БА (2-я подгруппа) максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье на первых двух минутах после окклюзии, по сравнению с исходными данными, составил  $(5,10 \pm 2,32) \%$ , в то время как у другой части детей с БА (1-я подгруппа,  $n=20$ ) –  $(15,3 \pm 3,1) \%$  ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье на первых двух минутах после окклюзии у детей с

*Таблица 2. Пульсовой кровотока в предплечье при выполнении теста с реактивной гиперемией у больных БА и здоровых детей ( $M \pm SD$ )*

Группа	Ед. измерения	Пульсовой кровотока (максимальный)				
		исх.	после реокклюзии плечевой артерии в течение, мин			
			0,5	1	1,5	2
Основная (n=100)	мл	$1,85 \pm 1,03$	$1,87 \pm 1,06^*$	$1,98 \pm 1,11$	$1,94 \pm 1,13$	$1,86 \pm 1,05$
	%	$7,20 \pm 4,76^{**}$	$1,40 \pm 5,12^{**}$	$6,80 \pm 4,68^{**}$	$5,20 \pm 4,18^{**}$	$2,20 \pm 3,12^{**}$
1-я подгруппа (n=20)	мл	$2,12 \pm 1,15^{*#}$	$2,26 \pm 1,21^{\#}$	$2,44 \pm 1,24^{\#}$	$2,28 \pm 1,18$	$2,26 \pm 1,20$
	%	$15,30 \pm 3,1$	$6,70 \pm 6,16$	$14,50 \pm 3,38$	$11,60 \pm 3,71$	$5,40 \pm 3,21$
2-я подгруппа (n=80)	мл	$1,77 \pm 1,02$	$1,80 \pm 1,01^{*#}$	$1,86 \pm 1,010^{\#}$	$1,86 \pm 1,03^{0\#}$	$1,78 \pm 1,02^0$
	%	$5,10 \pm 2,32^{*#}$	$0,10 \pm 3,70^{*#00}$	$5,20 \pm 2,36^{*#00}$	$3,30 \pm 2,11^{*#00}$	$1,10 \pm 2,36^{*#00}$
Контрольная (n=15)	мл	$1,91 \pm 0,91$	$2,15 \pm 1,01$	$2,26 \pm 1,02$	$2,14 \pm 1,00$	$2,02 \pm 0,81$
	%	$19,80 \pm 4,45$	$12,70 \pm 8,16$	$17,30 \pm 4,27$	$13,00 \pm 2,84$	$5,70 \pm 2,92$

Примечание. \*, \*\* Различия показателей основной и контрольной групп с вероятностью ошибки  $p < 0,05$  и  $p < 0,001$  соответственно; #, ## различия показателей 1-й и 2-й подгрупп и контрольной группы с вероятностью ошибки  $p < 0,05$  и  $p < 0,001$ ; <sup>0</sup>, <sup>00</sup> различия показателей 1-й и 2-й подгрупп с вероятностью ошибки  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

*Таблица 3. Пульсовой кровотока в предплечье после приёма нитроглицерина у больных БА и здоровых детей, ( $M \pm SD$ ) мл*

Группа	Пульсовой кровотока		
	исх.	после приёма нитроглицерина в течение, мин	
		2	5
Основная (n=100)	$1,84 \pm 1,02$	$2,42 \pm 1,38$	$2,46 \pm 1,36$
1-я подгруппа (n=20)	$2,12 \pm 1,13$	$2,87 \pm 1,44$	$2,83 \pm 1,55$
2-я подгруппа (n=80)	$1,77 \pm 1,01$	$2,28 \pm 1,24$	$2,36 \pm 1,33$
Контрольная (n=15)	$1,92 \pm 0,84$	$1,48 \pm 1,15$	$2,59 \pm 1,28$

БА 2-й подгруппы оказался ниже, чем в контрольной группе –  $(19,8 \pm 4,45) \%$ ,  $p < 0,001$ , а у детей 1-й подгруппы не отличался от такового в контрольной группе.

Прирост пульсового кровотока в предплечье после приёма нитроглицерина у детей контрольной группы, а также 1-й и 2-й подгрупп основной группы соответствовал нормативным данным и был выше 19 %. Таким образом, у 80 % детей с БА обнаружено снижение NO-синтетазной активности эндотелиоцитов и диагностирована дисфункция эндотелия ( $p < 0,001$ ), тогда как у 20 % детей NO-синтетазная активность эндотелия сосудов сохранялась на нормальном уровне. Полученные данные указывают на дисфунк-

Анализ динамики показателей липидного обмена в исследуемых группах представлен в табл. 4.

Как следует из данных табл. 4, показатели холестерина обмена достоверно изменяются у детей 2-й подгруппы с дисфункцией эндотелия, что усугубляет тяжесть течения БА и её прогноз. Данные изменения в виде гиперхолестеринемии, гиперфосфолипидемии и гипертриглицеридемии указывают на нарушения текучести мембран соматических и эффекторных клеток с последующими десенситизацией рецепторов, повышением цитотоксичности, гиперпродукцией цитокинов и хемоаттрактантов эффекторными клетками.

Таблица 4. Уровень холестерина и его фракций в плазме крови у больных БА и здоровых детей, ( $M \pm SD$ ) ммоль/л

Группа	ХС	ЛПНП	ЛПВП	Фосфолипиды	ТГ
Основная (n=100)	$5,72 \pm 0,78$	$1,73 \pm 0,54$	$0,93 \pm 0,26$	$6,68 \pm 1,09^*$	$4,29 \pm 1,28^*$
1-я подгруппа (n=20)	$5,02 \pm 0,69$	$2,09 \pm 0,47$	$0,99 \pm 0,30$	$5,18 \pm 1,07^{**}$	$2,83 \pm 0,87^{**}$
2-я подгруппа (n=80)	$6,43 \pm 0,76^*$	$1,36 \pm 0,31^*$	$0,84 \pm 0,22^*$	$8,16 \pm 1,24^*$	$5,76 \pm 1,34^*$
Контрольная (n=15)	$4,62 \pm 0,52$	$2,15 \pm 0,49$	$1,19 \pm 0,33$	$2,12 \pm 0,27$	$1,70 \pm 0,32$

Примечание. \* Различия показателей исследуемых и контрольной групп; \*\* различия показателей 1-й и 2-й подгрупп.

цию эндотелия, проявляющуюся в снижении фагоцитарной активности эндотелиоцитов, повышении проницаемости, активации кинин-калликреиновой системы, снижении элиминации аллергенов, повышении сенситизации и нарушении обмена липидов у данного контингента детей. Нарушение липидного обмена приводит к дисфункции иммунокомпетентных клеток, которые утилизируют липиды, связывая апопротеиновую часть липопротеидов сывотки крови через специфические рецепторы на мембране. Рецепторы, отвечающие за транспорт липидов в клетку, отличны от иммунорегуляторных рецепторов липопротеидов, основной биологический эффект которых заключается в угнетении пролиферации иммунокомпетентных клеток при условии полного насыщения рецепторов ЛПНП. При недостаточном насыщении рецепторов ЛПНП можно наблюдать, наоборот, усиление пролиферации иммунокомпетентных клеток. Кроме того, липопротеиды всех видов угнетают дифференцировку В-клеток по продукции иммуноглобулинов, а ЛПВП ингибируют каскад системы комплемента и влияют на выраженность цитотоксического действия на клеточно-тканевые структуры бронхолегочной системы.

На повышенную цитотоксичность макрофагов и сенситизированных Т-лимфоцитов детей, больных БА, указывает достоверное снижение в плазме крови ЛПВП, повышение уровня ХС и ТГ. Изменения показателей липидного обмена у больных детей основной и особенно 2-й подгруппы ослабляют потенциал процессов функциональной и морфологической устойчивости эндотелия сосудов, приводя к нарушению сосудистого тонуса в бронхолегочной системе, что определяет тяжесть течения БА. Это, в свою очередь, замедляет процесс элиминации инфекционных и аллергических факторов, создавая возможность их участия в патогенезе заболевания.

Выявленные изменения позволяют с новых позиций наметить пути профилактики и патогенетической коррекции выявленных нарушений липидного обмена и дисфункции эндотелия сосудов у детей, больных БА.

#### Выводы

1. У 80 % детей, больных БА, снижена NO-синтетазная активность эндотелиоцитов, что указывает на дисфункцию эндотелия сосудов.

2. У детей, больных БА, дисфункция эндотелия сосудов сочетается с дислипиде-

мией, приводящей к нарушению иммунологической реактивности организма.

3. Повышение в плазме крови уровней холестерина, триглицеридов и снижение ЛПВП приводит к изменению текучести мембран эффекторных клеток, усиливая их ци-

тотоксические свойства и продукцию цитокинов с бронхоконстрикторными свойствами, определяя тяжесть течения заболевания.

4. Дисфункция липидов плазмы крови может определять нарушения сосудистого тонуса у детей, больных БА.

#### Литература

1. Гущин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. М.: Фармарус Принт, 1998. 256 с.
2. Зубаренко А.В., Стоева Т.В. Ключевые положения бронхиальной астмы у детей. Здоровье ребенка 2006; 2: 82–76.
3. Кулакова Н.В., Невзорова В.А., Лукьянов П.А., Гельцер Б.И. Биохимические маркеры воспаления и обструкции бронхов. Клин. медицина 2000; 3: 36–39.
4. Меньшикова В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. М.: Медицина, 1987. 365 с.
5. Вильчук К.У. Функциональные пробы, применяемые в диагностике дисфункции эндотелия: Метод. рекомендации. М., 2001. 19 с.
6. Vogel R.A. Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: a review. Clin. Cardiol. 1997; 20: 426–432.
7. Celermajer D.S. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992; 340: 1111–15.

#### РОЛЬ ЛІПІДНОГО СПЕКТРА ПЛАЗМИ КРОВІ В ЗМІНІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СУДИННОГО ТОНУСУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

**В.Г. Чернуский, Ю.В. Одінець, Г.Д. Морозова, О.Л. Говаленкова**

Показано дисфункціональні порушення ендотелію судин і ліпідного обміну у дітей, хворих на бронхіальну астму, від яких залежить вираженість цитотоксичних і імунопатологічних реакцій з боку імункомпетентних клітин, що визначає тяжкість перебігу захворювання. Одержані дані дозволяють намітити шляхи профілактики й патогенетичної корекції виявлених змін у даного контингенту хворих.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, діти, ендотелій судин, ліпіди, холестерин, ліпопротеїди, патогенез.

#### THE ROLE OF A LIPID SPECTRUM OF BLOOD'S PLASMA IN CHANGE OF THE ENDOTHELIAL REGULATION OF VASCULAR TONE IN KIDS WITH ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA

**V.G. Chernusky, U.V. Odinets, A.D. Morozova, O.L. Govalenkova**

It is shown dysfunctional violations of the endothelium of vessels and of lipid metabolism in children with the bronchial asthma. These violations influence on the expression of cytotoxic and immunopathological reactions by immunocompetent cells which define a severity of the disease. The findings allow to identify ways of prevention and pathogenetic correction of the identified changes among such contingent of children.

**Key words:** bronchial asthma, children, vascular endothelium, lipids, cholesterol, lipoproteins, pathogenesis.

Поступила 11.12.09

## ПСИХІАТРІЯ

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА  
ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ  
У ОСУЖДЁННЫХ НЕСОВЕРШЕННОЛЕТНИХ

А.М. Кожина

*Харьковский национальный медицинский университет*

Систематизированы патогенетически значимые биологические, социальные и психологические факторы формирования депрессивных расстройств у подростков, находящихся в условиях пенитенциарной системы. В структуре депрессивных расстройств выделены тревожный, неврастенический, астенопатический и меланхолический варианты.

**Ключевые слова:** депрессивные расстройства, подростки, пенитенциарная система.

Проблема депрессивных расстройств является одной из актуальных для теории и практики современной медицины. Депрессивные и ассоциированные с ними (коморбидные) тревожные, фобические, obsessive и соматоформные расстройства относятся к числу самых распространённых форм психической патологии. Так, по данным ВОЗ, депрессией страдают более 110 млн человек в мире, около 4,5 % в общей популяции, среднегодовой прирост составляет 122,8 млн случаев. ВОЗ сравнивает депрессию с эпидемией, охватившей всё человечество: депрессивные расстройства выходят на первое место среди причин потери трудоспособности деятельной части населения экономически развитых стран. К 2020 г. депрессия выйдет на первое место в мире среди всех заболеваний, обогнав сегодняшних лидеров – инфекционные и сердечно-сосудистые заболевания. Неуклонная тенденция к росту данной патологии зафиксирована у лиц, находящихся в местах лишения свободы, в частности в подростковых пенитенциарных учреждениях, что определяет актуальность изучаемой проблемы, имеющей высокую медико-социальную значимость.

Всё это определило актуальность настоящего исследования, цель которого – изучение особенностей формирования и клинической структуры депрессивных расстройств у подростков, находящихся в условиях пенитенциарной системы.

**Контингент и методы исследования.**

Проведено комплексное обследование 207 подростков обоего пола в возрасте 12–17 лет, совершивших правонарушения и находящихся в учреждениях пенитенциарной системы Харьковской, Донецкой и Сумской областей. У (38,2±3,1) % из них диагностированы депрессивные расстройства (F43.20 – кратковременная депрессивная реакция, F43.21 – смешанная тревожно-депрессивная реакция). Изучали роль и патогенетическую значимость социально-психологических и биологических факторов в формировании невротических расстройств у подростков, находящихся в местах лишения свободы.

В работе использованы клинико-анамнестический, клинико-психопатологический, психодиагностический методы и метод математической статистики.

**Результаты и их обсуждение.** Выделен комплекс факторов, определяющих дефект морфофункционального субстрата головного мозга и способствующих развитию невротических расстройств у обследованных подростков.

В пренатальном периоде – беременности с токсикозами I, II половин – (42,8±3,4) % матерей делинквентных; физические травмы во время беременности – (37,5±3,3) %; употребление во время беременности психоактивных веществ – (62,3±3,3) %; в ряде случаев матери пытались провоцировать выкидыш, пользуясь «народными» средств-

вами, –  $(22,5 \pm 2,9) \%$ ; роды примерно в трети случаев протекали с патологией, наиболее часто отмечались недоношенная беременность –  $(39,3 \pm 3,3) \%$ , гипоксия плода –  $(37,5 \pm 3,3) \%$ , стремительные –  $(29,2 \pm 3,1) \%$  или затяжные –  $(35,8 \pm 3,3) \%$  роды, асфиксия новорождённых –  $(48,2 \pm 3,4) \%$ , гемолитическая болезнь новорождённых –  $(29,4 \pm 3,1) \%$ .

В постнатальном периоде – частые простудные заболевания –  $(55,9 \pm 3,4) \%$ ; неоднократные черепно-мозговые травмы –  $(99,4 \pm 0,5) \%$ ; большой процент хронических инфекций, вызываемых условно-патогенной микрофлорой, – хронические тонзиллиты и ангины –  $(48,5 \pm 3,4) \%$ ; перенесённые нейроинфекции –  $(35,6 \pm 3,3) \%$ ; хронические желудочно-кишечные заболевания (гастриты, колиты) –  $(34,5 \pm 3,3) \%$ ; болезни печени и жёлчных путей (гепатохолеститы, лямблиозные холециститы) –  $(29,8 \pm 3,1) \%$ ; у  $(25,6 \pm 4,6) \%$  обследованных девочек, находящихся в местах лишения свободы, имели место хронические гинекологические заболевания;  $(70,3 \pm 3,1) \%$  подростков-правонарушителей часто употребляли спиртные напитки;  $(69,3 \pm 3,2) \%$  несовершеннолетних правонарушителей употребляли или несколько раз пробовали токсические вещества,  $(36,9 \pm 5,2) \%$  – наркотические вещества.

По нашему мнению, приведённые факторы определяют биологическую основу и могут рассматриваться как базисные в формировании невротических расстройств, факторами риска которых являются приобретённая дефектность неспецифических систем (в основном лимбической) головного мозга, лежащая в основе представлений о «неврологии личности».

Как показали результаты анализа социально-психологических факторов риска, способствующих развитию депрессивных расстройств у подростков, находящихся в местах лишения свободы,  $(58,4 \pm 3,4) \%$  обследованных воспитывались по типу гипопротекции, эмоционального отвержения, им необходима психологическая поддержка и эмоциональное тепло, отсутствие которых со стороны работников пенитенциарной системы в сочетании со спецификой режимных мероприятий приводит к депрессивным расстройствам;  $(22,3 \pm 2,8) \%$  делинквентных подростков воспитывалось в духе потворствующей гипопротекции с некритичным отношением к их поступкам, желанием родителей оправдать подростка любой ценой, попадание в места лишения свободы,

отсутствие привычной потворствующей защиты является для таких несовершеннолетних хронической конфликтной ситуацией, сопровождающейся крахом завышенных притязаний, что приводит к срыву компенсаторных механизмов;  $(18,3 \pm 2,6) \%$  подростков воспитывались в условиях доминирующей гипопротекции, для них типичным был внутриличностный конфликт – самоопределения, прочности своего «я» в ситуации пенитенциарного стресса, что приводило к развитию депрессивных реакций.

Нами выделен комплекс негативных факторов социальной изоляции, провоцирующих развитие невротических расстройств. Наиболее тяжело несовершеннолетними переносятся постоянный надзор, обыски –  $(67,2 \pm 4,3) \%$  мальчиков и  $(76,9 \pm 4,4) \%$  девочек; ограничение свободы передвижения –  $(68,9 \pm 4,2) \%$  и  $(55,1 \pm 5,2) \%$  соответственно; строгий внутренний распорядок –  $(59,8 \pm 4,5) \%$  и  $(41,2 \pm 5,2) \%$ ; замкнутая система общения –  $(56,4 \pm 4,5) \%$  и  $(46,2 \pm 5,2) \%$ ; коренная ломка жизненного стереотипа –  $(58,7 \pm 4,5) \%$  и  $(61,4 \pm 5,1) \%$ ; тяжёлый физический труд в производственных мастерских –  $(44,6 \pm 4,5) \%$  и  $(39,1 \pm 5,1) \%$ , и неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия содержания –  $(36,4 \pm 4,4) \%$  и  $(43,2 \pm 5,2) \%$  соответственно.

Необходимо отметить, что  $(44,3 \pm 4,5) \%$  несовершеннолетних мальчиков не видят необходимости посещать занятия в школе, считая это «дополнительным наказанием», девочки, напротив, более охотно посещают занятия, стремятся получить среднее образование, негативно к учебе относятся  $(22,1 \pm 4,3) \%$  обследованных женского пола.

В клинической картине депрессивных расстройств у несовершеннолетних правонарушителей наиболее часто наблюдаются подавленность настроения и аффект тоски (скука, уныние, грусть, печаль), астенические симптомы (повышенная утомляемость, слабость, вялость, раздражительность при напряжении и утомлении, повышенная восприимчивость к ранее нейтральным раздражителям, трудность в концентрации внимания, повышенная истощаемость внимания, трудность в запоминании текущих событий), а также различные тревожные проявления (внутреннее напряжение с невозможностью расслабиться, различного рода страхи, немотивированное беспокойство, тревога). В ряде случаев отмечались кратковременные бурные реакции на незначительные эмоциональные собы-

тия, несоответствие эмоциональных реакцій ситуации.

Структуру депрессивного эпизода, наряду с аффективными нарушениями, составляли: снижение побуждений, утрата интересов, апатия, а также выраженная интеллектуальная и физическая утомляемость даже при незначительном напряжении, трудности в концентрации внимания, нарушение сосредоточенности, высокая утомляемость при интеллектуальных нагрузках.

На основе данных клинико-психопатологического исследования были выделены следующие варианты депрессивных расстройств: тревожный –  $(44,2 \pm 3,4) \%$ , неврастенический –  $(38,9 \pm 3,4) \%$ , астенопатический –  $(9,7 \pm 2,1) \%$  и меланхолический –  $(7,3 \pm 1,8) \%$ .

При *тревожном варианте* депрессии отмечается сниженный фон настроения, раздражительность, гиперестезии, чувство тоски, тревоги, внутреннего напряжения, беспокойства с невозможностью расслабиться, истерические проявления.

*Неврастенический вариант* включал, наряду с аффектом тоски и тревоги, разнообразные страхи и опасения, астенические проявления и вегетативные пароксизмы.

*Астенопатический вариант* характеризовался повышенной утомляемостью, вялостью, истощаемостью, бездеятельностью, равнодушием, отсутствием интереса к общению со сверстниками на фоне сниженного фона настроения, раздражительности, повышенной восприимчивости к ранее нейтральным раздражителям, апатии.

*Меланхолический вариант* характеризовался сниженным фоном настроения, аффектом тоски, частыми лагримальными реакциями, мыслями о собственной малоценности, идеями самообвинения и самоуничтожения, психомоторной заторможенностью, ипохондрическими проявлениями, соматовегетативными расстройствами.

Отличительной особенностью клинической картины невротических расстройств у изучаемого контингента, на наш взгляд, является тенденция к пароксизмальным кратковременным –  $(41,2 \pm 3,4) \%$  либо затяжным –  $(56,2 \pm 3,4) \%$  аффективным реакциям, которые в своей основе базировались на защитных психологических механизмах, определяемых борьбой за выживание в условиях тюремной субкультуры.

У подростков с депрессивными расстройствами отмечалось повышение уровня суицидального риска, что особенно харак-

терно для девочек-правонарушительниц: мальчики – 28,5 балла, девочки – 32,5 балла, а также низкие результаты по методике самосознания смерти: мальчики – 20,1 балла, девочки – 20,6 балла, что может быть проявлением склонности к совершению суицидальных действий.

Согласно полученным в работе данным,  $(39,1 \pm 5,1) \%$  девочек и  $(29,2 \pm 4,1) \%$  мальчиков-правонарушителей часто думали о смерти, высказывали желание умереть: «Я часто думаю о смерти», «Лучше бы мне не жить», «Я хочу умереть», «Если бы мне хватило сил, то я бы ушла из жизни»; в контрольной группе такие мысли отмечались у  $(11,4 \pm 5,2) \%$  девочек и  $(7,7 \pm 3,8) \%$  мальчиков.

Попытки самоубийства (попытки вскрыть вены, отравиться, глотание иголок) совершали  $(38,2 \pm 4,5) \%$  мальчиков и  $(42,4 \pm 5,2) \%$  девочек, находящихся в местах лишения свободы. Основной причиной суицидальных попыток у несовершеннолетних правонарушителей является невозможность адаптации к условиям жёсткой депривации и коренная ломка жизненного стереотипа, а также крах завышенных притязаний.

Как показали результаты исследования, для клинической картины депрессивных расстройств у подростков, находящихся в местах лишения свободы, облигатными явились вегетативно-сосудистые пароксизмы. У  $(40,9 \pm 3,4) \%$  несовершеннолетних правонарушителей с депрессивными расстройствами вегетативные кризы начинались с озноба, сопровождались учащённым сердцебиением, нередко с чувством онемения или похолодания конечностей, то есть имели симпатoadреналовую направленность; у  $(59,1 \pm 3,4) \%$  правонарушителей – вагоинсуляторную, начинались с элементов «замирания сердца», одышки, чувства «прилива жара к лицу или телу», сменяющихся ознобом и тахикардией.

У подавляющего большинства подростков были выявлены различные нарушения цикла «сон–бодрствование», влияющие на перераспределение клинической симптоматики в течение дня. Для подростков с депрессивными расстройствами наиболее характерными были трудности засыпания с частыми пробуждениями и кошмарными сновидениями, а также ранние пробуждения; при этом клиническая картина расстройства была более широко представлена утром и в первой половине дня, к вечеру отмечалось снижение выраженности симптоматики –  $(76,2 \pm 2,9) \%$  обследованных.

На основе полученных данных, отражающих механизмы формирования депрессивных расстройств у несовершеннолетних, находящихся в местах лишения свободы, разработаны методы коррекции и профилактики данных нарушений с дифференцированным использованием комплекса психотерапевтических методик и медикаментозного лечения

#### **Выводы**

В формировании депрессивных невротических расстройств у подростков, находящихся в местах лишения свободы, лежит многофакторная обусловленность, в кото-

рой биологические, социальные и психологические факторы неразрывны и определяют специфику патогенеза и синдроменеза психических расстройств у несовершеннолетних заключённых.

В структуре депрессивных расстройств у несовершеннолетних правонарушителей выделены тревожный, неврастенический, астенопатический и меланхолический варианты депрессивных расстройств.

Развитие невротических депрессий у несовершеннолетних правонарушителей протекает на фоне аффективности поведения, обусловленной адаптацией к условиям тюремной субкультуры.

#### **МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ І КЛІНІЧНА КАРТИНА ДЕПРЕСИВНИХ РОЗЛАДІВ У ЗАСУДЖЕНИХ НЕПОВНОЛІТНІХ**

*А.М. Кожина*

Проведено систематизацію патогенетично значущих біологічних, соціальних і психологічних факторів формування депресивних розладів у підлітків, які знаходяться в умовах пенітенціарної системи. У структурі депресивних розладів виділено тривожний, невротичний, астенопатичний і меланхолійний варіанти.

*Ключові слова:* депресивні розлади, підлітки, пенітенціарна система.

#### **MECHANISMS OF FORMING AND THE CLINICAL PICTURE OF DEPRESSIVE DISORDERS IN CONVICTED JUVENILES**

*A.M. Kozhina*

During work with the systematization of pathogenetically significant biological, social and psychological factors of forming of depressive disorders in adolescents being found in the conditions of the penal system is conducted. In the structure of the depressive disorders are anxious, neurotic, asthenoapathetic and melancholic variants.

*Key words:* depressive disorders, teenagers, penitentiary system.

*Поступила 11.01.10*

## НЕОНАТОЛОГІЯ

АНАЛИЗ СМЕРТНОСТИ  
ПРИ ЗАДЕРЖКЕ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ ПЛОДА  
В ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ*М.С. Мирошниченко**Харьковский национальный медицинский университет*

Установлено, что распространённость синдрома ЗВУР в Харьковской обл. за период с 2005 по 2008 г. не имеет тенденции к колебанию и составляет 16,7 %. Выявлены факторы риска возникновения данного синдрома.

**Ключевые слова:** задержка внутриутробного развития, плод, факторы риска.

В последнее время наблюдается тенденция к увеличению числа случаев задержки внутриутробного развития (ЗВУР) плода. По данным ВОЗ, количество новорождённых со ЗВУР колеблется от 6,5 % в развитых странах Европы до 31,1 % в Центральной Азии [1]. В среднем каждый десятый младенец рождается с низкой массой тела. Перинатальная смертность и заболеваемость в 2–3 раза превышает таковую у детей с нормальной массой тела. Проявлением данной патологии является неонатальная заболеваемость и смертность. Этот синдром существенно влияет не только на внутриутробное состояние плода, но и на последующее развитие ребёнка и становление функций его организма. Уменьшение темпов прироста общей массы тела плода в течение внутриутробной жизни, а также его гипоксия, как правило, сочетаются с поражением различных систем организма, сопровождаются снижением адаптации новорождённого в неонатальном периоде, высокой частотой заболеваемости, нарушением физического и интеллектуального развития детей [2]. Общеизвестно, что чем тяжелее степень ЗВУР, тем хуже перинатальный прогноз и прогноз для здоровья. Формирование синдрома ЗВУР обусловлено многочисленными факторами: материнскими, плодовыми и плацентарными [1–3].

Целью данного исследования явился анализ случаев ЗВУР, закончившихся смертью в родах или в течение первого года жизни,

и факторов риска возникновения данного синдрома.

**Материал и методы.** Проведён анализ регистрационных талонов случаев детской смертности до одного года жизни (880 случаев) и мертворождения (663 случая) по Харьковской области за период с 1 января 2005 по 31 декабря 2008 г. В ходе работы были выделены следующие группы: сравнения, куда отнесены дети, массоростовые показатели которых соответствуют сроку гестации; дети с симметричным (сЗВУР) и асимметричным (асЗВУР) вариантами. Для диагностики ЗВУР использовали перцентильные таблицы, приведённые в приказе МОЗ Украины № 584 от 29.08.2006 г. [4].

Полученные данные обрабатывали методами математической статистики [5].

**Результаты и их обсуждение.** Частота синдрома ЗВУР среди всех регистрационных талонов погибших детей составила 257 случаев,  $(16,7 \pm 0,95) \%$ . Существенных колебаний частоты встречаемости ЗВУР за период с 2005 по 2008 г. нами не выявлено: 2005 г. – 57 случаев,  $(16,4 \pm 1,98) \%$ ; 2006 г. – 54,  $(17,0 \pm 2,1) \%$ ; 2007 г. – 75,  $(17,3 \pm 1,8) \%$ ; 2008 г. – 71,  $(16,0 \pm 1,7) \%$ . Однако ряд ученых [1] указывают на то, что частота ЗВУР у новорождённых растёт, что имеет объективные причины, заключающиеся в ухудшении социальных условий и увеличении вредных факторов, действующих на здоровье мужчин и женщин детородного возраста в течение последних лет.

Достоверной разницы в частоте встречаемости ЗВУР как среди мертворождённых [117 случаев,  $(17,6 \pm 1,5) \%$ ], так и среди детей, умерших в течение одного года жизни [140 случаев,  $(15,9 \pm 1,2) \%$ ], не выявлено. Также не выявлено достоверных отличий в частоте встречаемости сЗВУР и асЗВУР как среди мертворождённых, так и среди детей, умерших в течение одного года жизни, что противоречит данным [6], согласно которым на симметричный вариант приходится 25 % случаев, а на асимметричный – 75 %.

В общей популяции (1543 ребёнка) достоверно ( $p < 0,001$ ) преобладают мальчики – 873,  $(56,6 \pm 1,3) \%$ , по сравнению с девочками – 670,  $(43,4 \pm 1,3) \%$ . Среди 663 случаев мертворождения большинство приходится на долю мальчиков – 376,  $(56,7 \pm 1,9) \%$ , в то время как на долю девочек – 287,  $(43,2 \pm 1,9) \%$ , и среди 880 случаев, когда дети умерли в течение одного года жизни, доля мальчиков – 497,  $(56,6 \pm 1,7) \%$ ; девочек – 383,  $(43,5 \pm 1,7) \%$  ( $p < 0,001$ ). Среди 257 детей со ЗВУР отсутствует достоверная разница ( $p > 0,05$ ) по половому признаку: девочки – 132,  $(51,4 \pm 3,1) \%$ , мальчики – 125,  $(48,6 \pm 3,1) \%$ . Также отсутствует достоверная разница по половому признаку среди детей с сЗВУР и асЗВУР как мертворождённых, так и умерших в течение одного года жизни.

Согласно данным [3], отмечается преобладание отмеченного синдрома у девочек, однако в нашем исследовании отсутствует достоверная разница по половому признаку среди случаев ЗВУР плодов и новорождённых со ЗВУР.

В табл. 1 показано количество мертворождённых и умерших в течение одного года жизни в зависимости от возраста матерей, достоверных отличий не выявлено ( $p > 0,05$ ).

В большинстве исследований, посвящённых проблеме ЗВУР, возраст моложе 17–20 и старше 35 лет расценивается как фактор риска [1]. По нашим данным, наибольшая часть детей как среди случаев мертворождения, так и смерти в течение первого года жизни родилась у женщин в возрастной группе от 19 до 30 лет, относящейся к наиболее активному репродуктивному периоду.

При изучении мест проживания матерей мертворождённых детей установлено, что достоверно большее их число живёт в городе: в группе сравнения – 490,  $(89,7 \pm 1,3) \%$ ; при сЗВУР – 35,  $(68,6 \pm 6,5) \%$ ,  $p < 0,01$ ; при асЗВУР – 51,  $(77,3 \pm 5,2) \%$ ,  $p < 0,05$ . Число женщин, проживающих в селе, в группе сравнения – 56,  $(10,3 \pm 1,3) \%$ ; при сЗВУР – 16,  $(31,4 \pm 6,5) \%$ ,  $p < 0,01$ ; при асЗВУР – 15,  $(22,7 \pm 5,2) \%$ ,  $p < 0,05$ .

Таблица 1. Количество мертворождённых и умерших в течение одного года жизни в зависимости от возраста матерей

Возраст матерей, лет	Группа сравнения		сЗВУР		асЗВУР	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
<i>Мертворождённые</i>						
15–18	23	$4,2 \pm 0,9$	3	$5,9 \pm 3,3$	3	$4,6 \pm 2,6$
19–30	434	$79,5 \pm 1,7$	35	$68,7 \pm 6,5$	39	$59,0 \pm 6,1$
31–33	58	$10,6 \pm 1,3$	7	$13,7 \pm 4,8$	9	$13,6 \pm 4,2$
34–36	11	$2,1 \pm 0,6$	3	$5,8 \pm 3,3$	9	$13,6 \pm 4,2$
37–39	10	$1,8 \pm 0,6$	1	$2,0 \pm 1,96$	3	$4,6 \pm 2,6$
40–42	10	$1,8 \pm 0,6$	2	$3,9 \pm 2,7$	3	$4,6 \pm 2,6$
<i>Умершие в течение года</i>						
15–18	51	$6,9 \pm 0,9$	5	$7,9 \pm 3,4$	8	$10,4 \pm 3,5$
19–30	561	$75,8 \pm 1,6$	40	$63,5 \pm 6,1$	52	$67,5 \pm 5,3$
31–33	72	$9,7 \pm 1,1$	9	$14,3 \pm 4,4$	6	$7,8 \pm 3,1$
34–36	40	$5,4 \pm 0,8$	5	$7,9 \pm 3,4$	7	$9,1 \pm 3,3$
37–39	10	$1,4 \pm 0,4$	3	$4,8 \pm 2,7$	2	$2,6 \pm 1,8$
40–42	6	$0,8 \pm 0,3$	1	$1,6 \pm 1,6$	2	$2,6 \pm 1,8$

Примечание.  $p > 0,05$ .

Установлено, что достоверно большее число матерей, дети которых умерли в течение одного года жизни, проживает в городе: при этом максимальное число таких женщин отмечается в группе сравнения – 615,  $(83,1 \pm 1,4) \%$ ; при сЗВУР – 44,  $(69,8 \pm 5,8) \%$ ,  $p < 0,05$ ; при асЗВУР – 47,  $(61,0 \pm 5,6) \%$ ,  $p < 0,001$ . Число женщин, проживающих в селе, в группе сравнения – 125,  $(16,9 \pm 1,4) \%$ ; при сЗВУР – 19,  $(30,2 \pm 5,8) \%$ ,  $p < 0,05$ ; при асЗВУР – 30,  $(39,0 \pm 5,6) \%$ ,  $p < 0,001$ .

Ряд учёных считает, что увеличение частоты рождения детей со ЗВУР объясняется низким экономическим уровнем жизни их матерей, проживающих в селе [2]. По нашим данным, то, что большинство женщин, дети которых со ЗВУР, проживают в городе, видимо, обусловлено большим количеством городских жителей, но по сравнению с группой сравнения как среди случаев мертворождения, так и смерти детей в течение первого года жизни у детей со ЗВУР отмечается достоверно больший процент женщин, проживающих в селе.

Показателем отношения родителей к появлению на свет нового члена семьи является, с нашей точки зрения, как сам факт постановки женщины на учёт в женскую консультацию по беременности, так и срок, в котором беременная становится на учёт. При изучении своевременности постановки женщины на учёт по беременности в женской консультации и проведения УЗИ среди случаев мертворождения в группе сравнения из 546 женщин 55,  $(10,1 \pm 1,3) \%$ , не наблюдались в женской консультации и им не проводилось УЗИ. Количество женщин, которые не становились на учёт и не подвергались УЗИ, достоверно увеличивается в группе детей с сЗВУР – 12 женщин из 51, что составляет  $(23,5 \pm 5,9) \%$ ,  $p < 0,05$ , и особенно в группе детей с асЗВУР – 25 женщин из 66, что составляет  $(37,9 \pm 6,0) \%$ ,  $p < 0,001$ . Изучение случаев смерти детей в течение одного года жизни показало, что количество женщин, которые не становились на учёт в женской консультации и не подвергались УЗИ, в группе сравнения составляло 106 из 740, или  $(14,3 \pm 1,3) \%$ , в группе детей с сЗВУР – 18 из 63,  $(28,6 \pm 5,7) \%$ ,  $p < 0,05$ ; с асЗВУР – 26 из 77,  $(33,8 \pm 5,4) \%$ ,  $p < 0,001$ . Данный факт выявлен у женщин, которые вели асоциальный образ жизни, не имели определённого места жительства, злоупотребляли алкоголем, наркотиками, курили, и свидетельствует о нежеланной наступившей беременности, что может быть

отнесено, по данным ряда авторов, к фактору риска возникновения ЗВУР [6].

Одним из факторов риска возникновения ЗВУР являются перенесённые ранее аборт [7], причём с увеличением количества абортов у женщины увеличивается вероятность возникновения данного синдрома [3]. Анализ наличия абортов у матерей мертворождённых показал, что в группе сравнения аборты в анамнезе отмечены у 173 женщин из 546, что составляет  $(31,7 \pm 2,0) \%$ ; при сЗВУР – у 24 из 51, или  $(47,1 \pm 7,0) \%$ ,  $p < 0,05$ ; при асЗВУР – у 33 из 66, или  $(50,0 \pm 6,2) \%$ ,  $p < 0,01$ . Что касается матерей, дети которых умерли в течение первого года жизни, то при ЗВУР в анамнезе у них отмечается достоверно больше абортов по сравнению с группой сравнения: при сЗВУР – у 28 из 63,  $(44,4 \pm 6,3) \%$ ,  $p < 0,01$ ; при асЗВУР – у 32 из 77,  $(41,5 \pm 5,6) \%$ ,  $p < 0,05$ , в то время как в группе сравнения – у 202 из 740, или  $(27,3 \pm 1,6) \%$ .

Ещё одним фактором риска возникновения ЗВУР считается наличие осложнений во время течения беременности [7]. Среди случаев мертворождения достоверно большая частота встречаемости осложнений во время течения беременности отмечается у женщин со ЗВУР плодов по сравнению с группой сравнения: при сЗВУР – у 45,  $(88,2 \pm 4,5) \%$ ,  $p < 0,001$ ; при асЗВУР – у 61,  $(92,4 \pm 3,3) \%$ ,  $p < 0,001$ ; в группе сравнения – у 343,  $(62,8 \pm 2,1) \%$ . Среди случаев смерти детей в течение первого года жизни также отмечено достоверное преобладание частоты осложнений беременности у детей со ЗВУР по сравнению с группой сравнения: при сЗВУР – у 36, что составило  $(57,1 \pm 6,2) \%$ ,  $p < 0,01$ ; при асЗВУР – у 43, или  $(55,8 \pm 5,7) \%$ ,  $p < 0,01$ ; в группе сравнения – у 273 женщин, или  $(36,9 \pm 1,8) \%$ .

В анамнезе у женщин, родивших детей со ЗВУР, отмечаются осложнения не только во время течения беременности, но и в родах. Среди случаев мертворождения отмечается достоверное преобладание осложнённых родов у матерей при ЗВУР плода по сравнению с группой сравнения: при сЗВУР – у 31 женщины, или  $(60,8 \pm 6,8) \%$ ,  $p < 0,001$ ; при асЗВУР – у 30, или  $(45,5 \pm 6,1) \%$ ,  $p < 0,05$ , а в группе сравнения – у 173, или  $(31,7 \pm 2,0) \%$ . Среди случаев смерти детей в течение первого года жизни также установлена достоверно большая частота осложнённых родов у женщин со ЗВУР: при сЗВУР – у 26 женщин, что составляет  $(41,3 \pm 6,2) \%$ ,  $p < 0,05$ ; при асЗВУР – у 42 женщин, или

(54,4±5,7) %,  $p < 0,001$ , а в группе сравнения – у 204, или (27,6±1,6) %.

При изучении осложнений во время течения беременности установлено, что достоверно чаще данные осложнения возникают у женщин, дети которых родились мёртвыми со ЗВУР по сравнению с детьми со ЗВУР, которые погибли в течение первого года жизни. Так, выявляется достоверная разница ( $p < 0,001$ ) между частотой встречаемости осложнений во время беременности среди мертворождённых детей с сЗВУР – 45 случаев, (88,2±4,5) %, и детей с сЗВУР, умерших в течение первого года жизни – 36 случаев, (57,1±6,2) %; среди мертворождённых детей с асЗВУР – 61 случай, (92,4±3,3) %, и детей с асЗВУР, умерших в течение первого года жизни – 43 случая, (55,8±5,7) %.

Выявлено достоверное преобладание ( $p < 0,05$ ) частоты осложнений в родах среди случаев мертворождения при сЗВУР – 31 случай, (60,8±6,8) %, по сравнению с детьми с сЗВУР, умершими в течение первого года жизни – 26 случаев, (41,3±6,2) %. Достоверной разницы ( $p > 0,05$ ) в частоте осложнений в родах среди случаев мертворождённых плодов с асЗВУР – 30 случаев, (45,5±6,1) %, и живорождённых с асЗВУР, умерших в течение первого года жизни, – 42 случая, (54,4±5,7) %, нет.

Полученные нами данные об увеличении частоты встречаемости осложнений как во время течения беременности, так и в родах у женщин, дети которых со ЗВУР, совпадают с данными различных авторов, которые указанную патологию относят к фактору риска возникновения данного синдрома [1].

В случае живорождения ребёнка анализировали данные по шкале Апгар на 1-й и 5-й минуте после рождения (табл. 2). Из табл. 2 видно, что дети со ЗВУР рождаются в тяжёлом состоянии, при этом тяжесть состояния у них при рождении выражена в большей степени, чем в группе сравнения.

*Таблица 2. Оценка состояния новорождённых по шкале Апгар, ( $M \pm m$ ) баллов*

Группа	1-я минута	5-я минута
Сравнения	4,7±0,15	6,7±0,13
Дети с сЗВУР	2,8±0,36*	5,5±0,26*
Дети с асЗВУР	3,3±0,36*	6,1±0,23*

*Примечание.* \* $p < 0,01$ ; # $p < 0,05$ .

По данным [2], экстрагенитальная патология матери также влияет на рост и развитие плода. Неблагоприятное воздействие экстрагенитальной патологии определяется характером заболевания, его длительностью, тяжестью течения. В условиях изменённого гомеостаза материнского организма снижается транспорт кислорода и питательных веществ к плоду, нарушается формирование и развитие плаценты. Это приводит к биохимическим, ферментативным и морфологическим изменениям в единой системе «мать–плацента–плод» и в ряде случаев к ЗВУР. Кроме того, экстрагенитальные заболевания являются фоном, на котором развиваются осложнения беременности, что увеличивает риск возникновения ЗВУР.

При изучении распространённости экстрагенитальной патологии матерей среди случаев мертворождённых детей установлено отсутствие достоверной разницы в частоте встречаемости данной патологии среди исследуемых групп: в группе сравнения данная патология выявлена у 242 женщин, что составляет (44,3±2,1) %, в группе детей с сЗВУР – у 27, или (53,0±7,0) %,  $p > 0,05$ ; а в группе детей с асЗВУР – у 34 женщин, или (51,5±6,2) %,  $p > 0,05$ . Среди случаев смерти детей в течение одного года жизни также выявлено отсутствие достоверной разницы в частоте встречаемости экстрагенитальной патологии среди исследуемых групп: в группе сравнения данная патология выявлена у 272 женщин, или (36,7±1,8) %; в группе детей с сЗВУР – у 27, или (42,9±6,2) %,  $p > 0,05$ ; при асЗВУР – у 34 женщин, или (44,2±5,7) %,  $p > 0,05$ .

Среди всех случаев мертворождения и смерти детей в течение первого года жизни отсутствует достоверная разница ( $p > 0,05$ ) в частоте встречаемости экстрагенитальной патологии матерей.

Таким образом, проведённый анализ смертности при ЗВУР позволил изучить состояние проблемы, выявить группы и факторы риска возникновения данного синдрома, что в дальнейшем поможет разработать профилактические и лечебные мероприятия.

## Выводы

1. Процент ЗВУР среди случаев мертворождения, смерти детей в течение первого года жизни за период с 2005 по 2008 г. в Харьковской области составил 16,7 %. Существенные колебания в частоте встречаемости ЗВУР за этот период отсутствуют.

2. Достоверной разницы в частоте встречаемости симметричного и асимметричного вариантов ЗВУР как среди случаев мертворождения, так и смерти детей в течение первого года жизни нет.

3. Отсутствует достоверное отличие по половому признаку как среди случаев ЗВУР плодов, так и новорождённых со ЗВУР.

4. Отмечено достоверное преобладание частоты встречаемости осложнений во время течения беременности у женщин, дети которых родились мёртвыми со ЗВУР, по сравнению с теми детьми со ЗВУР, которые погибли в течение первого года жизни.

5. Выявлено достоверное преобладание частоты осложнений в родах у женщин, дети которых родились мёртвыми с ЗВУР по сравнению с детьми с ЗВУР, умершими в течение первого года жизни.

6. Установлено, что в анамнезе у матерей детей со ЗВУР отмечается достоверно больше аборт по сравнению с группой сравнения.

Перспектива дальнейших исследований состоит в изучении взаимосвязи сочетания осложнений беременности и родов, экстрагенитальной патологии матери и синдрома ЗВУР.

Данная статья является частью реализации проекта, который финансируется грантом Президента Украины для одарённой молодёжи на 2010 г. (распоряжение Президента Украины от 16 декабря 2009 г. № 263/2009-рп).

### Литература

1. Демина Т.Н., Желоманова С.А. Синдром задержки развития плода: причины, факторы риска, пути профилактики и лечения. Мед.-соц. проблемы семьи 2000; 1: 84–90.
2. Филиппов Е.С., Перфильева Н.А. Задержка внутриутробного развития плода: современные аспекты проблемы. Сиб. мед. журн. 2007; 2: 9–13.
3. Мокія С.О., Василенко Н.В. Затримка внутрішньоутробного розвитку: сучасні погляди та невирішені питання. Педіатр., акуш. та гінекол. 2001; 3: 53–55.
4. Приказ МОЗ Украины № 584 от 29.08.2006 г. «Про затвердження протоколу медичного догляду за новонародженою дитиною з малою масою тіла при народженні».
5. Райскина М.Е., Акялене Д.-М.А. Статистическая обработка медицинских данных. Вильнюс: Мокслас, 1989. 102 с.4.
6. Дейвид Шварц И. Задержка развития: старая беда в новом тысячелетии. Междунар. мед. журн. 2001; 5: 460–468.
7. Медведев М.В., Юдина Е.В. Задержка внутриутробного развития плода. М., 1998. 208 с.

### АНАЛІЗ СМЕРТНОСТІ ПРИ ЗАТРИМЦІ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ ПЛОДУ В ХАРКІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ

**М.С. Мирошниченко**

Встановлено, що розповсюдженість синдрому ЗВУР в Харківській обл. за період з 2005 по 2008 р. не має тенденції до коливання і становить 16,7 %. Виявлено фактори ризику виникнення даного синдрому.

**Ключові слова:** затримка внутрішньоутробного розвитку, плід, фактори ризику.

### ANALYSIS OF MORTALITY IN THE CASES OF INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION IN KHARKOV REGION

**M.S. Myroshnychenko**

The spreading of the syndrome of intrauterine growth retardation in Kharkov region during 2005–2008 years didn't change and equal 16,7 %. In the investigation were learned the factors of risk of rise the syndrome of intrauterine growth retardation.

**Key words:** intrauterine growth retardation, fetus, factors of risk.

Поступила 10.12.09

## ГІНЕКОЛОГІЯ

РОЛЬ СТАТЕВИХ СТЕРОЇДІВ У ПРОЦЕСАХ  
ОВАРІАЛЬНОГО ЦИКЛУ В НОРМІ І ПРИ ПАТОЛОГІЇ*І.З. Гладчук, В.О. Ситнікова, О.Я. Назаренко**Одеський державний медичний університет**Військово-медичний клінічний центр Південного регіону, м. Одеса*

Викладені сучасні погляди на роль статевих стероїдів і їх рецепторів у регуляції процесів оваріального циклу в нормі і при деяких патологічних станах. Стероїдні гормони (прогестерон, андрогени, естроген), що синтезуються в яєчнику, справляють системний ендокринний вплив на органи-мішені репродуктивної системи і, крім того, є потужними авто-, пара- й інтракринними регуляторами процесів зростання і атрезії фолікулів, овуляції, формування і регресії жовтого тіла. Регулювальну дію на процеси оваріального циклу стероїдні гормони здійснюють через специфічні ядерні рецептори. Вивчення особливостей експресії інтраоваріальних стероїдних рецепторів при різних патологічних станах, пов'язаних з порушенням процесів яєчничкового циклу в жінок, сприятиме розумінню етіопатогенезу ановуляторної безплідності, формування функціональних кіст яєчників, апоплексії яєчника, а також дозволить патогенетично обґрунтовано вирішити проблему лікування і профілактики цієї досить поширеної гінекологічної патології.

**Ключові слова:** *яєчники, статеві стероїдні гормони, рецептори стероїдних гормонів, апоплексія яєчника, ановуляторна безплідність, овуляція.*

Стероїдні гормони (прогестерон, андрогени, естроген), що синтезуються в яєчнику, справляють системний ендокринний вплив на органи і тканини-мішені та є могутніми авто-, пара- й інтракринними регуляторами процесів зростання і атрезії фолікулів, овуляції, лютеогенезу і лютеолізу. Регулювальну дію на процеси оваріального циклу стероїдні гормони здійснюють через специфічні ядерні рецептори [1–3]. Протягом останнього десятиліття виявлена ключова роль прогестерону в овуляторному каскаді. Лабораторні тварини, позбавлені прогестеронових рецепторів (ПР), демонструють стійку ановуляцію [4]. Андрогени сприяють ранньому фолікулярному зростанню, але при надмірній інтраоваріальній активності перешкоджають фолікулярному зростанню, стимулюючи атрезію і апоптоз фолікулів. Естрогени впливають на зростання і диференціювання гранульозних клітин разом із гонадотропінами, відіграють ключову роль у передовуляторному дозріванні фолікула [4–6].

Порушення фізіологічного балансу експресії гормональних рецепторів призводить

до кістозної трансформації яєчників, ановуляції, лютеїнізації фолікулів, що не овулювали, крововиливів у порожнину кістозних фолікулів і кіст жовтого тіла. На сучасному етапі функції стероїдних рецепторів у яєчниках вивчаються шляхом виведення генномодифікованих ліній мишей, у яких відсутній той чи інший вид стероїдних рецепторів. Хід оваріального циклу у трансгенних лабораторних тварин вивчається в умовах гонадотропінової стимуляції або без неї [7–10].

Автори [11] виділили три основних яєчникових локальних фактори, індукованих овуляторним гонадотропіновим викидом, що відіграють ключову роль в процесах овуляції і лютеогенезу у приматів. До цих факторів ними зараховані простагландини, ангіогенні фактори зростання і метаболічні зв'язки, регульовані ендогенним прогестероном і його рецепторами. Виявлено, що підвищення синтезу прогестерону, як і індукція генів, що кодують синтез ПР у клітинах гранульози, передовуляторних фолікулів, є ключовою умовою для настання овуляції і подальшої лютеїнізації фолікулів у ссавців [12].

Окремі дані свідчать, що прогестерон контролює активність клітинного циклу клітин гранульози (через циклін-B1 і циклінзалежну кіназу інгібітора p27), споживання холестерину і його утилізацію (через експресію рецепторів ліпопротеїдів низької щільності), активність матричних металопротеїназ і їх інгібіторів [11].

Існує дві ізоформи ПР – А і В, з різною молекулярною масою і різними біологічними функціями. Експресія обох ізоформ ПР у клітинах гранульози мишей значно збільшується після гонадотропінового овуляторного сплеску і значно знижується після того, як гранульозні клітини піддаються лютеїнізації. Пік концентрації ПР виявляється тільки після гонадотропінової стимуляції. Співвідношення ізоформ А і В в оваріальній тканині дорівнює 2 : 1 [13]. Експресія ПР специфічна тільки для гранульозних клітин преовуляторних фолікулів і відсутня в недиференційованих гранульозних клітинах фолікулів, що ростуть. Не було виявлено експресії ПР в інших клітинних типах (жовтому тілі або фолікулах з ознаками апоптозу). Блокування обох типів ПР у клітинах гранульози передовуляторних фолікулів різко пригнічує овуляцію [13, 14].

Зв'язок між експресією ПР і процесами апоптозу у фолікулярному епітелії вивчався авторами [16]. Ними була виявлена зміна апоптозної сприйнятливості клітин після овуляторного фолікулолютеального переходу. Статеві стероїди є важливими регуляторами виживання фолікулярних клітин і їх апоптозу. Виявлено збільшення експресії мРНК ПР і зменшення на 47 % ( $p < 0,01$ ) ДНК-фрагментації в клітинах гранульози через 24 год після гонадотропінової стимуляції. При додаванні в інкубаційне середовище антагоністів ПР (Org31710 або RU486) у клітинах гранульози збільшується активність каспази-3 і ДНК-фрагментації. У клітинах гранульози незрілих щурів блокування ПР не викликало збільшення ДНК-фрагментації. На думку авторів [15], у ЛГ-стимулюючих гранульозних клітинах преовуляторних фолікулів через ПР опосередковуються процеси, залучені в регуляцію сприйнятливості клітин до апоптозу. На думку авторів [16], індукція експресії ПР, що відбувається після овуляторного викиду лютеїнізуючих гормонів (ЛГ), необхідна для виходу клітин гранульози із циклів клітинного поділу і набуття ними стійкості до апоптозу. В процесі дозрівання фолікула, до появи ПР, апоптотичну стійкість клітини

гранульози, що активно діляться, набувають завдяки інсуліноподібному фактору зростання [16].

Миші, у яких відсутній ген, відповідальний за ПР, демонструють стійку ановуляцію. Проте остаточно не відомі регуляторні механізми овуляції, які опосередковуються через ПР. Так, автори [12] виявили, що антагоністи ПР пригнічують синтез ендотеліну-2 (Е-2) сильної вазоактивної молекули. Рівень мРНК Е-2 короточасно індукується безпосередньо перед овуляцією в передовуляторних фолікулах. Ця індукція відсутня в яєчниках ПР(0) мишей і вказує на роль рецепторів у синтезі Е-2. Експресія рецепторів Е-2 стабільно спостерігалася в клітинах гранульози преовуляторних фолікулів, а також у капілярах внутрішньої теки. Автори [12], використовуючи селективний антагоніст рецепторів Е-2, продемонстрували більш ніж у 85 % випадків відсутність овуляції і, таким чином, довели можливий шлях регуляції овуляторного процесу через ПР клітин гранульози і вплив на синтез Е-2, який, у свою чергу, через специфічні Е-2-рецептори клітин гранульози і капілярів внутрішньої теки призводить до розриву передовуляторного фолікула.

Автори [14], вивчаючи генно-модифікованих мишей, у яких відсутня експресія генів ПР, не виявили змін активності матричних металопротеїназ (ММП), як у контрольних тварин. На відміну від ферментної системи ММП, ДАМТФ-1 (дезінтегрин-А-металопротеїназа з тромбосподинподібним фрагментом) і катепсин Л (лізосомальна цистеїнова протеаза) є транскрипційними мішенями, що активуються через ПР. Індукція ДАМТФ-1 відбувається після овуляторного піка ЛГ в гранульозних клітинах преовуляторних фолікулів і залежить від рівня клітинної експресії ПР. Катепсин Л індукується в гранульозних клітинах фолікулів, що ростуть, за допомогою фолікуло-стимулювального гормону, але максимальні рівні експресії мРНК катепсину Л спостерігаються в преовуляторних фолікулах у відповідь на пік ЛГ у плазмі крові і також залежать від рівня експресії ПР. На думку авторів [14], передовуляторна експресія клітинами гранульози ДАМТФ-1 і катепсину Л, опосередкована ПР, – ключова ланка овуляторного каскаду, що забезпечує ефективну овуляцію.

Інтраоваріальний прогестерон бере участь в регуляції кінінової активності впродовж оваріального циклу. Автори [17] довели, що

активність кінінтвірного ензиму калікреїну підвищується в яєчниках перед овуляцією. Застосування антипрогестерону RU486 значно не впливало на активність оваріального калікреїну в передовуляторному періоді. Загальний рівень оваріального кініногену у контрольних тварин після короточасного зниження починає поступово зростати в постовуляторному періоді. Введення RU486 значно не впливало на підвищення рівнів загального оваріального кініногену в період овуляції, проте в постовуляторному періоді у тварин, яким вводили RU486, спостерігалось значне зростання рівня тотального оваріального кініногену, на відміну від контрольної групи. Активована антипрогестероном RU486 тотальна активність кініногенів здійснюється в основному внаслідок підвищення активності Т-кініногену – потужного інгібітора цистеїнових протеаз. Одержані дані свідчать, що ендогенний прогестерон не регулює калікреїнову активність або кініногени до овуляції, але може стримувати кініногенну активність на рівні Т-кініногену в постовуляторному яєчнику [17].

Оваріальний естрадіол відіграє ключову роль в регуляції синтезу і секреції гонадотропінів гіпоталамо-гіпофізарним комплексом. Крім того, широко відомі такі пара/автокринні ефекти естрогену, як збільшення маси яєчників, стимуляція зростання клітин гранульози, посилення дії ФСГ, ослаблення апоптозу. Естрогенові рецептори  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) присутні в усіх трьох компонентах гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничової осі (гіпоталамус, гіпофіз, яєчники). Рецептори естрогенів  $\beta$  (ER $\beta$ ) у надлишку експресуються в клітинах гранульози яєчників, і дуже слабка експресія цих рецепторів, аж до повної відсутності, знайдена в гіпофізі дорослих мишей. Ця різна експресія двох ізоформ ER, очевидно, пов'язана з індивідуальною роллю кожного з них в регуляції оваріального циклу [8].

Автори [8] продемонстрували, що дефіцит або відсутність ER $\alpha$  в гіпоталамо-гіпофізарному комплексі призводять до хронічного підвищення рівня ЛГ у плазмі крові, що стає причиною ановуляції, полікістозу і формування геморагічних кіст яєчників. Крім того, оваріальні моделі ER $\alpha$ (0) фенотипу додатково демонструють нестачу утворення жовтих тіл, інтерстиціальну/стромальну гіперплазію, збільшення експресії ER $\beta$ -рецепторів у клітинах гранульози фолікулів, підвищення рівнів естрадіолу і тестостерону в плазмі крові.

Тривале застосування антагоністів ГнРГ знижує рівень ЛГ у плазмі і запобігає розвитку полікістозу яєчників у мишей лінії ER $\alpha$ (0). Згідно з даними [8], усі ER $\alpha$ (0) самки безплідні, тоді як у ER $\beta$ (0) самок спостерігався різний ступінь субфертильності. Фолікулогенез у мишей обох ліній не порушується до стадії великого антрального фолікула, після чого у мишей з відсутністю ER $\beta$  подальшого розвитку фолікула не відбувається [7]. Передчасний фолікулярний розвиток у препубертатному віці спостерігається у ER $\alpha$ (0) мишей. Екзогенне введення гонадотропінів у ER $\alpha$ (0) тварин викликає формування значної кількості преовуляторних фолікулів, з яких більшість не овулюють. У тварин ER $\alpha$ (0) і ER $\beta$ (0) ліній, як в умовах гонадотропінової стимуляції, так і без неї, спостерігалось надмірне формування геморагічних оваріальних кіст. На підставі одержаних даних автори роблять висновки, що ER $\beta$  опосередковують стимулювальний ефект естрогенів на проліферацію клітин гранульози передовуляторних фолікулів, а ER $\alpha$  не є обов'язковими в процесі фолікулярного зростання, тоді як їх наявність обов'язкова для здійснення ефективної овуляції. Клітини гранульози мишей, у яких відсутні обидва види ER в атретичних фолікулах, трансформуються в андрогенпродукуючі клітини, що нагадують тестикулярні клітини Сертолі [7].

У зв'язку із виявленням значним підвищенням у ER $\alpha$ (0) генно-модифікованих мишей експресії ER $\beta$  в клітинах гранульози автори [8] припустили, що фенотипічні ознаки ЛГ-гіперстимуляції пов'язані з молекулярними автокринно-паракринними механізмами, які опосередковуються через  $\beta$ -рецептори естрогенів. Автори вивели генетичну лінію самок, у яких спостерігалася гіперсекреція ЛГ, але при цьому відсутні  $\beta$ -рецептори естрогенів. Утворення кістозних і геморагічних фолікулів в умовах гіперсекреції ЛГ відбувається при обов'язковій участі  $\beta$ -рецепторів естрогенів, оскільки за їх відсутності кістозної дегенерації яєчників в умовах гіперсекреції ЛГ не зафіксовано. Додатково у ER $\alpha$ (0) мишей спостерігалася ектопічна експресія ензиму, специфічного для клітин Лейдига (Hsd17b3), і синтез тестостерону за чоловічим типом, що, як вважають автори [8], є результатом відсутності в яєчниках експресії ER $\alpha$  в умовах підвищеної секреції ЛГ.

Вивчаючи генетичну лінію ER $\alpha$ (0) мишей, автори [9] також знайшли, що ці ген-

но-модифіковані тварини повністю безплідні, без додаткової екзогенної передовуляторної гонадотропінової стимуляції. На початку статевого розвитку самки ER $\alpha$ (0) мишей демонструють нормальний фолікулярний розвиток, але з початком репродуктивного періоду фолікули із стадії граафового міхурця не прогресують через овуляцію в жовте тіло, а піддаються кістозній трансформації з крововиливом у порожнину кісти [9]. Додаткове введення ЛГ викликало овуляцію у ER $\alpha$ (0) дорослих мишей, однак порівняно зі здоровою контрольною групою кількість фолікулів, що ефективно овулювали, з формуванням жовтого тіла з нормальною морфологією була знижена більш ніж у 2–3 рази [9, 10].

З метою з'ясування можливої причини зниження кількості овуляцій у ER $\alpha$ (0) мишей автори [10] вивчали рівень експресії мРНК деяких маркерів фолікулярного дозрівання і овуляції, включаючи ER $\beta$ , ЛГ-рецептори, циклін-D2, P<sub>450</sub>-бічний ланцюг розщеплювального ензиму, циклооксигеназу-2 і рецептори прогестерону. Не було виявлено якоїсь відмінності в експресії мРНК цих

ензимів під час режиму суперовуляції в яєчниках у ER $\alpha$ (0) і контрольних мишей. Рівень прогестерону в плазмі безпосередньо перед овуляцією був трохи нижчим в групі ER $\alpha$ (0) тварин у порівнянні з контролем.

Таким чином, згідно з результатами описаних досліджень, непорушена фізіологічна експресія  $\alpha$ - і  $\beta$ -рецепторів естрадіолу в клітинах гранулози забезпечує зростання й дозрівання преовуляторного фолікула, а ендогенний прогестерон і його рецептори в яєчниках ссавців є частиною фізіологічного овуляторного каскаду. Вивчення особливостей експресії інтраоваріальних стероїдних рецепторів при різних патологічних станах, пов'язаних з порушенням процесів яєчничкового циклу у жінок (ановуляторна безплідність, внутрішньоорганні й інтраабдомінальні яєчникові крововиливи, пухлиноподібні процеси яєчників, синдром полікістозних яєчників), сприятиме не тільки розумінню етіопатогенезу вказаної оваріальної патології, але й дозволить патогенетично обґрунтовано вирішити проблему лікування і профілактики цієї досить поширеної гінекологічної патології.

### Література

1. Запорожан В.М., Цегельський М.Р. Гінекологічна патологія: Атлас: навч. посібник. Одеса: Одеськ. держ. мед. ун-т, 2002. 308 с.
2. Сенчук А.Я., Венцовский Б.М., Коноваленко И.В., Гичка С.Г. Физиология репродуктивной системы. К.: Интермед, 2005: 103.
3. Кэтайл В.М., Арки Р.А. Патопфизиология эндокринной системы. Пер. с англ. СПб.–М.: Невский диалект – БИНОМ, 2001: 336.
4. Вихляева Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии: Монография. М.: Мед. информ. агентство, 2006. 784 с.
5. Drummond A.E. The role of steroids in follicular growth. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2006; 10, 4: 16.
6. Репродуктивная эндокринология. В 2-х т. Пер. с англ. Под ред. С.С.К. Йена, Р.Б. Джаффе. М.: Медицина, 1998. Т. 1. 704 с.; Т. 2. 654 с.
7. Dupont S., Krust A., Gansmuller A. et al. Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta) on mouse reproductive phenotypes. *Development* 2000; 127 (19): 4277–91.
8. Couse J.F., Yates M.M., Sanford R. et al. Formation of cystic ovarian follicles associated with elevated luteinizing hormone requires estrogen receptor-beta. *Endocrinol.* 2004; 145 (10): 4693–702.
9. Rosenfeld C.S., Murray A.A., Simmer G. et al. Gonadotropin induction of ovulation and corpus luteum formation in young estrogen receptor-alpha knockout mice. *Biol. Reprod.* 2000; 62 (3): 599–605.
10. Couse J.F., Bunch D.O., Lindzey J. et al. Prevention of the polycystic ovarian phenotype and characterization of ovulatory capacity in the estrogen receptor-alpha knockout mouse. *Endocrinol.* 1999; 140 (12): 5855–65.
11. Stouffer R.L., Xu F., Duffy D.M. Molecular control of ovulation and luteinization in the primate follicle. *Front. Biosci.* 2007; 12: 297–307.
12. Palanisamy G.S., Cheon Y.P., Kim J. et al. A novel pathway involving progesterone receptor, endothelin-2, and endothelin receptor B controls ovulation in mice. *Mol. Endocrinol.* 2006; 20 (11): 2784–95.
13. Shao R., Markström E., Friberg P.A. et al. Expression of progesterone receptor (PR) A and B isoforms in mouse granulosa cells: stage-dependent PR-mediated regulation of apoptosis and cell proliferation. *Biol. Reprod.* 2003; 68 (3): 914–921.
14. Robker R.L., Russell D.L., Espey L.L. et al. Progesterone-regulated genes in the ovulation process: ADAMTS-1 and cathepsin L proteases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 25, 97 (9): 4689–94.

15. Svensson E.C., Markström E., Andersson M., Billig H. Progesterone receptor-mediated inhibition of apoptosis in granulosa cells isolated from rats treated with human chorionic gonadotropin. *Biol. Reprod.* 2000; 63 (5): 1457–64.

16. Quirk S.M., Cowan R.G., Harman R.M. et al. Ovarian follicular growth and atresia: the relationship between cell proliferation and survival. *J. Anim. Sci.* 2004; 8: E40–52.

17. Brann D.W., Greenbaum L.M., Mahesh V.B., Gao X. Activation of the kinin system in the ovary during ovulation: role of endogenous progesterone. *BMC Physiol.* 2002; 29, 2: 7.

#### РОЛЬ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ В ПРОЦЕССАХ ОВАРИАЛЬНОГО ЦИКЛА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

*И.З. Гладчук, В.А. Сытнікова, О.Я. Назаренко*

Изложены современные взгляды на роль половых стероидов и их рецепторов в регуляции процессов овариального цикла в норме и при некоторых патологических состояниях. Синтезируемые в яичнике стероидные гормоны (прогестерон, андрогены, эстроген) оказывают системное эндокринное влияние на органы-мишени репродуктивной системы и, кроме того, являются мощными ауто-, пара- и интракринными регуляторами процессов роста и атрезии фолликулов, овуляции, формирования и регрессии жёлтого тела. Регулирующее действие на процессы овариального цикла стероидные гормоны осуществляют через специфические ядерные рецепторы. Изучение особенностей экспрессии интраовариальных стероидных рецепторов при различных патологических состояниях, связанных с нарушением процессов яичникового цикла у женщин, будет способствовать пониманию этиопатогенеза ановуляторного бесплодия, формирования функциональных кист яичников, апоплексии яичника, а также позволит патогенетически обоснованно разрешить проблему лечения и профилактики этой достаточно распространённой гинекологической патологии.

**Ключевые слова:** яичники, половые стероидные гормоны, рецепторы стероидных гормонов, апоплексия яичника, ановуляторное бесплодие, овуляция.

#### SEXUAL STEROID ROLE NORMAL AND PATHOLOGICAL OVARIAN CYCLE PROCESSES

*I.Z. Gladchuk, V.A. Sytnikova, O.Ya. Nazarenko*

Article deals with the contemporary views on the sexual steroids and their receptors role in normal and pathological ovarian cycle processes regulation. Ovarian steroid hormones (progesterone, androgens, estrogens) additionally to their endocrine influence on the reproductive system targetorgans are powerful auto-, para- and intracrine regulators of follicles growth and athresia and yellow body both formation and regression. Specific nuclear receptors participated in ovarian cycle processes regulation. The investigation of features of intraovarian steroid receptors expression at different pathologies connected with ovarian cycle processes disturbances will be logical anovulatory fruitlessness etiopathogenesis, both ovaries functional cysts and ovarian apoplexy development. These studies allow to perform the pathogenetical treatment of the named widespread gynecological pathology.

**Key words:** ovaries, sexual steroid hormones, steroid hormones receptors, ovarian apoplexy, anovulatory fruitlessness, ovulation.

Поступила 12.10.09

## ХІРУРГІЯ

ОСОБЕННОСТИ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ  
С КОМПРЕССИОННЫМ СИНДРОМОМ СРЕДОСТЕНИЯ,  
ОБУСЛОВЛЕННЫМ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ СРЕДОСТЕНИЯ

*А.Г. Краснояружский, Е.В. Панченко, А.Ю. Гаврилов,  
А.В. Токарев\*, К.Н. Смоляник\**

*Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины, г. Харьков  
\* Харьковский национальный медицинский университет*

Приведены результаты рентгенологических методов исследования у 334 больных, находившихся на лечении в клинике Института с 1992 по 2007 г. Выделены основные направления рентгенологических методов исследования органов и непосредственно самих новообразований средостения для пациентов с компрессионным синдромом средостения. Высокая информативность рентгенологических методов в оценке пространственности опухолевого процесса позволяет использовать их как на начальных этапах диагностики, так и на всём протяжении лечебного процесса.

**Ключевые слова:** компрессионный синдром средостения, новообразования средостения, эффективность методов.

Новообразования средостения (НС) представляют собой разнородную по происхождению и гистологическому строению группу опухолей и кист, объединённых локализацией в одной топографо-анатомической зоне [1–4]. Диагностика НС до настоящего времени является неразрешённой проблемой. Причин тому много, среди них длительное, бессимптомное течение многих форм новообразований, малая информативность традиционных методов в установлении соотношения опухолей с окружающими полыми органами, крупными артериями и венозными сосудами, идентичность клинических рентгенологических симптомов. Существует множество методов исследования больных с опухолями и кистами средостения [2, 5, 6], однако рентгенологические методы были и остаются основными при диагностике патологических образований средостения. Следует подчеркнуть, что интерес к стандартным рентгенологическим методикам исследования средостения – многопроекционной рентгеноскопии, рентгенографии, флюорографии, томографии, не ослабевает [1, 2, 7]. К сожалению, до настоящего времени не выделены основ-

ные из них, особенно касающиеся органов средостения и непосредственно самих НС у пациентов с компрессионным синдромом средостения (КСС). Во многих лечебных учреждениях при решении вопросов о возможности и объёме оперативного вмешательства при НС используют такие информативные методы, как рентгеновская спиральная компьютерная томография (СКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и др. Многочисленность и разнообразие дополнительных рентгенологических и инструментальных методов исследования при диагностике и лечении различных НС диктуют необходимость их систематизации, выработки показаний к применению каждого из них.

Целью работы было выявить основные особенности рентгенологических методов исследования органов средостения и непосредственно самих НС у пациентов с КСС.

**Материал и методы.** Изучали результаты рентгенологических методов исследования 334 больных с КСС, обусловленным НС, находившихся на лечении в клинике Института общей и неотложной хирургии с 1992 по 2007 г. Всем больным как на этапе диагностики, так и на различных этапах ле-

чения было выполнено то или иное рентгенологическое исследование. В каждом конкретном случае составлялся план обследования больного с учётом клинических проявлений заболевания, вида опухоли и отношения её к окружающим органам средостения. При выборе метода рентгенологического обследования руководствовались тремя общепризнанными принципами:

- 1) от простого к сложному;
- 2) выбранный метод в каждом конкретном случае позволяет выявить дополнительные, не установленные ранее признаки;
- 3) оптимальная лучевая нагрузка.

Нами, как и многими авторами, при широком внедрении в клинику новейших методов исследования – СКТ, МРТ и др., рекомендовано придерживаться двухэтапного обследования больного с КСС [2, 8–10].

Первый этап является обязательным для всех больных и предусматривает применение рутинных, общих методов: полипроекционную рентгеноскопию, рентгенографию, прицельных суперэкспонированных рентгенограмм, томографию. На втором этапе используются разнообразные дополнительные методы клинико-рентгенологического исследования. Выбор дополнительного метода определяется его диагностическими возможностями и данными, полученными на первом этапе. Это различные газо- и вазоконтрастные исследования, контрастирование пищевода, а также СКТ.

Многоосевая многопроекционная рентгеноскопия, с которой мы начинали обследование больных с КСС, позволяла определить локализацию патологической тени в средостении соответственно схеме его деления, её связь с соседними органами и тканями (трахеей, пищеводом, лёгкими, диафрагмой, грудной стенкой), форму и размеры опухоли, интенсивность тени, контуры, подвижность, смещение при глубоком дыхании, кашле, глотании. В большинстве случаев удавалось установить наличие или отсутствие пульсации стенок НС и до некоторой степени даже гистологический характер (доброкачественные, злокачественные), степень операбельности.

Данные полипозиционной рентгеноскопии, при которой наиболее полно выявляются характерные симптомы НС, фиксировались, а затем анализировались рентгенограммы в различных проекциях. Немаловажная роль в уточнении структуры патологической тени придавалась нами, как и некоторыми клиницистами, суперэкспониро-

ванной рентгенографии – прицельным снимкам [2].

При диагностике злокачественных НС, определении их операбельности предпочтение было отдано такому вазоконтрастному методу исследования, как медиастинальная флебография – определение состояния крупных вен средостения – плечеголовной, непарной, верхней полой. При введении контрастного вещества использовали различные крупные венозные сосуды. Ангиопульмонографию использовали для дифференциальной диагностики опухолей, расположенных в латеральных отделах средостения, и внутрилёгочных опухолей, а также для изучения или подтверждения пролиферации опухолью магистральных сосудов средостения и лёгких.

Контрастное исследование пищевода при НС использовали для уточнения локализации внутригрудного зоба, определения характера его опухолевого процесса (злокачественное или доброкачественное образование) и при неврогенных опухолях заднего средостения, саркоидозе Бека, туберкуломах, когда поражались верхняя или нижняя группа трахеобронхиальных лимфатических узлов.

В ряде случаев для уточнения диагностики опухолевидных образований средостения использовали СКТ и МРТ как самостоятельные исследования, так и в комбинации с селективной пневмомедиастенографией или ангиографией [11–14].

**Результаты и их обсуждение.** Анализ различных рентгенологических методов исследования больных с КСС, обусловленным НС, показал, что многоосевая рентгеноскопия, флюорография, фасные и профильные рентгенограммы и томограммы являются обязательными. Они дают основные сведения о локализации (96 %) опухолей и кист, их контурах (87 %) и структуре (58 %) средостения. Однако эти традиционные методы дают лишь общую характеристику НС, являются недостаточными для определения злокачественности или доброкачественности опухоли, инвазии её в соседние органы, а следовательно, и для разработки тактики дальнейшего лечения. Так, только у 53 % больных на основании рентгенограмм и томограмм удалось установить диагноз заболевания или неоперабельность процесса. В остальных случаях для уточнения диагноза приходилось пользоваться одним или двумя вспомогательными методами рентгенологического обследования, идя от приме-

нения простых к более сложным. Точность диагностики НС значительно возрастала при комплексном использовании различных рентгенологических методов, однако применение всего арсенала инвазивных и неинвазивных исследований у одного больного нецелесообразно. В каждом конкретном случае необходимо составлять индивидуальный план исследования, включающий минимальное число диагностических процедур, но обеспечивающий выработку верной тактики лечения.

Немаловажная роль в уточнении структуры патологической тени у пациентов с НС отводилась суперэкспонированной рентгенографии, при которой более чётко, чем на обычных рентгенограммах, выявляются контуры новообразования, его дольчатый или бугристый характер, указывающие на злокачественность процесса, плотные включения в опухоли или кисте, обызвествление её стенки (рис. 1).



Рис. 1. Суперэкспонированный рентгенологический снимок пациента с опухолью верхнего средостения

Для контрастирования крупных артериальных и венозных сосудов средостения, в том числе плечеголовных, непарной, верхней полых вен производилась селективная ангиография. Наши клинические наблюдения показали, что при селективной медиастинальной флебографии в большинстве случаев удаётся получить хорошее изображение плечеголовных и верхней полых вен и определить распространённость опухолевого процесса на различные крупные веноз-

ные сосуды средостения, что имеет важное значение для определения характера новообразования и разработки тактики лечения. Симптомами, которые при каваграфии указывают на злокачественный характер новообразования средостения и вовлечения верхней полых вен в опухолевый процесс, являются неравномерное и циркулярное сужение исследуемых сосудов с узурированными краями (рис. 2), дефекты их наполнения, симптомы ампутации сосуда, развитая сеть внутригрудных венозных коллатералей.

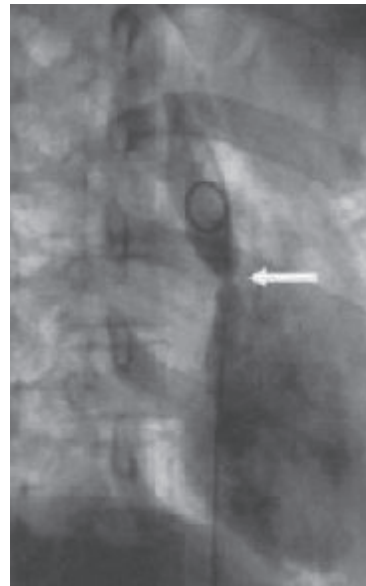


Рис. 2. Селективная медиастинальная флебография пациентов с новообразованиями средостения с вовлечением в опухолевый процесс верхней полых вен. Стрелкой указано неравномерное и циркулярное сужение верхней полых вен с узурированными краями

Анализ оперативных вмешательств показал, что верхняя полая вена задолго до появления синдрома её сдавления вовлекается в патологический процесс. Поэтому каваграфия показана не только больным с проявлениями кавасиндрома, но и с большими злокачественными тимомами, часть которых располагается в проекции верхней полых вен.

Что касается ангиопульмонографии, то она использовалась нами для дифференциальной диагностики опухолей, расположенных в латеральных отделах средостения и внутрилёгочных опухолей, вовлечения в патологический процесс опухолью крупных артериальных и венозных сосудов средостения и лёгких. Симптомами, указывающими на злокачественность новообразования, инфильтрацию или прорастание его в лёгоч-

ную ткань, являлись понижение кровоснабжения лёгкого, выявление деформированных сосудов на фоне опухоли, а прорастание патологического образования в сосуды средостения – их циркулярное сужение, краевые дефекты, блок сосудов. Становится очевидным, что ангиография способствует установлению топографо-анатомического отношения между НС и сосудами средостения, степени распространённости патологического процесса и возможности его операбельности. Кроме того, нами путём ангиографии дифференцирована опухоль средостения от патологических изменений аорты и её крупных ветвей, в частности аневризм. В отличие от злокачественных опухолей при доброкачественных НС на ангиограммах (медиастинальная флебография, ангиопульмонография, аортография и др.) крупные артериальные и венозные сосуды, наряду с полыми органами, в некоторых случаях были смещены, сдавлены, но стенки их не деформированы. Краевые дефекты и узурация отсутствуют. На ангиопульмонограммах на фоне опухоли определялись сохранившиеся лёгочные сосуды.

При контрастном исследовании пищевода у пациентов с НС в области наибольшего соприкосновения с ним новообразования отмечалось значительное его смещение, сужение просвета (рис. 3). Выраженность изменений пищевода зависела от злокачественности или доброкачественности новообразования. При злокачественных опухолях, или вторичных воспалительных изме-



Рис. 3. Рентгенологический снимок при контрастном исследовании пищевода у пациента с новообразованием средостения

нениях, наблюдалось не только смещение просвета пищевода, но и его фиксация в средостении, неровности и зазубренности контуров. Обнаружение указанных изменений в пищеводе являлось абсолютным показанием для выполнения эзофагоскопии, при которой изучалось состояние слизистой оболочки, смещаемость пищевода, симптомы, которые являются решающими в установлении степени и характера вовлечения пищевода в опухолевый процесс.

Анализ данных, полученных при различных методах рентгенологических исследований пациентов с КСС, обусловленным НС, показал, что СКТ позволяет более точно определять биологический характер новообразования, его структуру, размеры, контуры, степень распространённости процесса, взаимоотношения опухоли с соседними полыми органами, крупными магистральными сосудами, изменёнными регионарными лимфоузлами. Чувствительность (возможность выявления патологических процессов) СКТ составила 88,3 %, точность (способность метода точно определять заболевание) – 80,3 % (рис. 4). Одним из недостатков метода является лучевая нагрузка для больного.

Более чувствительной, специфичной, точной (98, 84, 82 % соответственно) в диа-

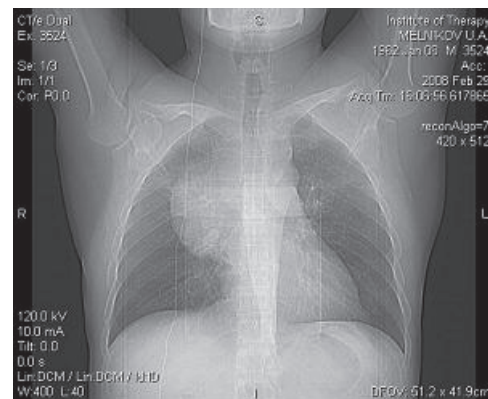


Рис. 4. Рентгеновская спиральная компьютерная томография пациента с тимосаркомой

гностике опухолевидных НС оказалась МРТ. Достоинством МРТ является и то, что она не связана с ионизирующим облучением. Кроме того, МРТ, в отличие от аксиальной КТ, позволяла получить изображение во всех плоскостях, что способствовало более точному определению распространения патологического процесса в средостении (рис. 5).

К сожалению, МРТ выявляет лимфоузлы средостения диаметром более 1,5 см,

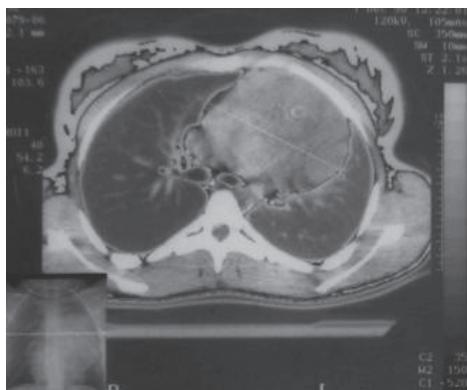


Рис. 5. Скан магнітно-резонансної томографії пацієнтки з тератомою переднього середостення

что, по нашим данным, совпадающим с данными [7, 8, 13], служит основанием подозревать опухолевое поражение. Диагностическая эффективность МРТ в выявлении метастатического поражения различных групп лимфатических узлов показана в таблице.

Возможность оценки лимфатических узлов в трёх плоскостях (в аксиальной и до-

образований вилочковой железы, располагаются в среднем средостении в верхней и средней её трети соответственно проекции перибронхиальных и передних медиастинальных лимфатических узлов.

В отличие от доброкачественных новообразований злокачественные процессы по отношению к средней линии средостения, как правило, имеют двустороннее распространение. При злокачественных опухолях вследствие множественного поражения лимфатических узлов в средостении определяются патологические тени с бугристыми, неровными, кулисоподобными контурами. Доброкачественные НС, в отличие от злокачественных, имеют овальную или округлую форму с правильно выпуклыми или волнистыми контурами. Чёткость контуров является малозначимым признаком для дифференциальной диагностики.

Таким образом, клиника располагает довольно большими диагностическими возможностями не только для распознавания

*Эффективность магнитно-резонансной томографии в выявлении метастатического поражения различных групп лимфатических узлов, %*

Группа лимфоузлов	Чувствительность	Специфичность	Точность	ПЦПР	ПЦОР
Бронхопульмональная	86,7	57,1	81,1	89,6	50,0
Трахеобронхиальная	79,3	57,1	75,0	88,5	40,0
Бифуркационная	80,9	50,0	76,0	89,5	33,3
Паратрахеальная	82,6	60,0	78,6	90,5	42,9
Аортолёгочная	81,0	60,0	76,9	89,4	42,9

*Примечание.* ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата.

полнительно во фронтальной и сагиттальной) позволила чётко дифференцироваться узлы аортального окна и рядом расположенные сосудистые структуры. Бифуркационная группа в этих же условиях была хорошо видна между левым предсердием и нижними стенками главных бронхов.

На основании полученных данных мы пришли к выводу, что применение МРТ более целесообразно использовать при локализации опухолевого процесса в заднем средостении, в верхнем и среднем его отделах, там, где в основном располагаются новообразования из нервной ткани; использование газоконтрастных исследований и КТ менее эффективно.

Анализ наших наблюдений и литературных данных показал следующее.

В большинстве случаев злокачественные опухоли, кроме большой группы ново-

опухолей и кист средостения, но и для проведения дифференциальной диагностики между злокачественными и доброкачественными новообразованиями.

### Выводы

1. Выделены основные направления рентгенологических методов исследования органов и непосредственно самих новообразований средостения для пациентов с компрессионным синдромом средостения.

2. Диагностика опухолей средостения должна осуществляться от простых, но информативных, легко доступных исследований к сложным.

3. Высокая информативность рентгенологических методов в оценке распространённости опухолевого процесса позволяет использовать их как на начальных этапах диагностики, так и на всём протяжении лечебного процесса.

4. Более информативными в определении злокачественности или доброкачественности патологического процесса в средостении, прорастания его в крупные магистральные

артериальные или венозные сосуды, поражения лимфоузлов является СКТ, которую лучше применять при локализации опухоли в переднем средостении, а МРТ – в заднем.

### Литература

1. Харченко В.П., Глаголев Н.А. Рентгеновская компьютерная томография в диагностике заболеваний легких и средостения. М.: Медика, 2005: 95–114.
2. Власов П.В. Комплексная лучевая диагностика объемных образований средостения. Ч. 2. Мед. визуализация 2005; 4: 90–104.
3. Duwe B.V., Sterman D.H., Musani A.I. Tumors of the mediastinum. Chest. 2005; 128, 4: 2893–909.
4. Hoerbelt R., Keunecke L., Grimm H. et al. The value of a noninvasive diagnostic approach to mediastinal masses. Ann. Thorac. Surg. 2003; 75, 4: 1086–90.
5. Тришин В.М., Оржековский О.В., Решетов А.В. и др. Диагностика и хирургическое лечение при новообразованиях средостения. Вестн. хирургии им. И.И. Грекова 2001; 1: 11–14.
6. Takeda S., Miyoshi S., Akashi A. et al. Clinical spectrum of primary mediastinal tumors: a comparison of adult and pediatric populations at a single Japanese institution. J. Surg. Oncol. 2003; 83, 1: 24–30.
7. Deslauriers J., Letourneau L., Giubilei G. Tumors and masses of mediastinum; Diagnostic strategies in mediastinal tumors and masses. Thoracic surgery. 2nd ed. Eds. F.G. Pearson. Philadelphia, 2002: 1655–73.
8. Стариков В.И., Белый А.Н. Сравнительная оценка КТ и МРТ в диагностике опухолей средостения: Сб. тез. II съезда онкологов стран СНГ «Онкология 2000». К., 2000: 538.
9. Стариков В.И., Белый А.Н., Майборода К.Ю. Возможности магнитно-резонансной томографии в диагностике опухолей средостения: Сб. тез. Междунар. научн. форума «Онкология на рубеже XXI века. Возможности и перспективы». М., 1999: 366–367.
10. Priola A.M., Priola S.M., Cardinale L. et al. The anterior mediastinum: diseases. Radiol. Med. (Torino) 2006; 111, 3: 312–342.
11. Wongsangiem M., Tangthangtham A. Primary tumors of the mediastinum: 190 cases analysis (1975–1995). J. Med. Assoc. Thai. 1996; 79, 11: 689–697.
12. Schiepers C., Filmom E. PET for staging of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. Eur. J. Nucl. Med. And Mol. Imag. 2003; 30 (suppl. 1): S82–S88.
13. Fredenberg L.S., Antoch G., Muller S.P. et al. Preliminary results of whole body FDGPET/CT in lymphoma. J. Nucl. Med. 2002; 43, 5: 30.
14. Магнитно-резонансная томография (руководство для врачей). Под ред. проф. Г.Е. Труфанова и В.А. Фокина. СПб.: Фолиант, 2007. 688 с.

### ОСОБЛИВОСТІ РЕНТГЕНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ХВОРИХ З КОМПРЕСІЙНИМ СИНДРОМОМ СЕРЕДОСТІННЯ, ОБУМОВЛЕНИМ НОВОУТВОРЕННЯМИ СЕРЕДОСТІННЯ

**А.Г. Краснояружський, Є.В. Панченко, А.Ю. Гаврилов, А.В. Токарев, К.М. Смолянник**

Наведено результати рентгенологічних методів дослідження 334 хворих, що знаходилися на лікуванні в клініці Інституту з 1992 по 2007 р. Виділено основні напрями рентгенологічних методів дослідження органів і безпосередньо самих новоутворень середостіння для пацієнтів з компресійним синдромом середостіння. Висока інформативність рентгенологічних методів в оцінці розповсюдження пухлинного процесу дозволяє використовувати їх як на початкових етапах діагностики, так і впродовж усього лікувального процесу.

**Ключові слова:** компресійний синдром середостіння, новоутворення середостіння, ефективність методів.

### SPECIAL RENTGENOLOGY METHODS OF DIAGNOSTIC AT PATIENTS WITH COMPRESSION SYNDROME OF MEDIASTINUM CAUSED, BY NEW GROWTHS OF MEDIASTINUM

**A.G. Krasnojaruzhsky, E.V. Panchenko, A.Yu. Gavrilov, A.V. Tokarev, K.N. Smolyanik**

In work findings results of rentgenology methods of diagnostic at 334 patients, being on treatment in the clinic of Institute from 1992 to 2007. Basic directions are selected in rentgenology methods of diagnostic organs and new growths of mediastinum for patients with compression syndrome of mediastinum. The high informing of rentgenology methods in the estimation of germination of malignisation process allows using these methods on the any sing stages of treatment process.

**Key words:** compression syndrome of mediastinum, new growths of mediastinum, effectiveness of methods.

Поступила 19.01.10

## УРОЛОГІЯ

ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ  
РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ  
З НЕПРОХІДНІСТЮ СІМ'ЯВИКИДАЮЧИХ ПРОТОК**В.М. Лісовий, М.Л. Панасовський, А.В. Аркатов, І.А. Гарагатий***Харківський національний медичний університет**Харківський обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала*

Наведені результати дослідження рівня пролактину і тестостерону у пацієнтів з обтурацією еякуляторних проток (ОЕП) і практично здорових чоловіків. Установлено, що у 22,3% пацієнтів з непрохідністю еякуляторних проток має місце прихований андрогенодефіцит, що характеризується зменшенням андрогенного індексу.

**Ключові слова:** чоловіче безпліддя, обтурація еякуляторних шляхів, андрогенний індекс, тестостерон.

Безплідність у шлюбі залишається однією з найактуальніших проблем сучасності. Основними причинами чоловічої безплідності, за даними різних авторів, може бути інфекція геніталій, ендокринна патологія, варикоцеле, генетичний фактор, обструктивна азооспермія, ідіопатична оліго-, астено-тератозооспермія. Істотна роль у структурі чоловічої інфертильності відводиться сексуальним і/або еякуляторним дисфункціям, імунологічному фактору, шкідливим екологічним (токсичним) впливам [1–3].

Метою даної роботи було дослідження ендокринних порушень, що супроводжують чоловічу безплідність, обумовлену обтурацією еякуляторних шляхів (ОЕП).

**Об'єкт і методи.** До дослідження було залучено 137 пацієнтів, які знаходилися на обстеженні і лікуванні в ХОКЦУН. Усіх пацієнтів розподілили на дві клінічні групи: основну – 103 пацієнти з чоловічим безпліддям, обумовленим наявністю ОЕП, і контрольну – 34 практично здорових чоловіки. За віковою структурою сформовані групи були порівнянними, а переважна більшість обстежених осіб виявилися в репродуктивному віці. Так у віці 31–40 років було 66 [(61,9±8,2) %] осіб в основній групі і 18 (52,9 %) – в контрольній. Старше 51 року виявився один чоловік (1,7 %) основної групи і 3 (8,8 %) – контрольної. Інші були віком

18–30 років. Середній вік пацієнтів склав (34,6±9,5) і (35,5±10,1) років відповідно.

Були досліджені наступні показники: рівень тропних гормонів гіпофізу, пролактину, тестостерону, андрогенний індекс (АІ). АІ обчислювали за формулою [4]

$$AI = T_{\text{зг}} / ГЗСГ \cdot 100 \%$$

**Результати і їх обговорення.** Вивчення показників тропних гормонів гіпофізу, пролактину, і тестостерону в сироватці крові у спостережуваних пацієнтів показало, що у хворих з ОЕП у цілому зберігався прийнятний рівень ендокринної регуляції репродуктивної функції, однак спостерігалися певні тенденції до дисбалансу у вмісті окремих регуляторних речовин у порівнянні зі здоровими особами (табл. 1).

Рівень загального тестостерону у пацієнтів з ОЕП у всіх випадках перевищував 12,0 нмоль/л або знаходився в межах норми для практично здорових осіб оптимального репродуктивного віку. Рівень ГЗСГ був підвищений у осіб з ОЕП у порівнянні з особами контрольної групи, однак через істотні індивідуальні варіації серед пацієнтів з ОЕП розходження показників не досягало рівня статистичної значущості ( $p=0,406483$ ). Така ж тенденція спостерігалася при розрахунку індексу вільних андрогенів. Середній показник АІ у пацієнтів з ОЕП стійко знаходився в межах нижньої границі норми – 70 % ( $p=0,085391$ ) [5,6]. Середня концент-

Таблиця 1. Гормональний профіль у пацієнтів з непрохідністю сім'явикидаючих проток ( $M \pm SD$ )

Показник	Клінічні групи	
	основна (n=103)	контрольна (n=34)
Т, нмоль/л	21,2±6,5	23,4±4,5
ГЗСГ, нмоль/л	27,1±9,2	21,3±3,9
АІ, %	84,3±19,8	110,8±11,5
ФСГ, мМО/мл	4,1±2,1	3,5±1,8
ЛГ, мМО/мл	5,1±3,9	4,4±1,7
ПЛ, мМО/мл	239,5±82,6	234,2±75,7

Примітки: 1. Т – тестостерон; ГЗСГ – глобулін, що зв'язує статеві гормони; АІ – андрогенний індекс; ФСГ – фолікулостимулюючий гормон; ЛГ – лютеїнізуючий гормон; ПЛ – пролактин.  
2.  $p > 0,05$ .

рація гонадотропинів виявилася трохи вищою в групах пацієнтів з ОЕП у порівнянні з особами контрольної групи, але в рамках статистичної похибки. Вищими у пацієнтів з ОЕП були і рівні фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів ( $p > 0,05$ ). Розходжень у вмісті пролактину не встановлено ( $p > 0,05$ ).

Виявлені особливості гормонального профілю у пацієнтів з ОЕП, з одного боку, підтверджують вторинний (придбаний) характер генезу непрохідності сім'явикидаючих проток, з іншого – вказують, що при цій патології існує схильність до поступового гноблення функції сім'яників і формування андрогенного дефіциту, підтвердженням чого є більш низький середній показник АІ. Так, серед усіх пацієнтів з ОЕП практично в кожному п'ятому спостереженні (22,5 %) АІ виявився нижче 70,0 %, що вказує на відносний андрогенний дефіцит, незважаючи на нормальний рівень загального тестостерону в крові. У контрольній групі осіб з АІ нижче за 70,0 % не виявилось.

Цілком логічно припустити, що ступінь пригнічення гормональної регуляції репродуктивної функції пропорційний часу, що пройшов від моменту обструкції, але, не маючи точних відомостей про це (у абсолютного числа обстежених осіб аспермія була виявлена випадково), неможливо підтвердити або відкинути дане припущення.

У цьому зв'язку нами проаналізована залежність частоти зниження АІ (< 70,0 %) від віку пацієнтів, наявності вагітностей у статевих партнерок в анамнезі, а також перенесених раніше запальних захворювань репродуктивного тракту. Так, серед всіх пацієнтів з ОЕП виявилось 22 (21,4 %) особи старше 40 років, причому в 15 (68,2 %) з них АІ був нижче за 70,0 %, що склало 65,2 % від всіх чоловіків з низьким АІ (табл. 2).

Аналіз, проведений з використанням методу  $\chi^2$  (табл. 3), підтвердив, що у чоловіків з ОЕП старше 40 років частота зниження АІ зростає з високим ступенем вірогідності ( $\chi^2 = 34,05$ ;  $p < 0,001$ ).

Серед пацієнтів з ОЕП (n=95), які мали дітей у зареєстрованому шлюбі або вказували на виникнення вагітності у статевих партнерок у минулому, низький АІ виявлено у 18 (18,9 %), а серед осіб, що не відзначали виникнення гестацій в анамнезі, – у 5 (62,5 %);  $\chi^2 = 7,96$ ;  $p < 0,005$ . Подібну відмінність відмічено і у осіб, що раніше перенесли орхіт й/або епідидиміт – у 10 випадках. Серед них частота низького АІ була в 2,6 раза вищою, ніж у цілому у хворих з ОЕП – 50,0 % проти 19,4 % відповідно ( $\chi^2 = 5,06$ ;  $p < 0,025$ ).

Разом з тим, нами не встановлено достовірної залежності частоти зниження АІ у пацієнтів за наявності простатиту в анамнезі, незважаючи на те, що серед всіх осіб з низьким АІ (23) 17 (73,9 %) відзначали перенесе-

Таблиця 2. Андрогенний індекс у пацієнтів з непрохідністю сім'явикидаючих проток залежно від віку

Вік, років	АІ >70,0 %		АІ <70,0 %		Усього	
	n	%	n	%	n	%
>40	7	31,8	15	68,2	22	100,0
<40	73	90,1	8	9,9	81	100,0

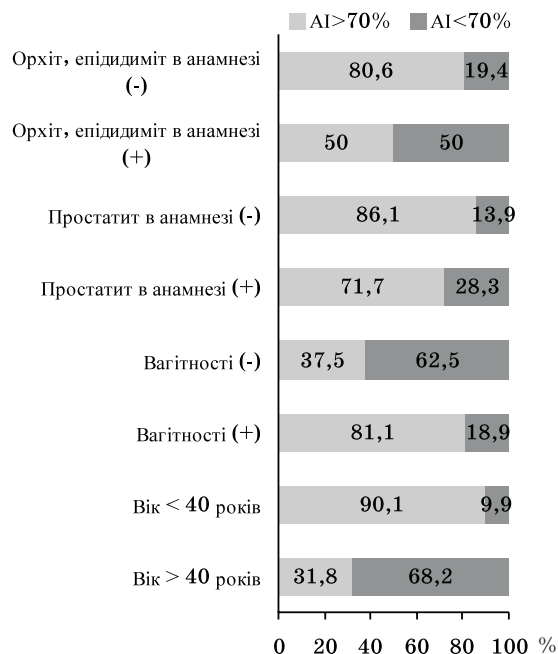
Таблиця 3. Аналіз окремих факторів частоти зниження АІ у пацієнтів з обтурацією еякуляторних проток з використанням критерію  $\chi^2$ 

Фактор	АІ, %	Частота випадків	Теоретичні частоти Т	(Е-Т) <sup>2</sup> /Т
Вік >40 років	>70,0	7	17,1	5,97
	<70,0	15	4,9	20,82
Вік <40 років	>70,0	73	62,9	1,62
	<70,0	8	18,1	5,64
$\chi^2 = 34,05; p < 0,001$				
Вагітність наявна	>70,0	77	73,8	0,14
	<70,0	18	21,2	0,48
Вагітність відсутня	>70,0	3	6,2	1,65
	<70,0	5	1,8	5,69
$\chi^2 = 7,96; p < 0,005$				
Простатит – є	>70,0	43	46,6	0,28
	<70,0	17	13,4	0,97
Простатит – немає	>70,0	37	33,4	0,39
	<70,0	6	9,6	1,35
$\chi^2 = 2,99; p > 0,05$				
Орхіт, епідидиміт – є	>70,0	5	7,8	1,01
	<70,0	5	2,2	3,56
Орхіт, епідидиміт – немає	>70,0	75	72,2	0,11
	<70,0	18	20,8	0,38
$\chi^2 = 5,06; p < 0,025$				

*Примітка.* Враховували наявність дітей у зареєстрованому шлюбі, а також виникнення вагітностей у минулому (у тому числі штучні аборти, викиди, пологи) зі слів пацієнтів.

ний у минулому запальний процес передміхурової залози. Поширеність простатиту у пацієнтів з ОЕП виявилася досить значною, з них лише у 28,3 % АІ був зниженим, а в 71,6 % спостережень він був у межах норми ( $\chi^2 = 2,99; p > 0,05$ ). Отримане значення  $\chi^2$  виявилось менше за критичне, тобто приймається нульова гіпотеза, із чого виходить, що факт перенесеного раніше простатиту не впливає на частоту зниження АІ у пацієнтів з ОЕП. Частота випадків низького АІ в залежності від віку пацієнтів з ОЕП і клініко-анамнестичних особливостей наведена на рисунку.

Зменшення АІ при відповідній нормі рівнів загального Т на тлі зростання концентрації ГЗСГ можна трактувати як прихований або відносний андрогенодефіцит, що має місце у 23 (22,3 %) пацієнтів з ОЕП. У його генезі відіграють роль вікові зміни, перенесені раніше запальні захворювання органів статеві сфери, а також термін існування непрохідності сім'явикладаючих проток, на що побічно вказує аналіз реалізації репродуктивної функції в минулому.



Частота зниження АІ у пацієнтів з обтурацією еякуляторних проток в залежності від віку і окремих клініко-анамнестичних особливостей

Разом з тим, ми не схильні переоцінювати значущість отриманих даних, особливо тих, що характеризують ферментативну активність еякуляту у пацієнтів ОЕП. Варто враховувати складність і багатогранність біохімічних процесів, що відбуваються в організмі при порушеннях гомеостатичного балансу, які інтегрують різні патологічні механізми, що не можуть піддаватися однозначному трактуванню.

Зниження активності основних досліджених ферментів у зразках сім'яної рідини, отриманої у чоловіків з ОЕП, свідчить про пригнотований метаболічний стан еякуляту при відсутності секрету сім'яних пухирців і сперматозоїдів, а посилення фосфатазної активності – про підвищення функціональної активності передміхурової залози.

### Література

1. *Возианов А.Ф., Горпинченко И.И.* Эректильная дисфункция: диагностика и современные методы лечения. Сексология и андрология 2002; 6: 3–6.
2. *Громенко Д.С., Громенко Ю.Ю.* Лечение идиопатического мужского бесплодия у пациентов с эректильными расстройствами. Врачебное сословие 2006; 7: 37–40.
3. *Нуриманов К.Р.* Клинико-лабораторная характеристика мужского бесплодия при азооспермии. Здоровье мужчины 2004; 4 (11): 139–140.
4. *Аляев Ю.Г., Григорян В.А., Чалый М.Е.* Нарушение половой и репродуктивной функции у мужчин. М.: Литтерра, 2006. 188 с.
5. *Дедов И.И., Калиниченко С.Ю.* Возрастной андрогендефицит: патогенез, диагностика и результаты лечения. М.: Практик. медицина, 2006. 240 с.
6. *Bonde J., Storgaard L.* How work-place conditions, environmental toxicants and lifestyle affect male reproductive function. Int. J. Androl. 2002; 25: 262–268.
7. *Figa-Talamanca I., Traina M., Urbani E.* Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. Occup. Med. 2001; 51: 174–188.

### ОСОБЕННОСТИ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕПРОХОДИМОСТЬЮ СЕМЯВЫБРАСЫВАЮЩИХ ПРОТОКОВ

**В.Н. Лесовой, Н.Л. Панасовский, А.В. Аркатов, И.А. Гарагатий**

Приведены результаты исследования уровня пролактина и тестостерона у пациентов с непроходимостью семявыбрасывающих протоков и практически здоровых мужчин. Установлено, что у 22,3 % пациентов с непроходимостью семявыбрасывающих протоков имеет место скрытый дефицит андрогенов, что характеризуется снижением андрогенного индекса.

**Ключевые слова:** мужское бесплодие, непроходимость семявыбрасывающих протоков, андрогенный индекс, тестостерон.

### THE PECULIARITIES OF HORMONAL REGULATION OF REPRODUCTION FUNCTION IN PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA

**V.M. Lesovoy, M.L. Panasovskiy, A.V. Arkatov, I.A. Garagatiy**

The results of the investigation of the prolactine and testosterone levels in patients with obstructive azoospermia and healthy men of reproductive age are presented in the article. In 22,3 % of patients the low level of androgens index was found.

**Key words:** male infertility, obstructive azoospermia, testosterone, androgenic index.

Поступила 19.01.10

## ЮВІЛЕЙ

ІСТОРИЧНІ АСПЕКТИ НАУКОВОЇ, ПРАКТИЧНОЇ  
І ПЕДАГОГІЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ  
ХАРКІВСЬКОЇ ЕПІДЕМІОЛОГІЧНОЇ ШКОЛИ  
(ДО 80-РІЧЧЯ ЗАСНУВАННЯ КАФЕДРИ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ХНМУ)

*О.М. Карабан, Т.О. Чумаченко, Г.І. Падалка*

*Харківський національний медичний університет*

Епідемічне розповсюдження холери, висипного тифу, дизентерії й інших інфекцій в 20-х – 30-х роках минулого сторіччя потребувало підготовки кваліфікованих кадрів, які могли б проводити роботу зі зниження інфекційної захворюваності. Зусиль першої в Україні кафедри епідеміології, яка була створена видатним вченим Д.К. Заболотним в Одеському медичному інституті в 1920 р., було недостатньо, тому в 1930 р. учень Д.К. Заболотного М.М. Соловйов, використовуючи досвід організації кафедри епідеміології в Одесі, заснував кафедру епідеміології в Харківському медичному інституті, якою беззмінно керував до 1969 р.

Основними напрямками діяльності кафедри була підготовка кадрів для санітарно-епідеміологічної служби, яка тільки почала формуватися, наукові дослідження з епідеміології інфекційних хвороб і розробка заходів зі зниження інфекційної захворюваності.

Засновник кафедри академік АМН СРСР професор, доктор медичних наук Михайло Миколайович Соловйов зробив великий внесок в розробку теорії епідеміології, вчення про безперервно-переривчастий епідемічний процес, вказав на роль соціальних факторів у розвитку епідемічного процесу. Наукові інтереси вченого стосувалися проблем епідеміології і профілактики холери, дизентерії, паратифу, дифтерії й інших інфекцій. М.М. Соловйов показав епідеміологічну роль носіїв холерного вібриона у виникненні захворюваності на холеру і розробив заходи щодо холероносійства. Ці розробки визнані науковою спільнотою класичними. На підставі узагальнення вивчених епідеміологічних закономірностей формування епідемічних осередків холери М.М. Соловйов розробив прості й ефективні заходи ліквідації холерного осередку, що мало велике наукове і практичне значення. Сформульоване і теоретично обґрунтоване ним вчення про носійство різних збудників інфекційних хвороб відповідало вимогам практики охорони здоров'я і залишається актуальним у теперішній час.

На кафедрі вивчалися питання епідеміології і профілактики кишкової групи інфекцій і глистних інвазій, малярії, висипного тифу тощо. З перших років існування кафедри велись дослідження з вакцинопрофілактики інфекційних хвороб, вивчався вплив різних факторів на стан напруженості і тривалості штучного післявакцинального імунітету у населення. Цей науковий напрям продовжує розроблятися співробітниками кафедри епідеміології і в сучасних умовах. Велика робота здійснювалася з підготовки лікарів-епідеміологів для практичних закладів охорони здоров'я. Відсутність у ті часи підручника з епідеміології уповільнювала засвоєння цього предмету студентами. Тому Михайло Миколайович Соловйов готує до друку підручник «Загальна епідеміологія та профілактика заразних хвороб» для медичних училищ (1933 р.) і посібник «Епідеміологія» для медичних інститутів (1936 р.). Крім того, були видані окремі праці з епідеміології і профілактики дизентерії, дифтерії, віспи, кору.

У Велику Вітчизняну війну кафедра була евакуйована в м. Оренбург, де її співробітники (М.М. Соловйов і О.Г. Шварц) вели викладання епідеміології до 1944 р., коли медичний інститут повернувся до Харкова. Тут робота кафедри по навчанню студентів і проведенню науково-практичних досліджень з епідеміології і профілактики інфекційних хвороб була продовжена.

Вже у кінці 1940-х і на початку 1950-х років на кафедрі розробляється низка наукових проблем, що були висунуті практичною медициною. Так, більша частина досліджень була присвячена вивченню виживаності мікробів кишкових інфекцій на різних об'єктах зовнішнього середовища і особливо в харчових продуктах і воді. Необхідність проведення таких досліджень у той час була доцільною, тому що війна спричинила порушення санітарно-гігієнічних умов меш-

кання. Результати цих досліджень були узагальнені в дисертаційних роботах М.А. Неізмайлової, В.Ф. Волоконської, І.С. Давидової, В.М. Гуртовенко, Т.А. Тищенко, Л.В. Колотилової та ін. Одночасно у цей період співробітники кафедри вивчали проблему епідеміології і профілактики окремих гельмінтозів (Н.І. Алексєєва, В.М. Жидовцев, Л.Е. Шкапо та ін.).

В 1947 р., коли ще не була ліквідована захворюваність на натуральну віспу навіть у розвинених країнах, таких, наприклад, як США, М.М. Соловйов у статті, присвяченій 150-й річниці противіспових щеплень, писав: «Возможна ли ликвидация оспы во всем мире. Естественно возникает вопрос, возможно ли ликвидировать оспу во всем мире. Принимая во внимание блестящий пример СССР, можно ответить на этот вопрос положительно. Необходимо только осуществлять это мероприятие не разрозненно, а по единому плану, путем международного объединения в борьбе с этой болезнью». Зрозуміло, що М.М. Соловйов неодноразово обговорював цю ідею зі своїми учнями, і з роками вона знайшла своє втілення на практиці.

У середині 60-х років минулого сторіччя узагальнення особистого досвіду, набутого під час організації і здійснення протиепідемічних заходів в боротьбі з епідеміями холери, черевного і висипного тифів, натуральної віспи, які виникали в Україні в 1914–1920 рр., а також епідемій, що перебігали в країнах Західної Європи, дало можливість М.М. Соловйову визначити закономірності виникнення і розвитку епідемічного процесу та його стихання і припинення. В своїй доповіді Президії Академії медичних наук СРСР (1955 р.) вчений зазначив, що епідемічний процес знаходиться в безперервно-переривчастому стані. Головним закономірним зв'язком між джерелом інфекції і сприйнятливим організмом є джерело ураження, бо за його відсутності осередок виникнути не зможе.

У ці ж роки була створена харківська наукова школа епідеміологів під керівництвом дійсного члена Академії медичних наук СРСР, заслуженого діяча науки Української РСР, доктора медичних наук, професора і завідувача кафедри епідеміології Харківського державного медичного інституту М.М. Соловйова. Вихованцями школи були академік АМН СРСР В.М. Жданов; член-кореспондент АМН СРСР С.Н. Ручковський; почесний ректор ХНМУ професор В.Д. Черненко; міністр охорони здоров'я (1999–2003 рр.) Республіки Саха (Якутія), дійсний член Міжнародної академії наук екології і безпеки життєдіяльності, Нью-Йоркської академії наук, Академії Північного форуму, Академії природознавства професор І.Я. Сгоров. Учні М.М. Соловйова В.М. Жданов, І.Д. Ладний, О.М. Карабан, Ю.О. Желудков стали гідними представниками харківської наукової школи епідеміологів у ВООЗ, виконуючи важливу місію в боротьбі з особливо небезпечними інфекціями в Азіатському і Африканському регіонах.

Віктор Михайлович Жданов продовжував традиції кафедри епідеміології Харківського медичного інституту і протягом 1946–1950 рр. займав керівні посади в Харківському інституті епідеміології і мікробіології ім. І.І. Мечникова, завідував кафедрою епідеміології Харківського інституту удосконалення лікарів, яка була заснована у 1937 р. академіком М.М. Соловйовим. З 1950 р. Віктор Михайлович працював на керівних посадах в МОЗ СРСР, з 1961 р. протягом 26 років очолював Інститут вірусології ім. Д.І. Івановського АМН СРСР. Він підтримував наукові стосунки з М.М. Соловйовим, консультувався з ним по різних питаннях, у тому числі і по такій важливій проблемі, як глобальне викорінювання натуральної віспи.

30 травня 1958 р. на четвертому пленарному засіданні XI сесії Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я (ВАОЗ), виступаючи перед делегаціями країн-членів ВООЗ, голова Радянської делегації В.М. Жданов запропонував розглянути питання про повсюдне викоренення натуральної віспи. Як зазначив у своїй монографії професор І.Д. Ладний, пропозиція делегації СРСР була вивчена, і після детального її обговорення 12 червня 1958 р. одностайно прийнята резолюція, яка передбачала глобальне ліквідування віспи у близькому майбутньому. Доцільність і можливість цієї програми обговорювалась у ВООЗ протягом семи років перед тим, як на XVIII сесії ВАОЗ (1965 р.) ліквідація віспи у світовому масштабі була оголошена як одна з найголовніших цілей ВООЗ. А в травні 1980 р. Тридцять третя сесія ВАОЗ розглянула доповідь Глобальної комісії із засвідчення ліквідування віспи і ухвалила висновки про те, що ліквідація віспи в усьому світі завершена і що немає ніяких даних, які б свідчили про можливість її повернення як епідемічного захворювання. За участь у здійсненні програми ВООЗ з глобального викоренення віспи В.М. Жданов отримав орден «Біфуркаційна голка». Він був автором 30 монографій, трьох відкриттів, багатьох статей, засновником і головним редактором журналу «Вопросы вирусологии». Книжки В.М. Жданова переведені на 13 мов світу.

Ладний Іван Данилович, учень М.М. Соловйова, з 1965 по 1971 р. був радником ВООЗ, з 1971 р. по 1976 р. – начальником головного управління карантинних інфекцій МОЗ СРСР, з 1976 р. по 1983 р. – першим заступником Генерального директора ВООЗ. Серед багатьох наукових праць професора І.Д. Ладного особливої уваги заслуговує монографія «Ликвидация оспы и предупреждение её возврата», яка викликала значну зацікавленість фахівців-епідеміологів і була перекладена на англійську, французьку та інші мови.

Доктор медичних наук, професор М.О. Неізмайлова, гідна учениця М.М. Соловйова, з 1963 по 1984 р. успішно керувала кафедрою епідеміології Харківського інституту удосконалення лікарів і підготувала гідного продовжувача своєї справи доктора медичних наук професора Е.І. Федорова, який очолював кафедру епідеміології і ВІЛ/СНІДу Харківської медичної академії післядипломної освіти з 1985 по 2003 р.

З 1969 по 1990 р. кафедру епідеміології Харківського медичного інституту очолював учень М.М. Соловйова професор В.Д. Черненко, який з 1975 по 1985 р. обіймав посаду ректора інституту. Окрім наукової і педагогічної діяльності, професор В.Д. Черненко проводив велику організаційну роботу. Під час перебування на посаді ректора він зумів об'єднати зусилля керівного складу інституту на виконання важливого урядового завдання з формування професорсько-викладацького складу і створення матеріально-технічної бази для відкриття і функціонування в інституті стоматологічного факультету.

З 1990 р. кафедру очолює професор О.М. Карабан, висококваліфікований фахівець з питань вакцинації протиінфекційних хвороб, вчений-епідеміолог у галузі теоретичної і практичної епідеміології. Він зробив вагомий внесок у вивчення проблеми впливу факторів зовнішнього середовища на штучний імунітет у дітей, які були раніше щеплені проти кору, правця, дифтерії. О.М. Карабан довів епідеміологічну значущість вірусного гепатиту, дизентерії, опікових уражень, цукрового діабету і їх вплив на імунологічну реактивність дітей. Вперше ним були запроваджені в практику охорони здоров'я методологічні підходи до імуноепідеміологічного тестування дітей з усіх регіонів України і доведена можливість прогнозування зниження імунітету дітей, запроваджено і втілено програму з оптимізації епідеміологічного нагляду за кором і правцем. За участь у програмі ВООЗ по глобальному викорененню віспи О.М. Карабан отримав орден «Біфуркаційна голка». Він є автором 120 наукових праць, 55 методичних розробок і вказівок для викладачів і студентів, 8 навчальних посібників для лікарів-інтернів, трьох патентів на винахід. Під його керівництвом виконано п'ять дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук і одна дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю «епідеміологія».



Співробітники кафедри, 2008 рік

Продовжувачами справи Харківської школи епідеміологів стали її учні – завідувачі кафедр епідеміології: професори Ю. Желудков – Волгоградський медичний інститут (Росія), І.Я. Єгоров – медичний інститут Якутського державного університету ім. М.К. Аммосова (Республіка Саха, РФ), І.П. Колесникова – Національний медичний університет ім. акад. О.О. Богомольця (Київ, Україна).

З часу організації кафедри її співробітниками опубліковано понад 1000 наукових праць (підручники, монографії, збірки, статті); захищено 78 дисертацій, серед яких 14 докторських і 64 кандидатські.

Наукова робота кафедри здійснюється в наступних напрямках: вивчення впливу інфекційних і соматичних хвороб і інших екзо- і ендогенних факторів на напруженість і тривалість активного штучного імунітету проти кору, дифтерії, правця, кашлюку (докторські дисертації О.М. Карабана і Т.О. Чумаченко, кандидатські дисертації Г.І. Падалки, І.П. Колесникової, Г.В. Сіріци,

С.Г. Усенко, І.Ю. Багмут, виконуються кандидатські дисертації А.С. Подорожною, А.В. Аполоніною); вивчення особливостей проявів епідемічного процесу і ефективності вакцинопрофілактики при інфекціях, що контролюються засобами імунопрофілактики (докторська дисертація І.П. Колеснікової, виконується кандидатська дисертація О.С. Коваленко); розробка нової методології проведення імунологічного моніторингу (докторська дисертація Т.О. Чумаченко), вирішення проблеми епідеміологічного нагляду за внутрішньолікарняними інфекціями та шляхи їх подолання (роботи О.М. Карабана, Т.О. Чумаченко, Г.І. Падалки); вивчення впливу стресу і інших факторів на виникнення і розвиток епідемічного процесу в умовах надзвичайних станів (роботи Г.І. Падалки, О.М. Карабана), прогнозування інфекційної захворюваності на основі мультиагентного моделювання і системної динаміки (роботи Т.О. Чумаченко).

Кафедра підтримує міжнародні стосунки з країнами ближнього зарубіжжя – СНД, а також дальнього зарубіжжя – США, Німеччиною, Китаєм, Японією, Бразилією, Індією та іншими.

На сьогодні кафедра має лекційний зал, шість учбових тематично обладнаних кімнат, у тому числі для лікарів-інтернів, дві наукові лабораторії і віварій, в яких проводять дослідження аспіранти і студенти-гуртківці, музей історії кафедри і наукову бібліотеку. Співробітниками кафедри створені в достатній кількості методичні розробки і посібники для студентів, значний табличний фонд для лекцій і практичних занять, є муляжі, макети препаратів, зразки дезінфекційної апаратури тощо. При вивченні окремих тем використовуються електронні засоби навчання і контролю знань.

Зараз на кафедрі працюють: завідувач кафедри д-р мед. наук професор О.М. Карабан, д-р мед. наук доцент Т.О. Чумаченко, канд. мед. наук доцент Г.І. Падалка, канд. мед. наук доцент І.Ю. Багмут, канд. мед. наук асистент Г.В. Сіріца, асистенти А.В. Аполоніна, А.С. Подорожна і аспірант О.С. Коваленко.

Всі наукові працівники кафедри надають постійну консультативну допомогу співробітникам Харківської обласної і міської санітарно-епідеміологічних станцій, обласної дезінфекційної станції з питань організації профілактичної і протиепідемічної роботи з метою зниження захворюваності на інфекційні хвороби, а також спільних науково-практичних досліджень.

Кафедра підтримує тісні наукові зв'язки з кафедрами мікробіології і імунології, інфекційних хвороб ХНМУ, Інституту мікробіології та імунології АМН України ім. І.І. Мечникова, кафедрою епідеміології і ВІЛ/СНІДу Харківської медичної академії післядипломної освіти, Інституту епідеміології і інфекційних хвороб АМН України ім. Л.В. Громашевського, кафедрою епідеміології Національного медичного університету ім. акад. О.О. Богомольця, а також з іншими кафедрами медичних ВНЗ України, де викладають епідеміологію.

На кафедрі епідеміології ХНМУ успішно закінчили заочну аспірантуру 53 лікарі-епідеміологи, серед яких завідувач відділом особливо небезпечних інфекцій Харківської обласної СЕС канд. мед. наук І.І. Чернов і головний державний лікар Харківської обласної СЕС канд. мед. наук доцент Б.М. Овчаренко.

Останніми роками проходять теоретичне навчання в інтернатурі випускники ХНМУ.

Колектив кафедри епідеміології ХНМУ, фундатором і першим керівником якої був учень патріарха вітчизняної епідеміології Данили Кириловича Заболотного Михайло Миколайович Соловійов, гідно продовжує традиції свого вчителя, робить значний внесок в підготовку і виховання майбутніх лікарів-епідеміологів, проводить наукові дослідження, спрямовані на теоретичне обґрунтування заходів поліпшення епідемічної ситуації, втілення нових прогресивних методів запобігання інфекційної захворюваності, удосконалення системи епідеміологічного нагляду в країні.

## РЕЦЕНЗІЯ

*Хірургія: Підручник для студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації: у 2 т. / за ред. Я.С. Березницького, М.П. Захараша, В.Г. Мішалова, В.О. Шідловського. – Дніпропетровськ: РВА «Дніпро-VAL». Т. 1. – 2006. – 443 с.; Т. 2. – 2007. – 625 с.*

У зв'язку з впровадженням кредитно-модульної системи навчання, підвищенням вимог до студентів щодо їх навчання і професійного розвитку виникла потреба у створенні нових підручників, які б відповідали новим умовам навчання.

Саме такий підручник створено колективною працею провідних фахівців хірургічних шкіл Дніпропетровська, Вінниці, Запоріжжя, Києва і Тернополя і видано за редакцією професорів Березницького Я.С., Захараша М.П., Мішалова В.Г., Шідловського В.О. Видання затверджено МОЗ України як підручник для студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації на підставі рішення науково-методичної ради з медицини МОН України.

Підручник «Хірургія» є новим за методичним підходом, формою і стилем викладання матеріалу.

Перший том призначено для студентів 3-го курсу медичних навчальних закладів, другий – для студентів 4-го–6-го курсів.

До підручника включені розділи, що висвітлюють проблеми загальної хірургії в обсязі, необхідному лікарю загальної практики. Всі розділи викладені за єдиною методикою і несуть у собі елементи керованого практично-орієнтованого навчання. Зміст першого тому підручника відповідає затвердженій МОЗ України програмі підготовки лікаря загальної практики з загальної хірургії. Викладені питання організації, обстеження і догляду за хірургічними хворими, основні діагностичні й лікувальні принципи надання їм медичної допомоги.

Матеріал підручника добре структурований, із чітким висвітленням основних розділів теми і викладений відповідно до професійно орієнтованих завдань затверджених галузевих стандартів. Кожний розділ представлений в алгоритмізованому вигляді, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу студентами при використанні кредитно-модульної системи навчання. Підручник написаний просто, читається легко й з інтересом. Демонстративні схеми, рисунки, фотографії полегшують засвоєння матеріалу. Клінічні завдання, контрольні питання і тести для самоконтролю дозволяють студентам самостійно оцінити якість засвоєння пройденого матеріалу.

Підручник «Хірургія» за редакцією професорів Я.С. Березницького, М.П. Захараша і В.Г. Мішалова, який затверджено МОЗ України як підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів III–IV рівнів акредитації, має стати базовим з питань підготовки лікаря загальної практики з хірургії.

*Доктор медичних наук, професор, Лауреат Державної премії України, в.о завідувача кафедри загальної хірургії В.О. Сипливий*

## Авторам журнала

### Требования к оформлению статей

1. Журнал принимает к публикации оригинальные и обзорные статьи по различным проблемам клинической и экспериментальной медицины.
2. Объем оригинальной статьи — не менее 5 и до 12 страниц текста, обзорных — до 15 страниц.
3. Статья подается в редакцию в двух распечатанных экземплярах и на диске в виде текстового файла.
4. Текстовый файл на диске должен иметь формат редактора Word или .rtf. Имя файла (латинскими буквами) должно соответствовать фамилии первого автора. Весь материал статьи должен содержаться в одном файле.
5. Текст статьи должен быть распечатан шрифтом Times New Roman (или другим), кегль 14, межстрочный интервал — полуторный. Одна страница распечатанного текста должна вмещать 60–65 знаков в строке, 28–30 строк на странице.
6. Рукопись подписывается всеми авторами.
7. На титульном листе работы должна находиться отметка руководителя учреждения, в котором выполнена работа, о разрешении на публикацию (заверяется печатью). К статье прилагается официальное направление от руководителя учреждения.
8. Оригинальные статьи пишутся по следующей схеме:  
 Название статьи  
 Авторы (И.О. Фамилия)  
 Университет (институт, академия)  
 Вступление (заголовком не выделяется)  
 Материал и методы исследований  
 Результаты исследований  
 Обсуждение результатов исследований  
 Выводы  
 Перспективность исследования  
 Список литературы — не менее 7 источников (в порядке упоминания в тексте; если авторов более четырех — указываются три фамилии, а потом «и др.», если четыре — то все четыре фамилии; обязательно дается название журнальной статьи)  
 Резюме с названием и фамилией автора, а также ключевые слова обязательно на **трех** языках — украинском, русском, английском.
9. Статья может быть написана на украинском или русском языке.
10. Текст статьи может быть иллюстрирован таблицами, графиками, схемами, диаграммами любой степени сложности, фотографиями микропрепаратов. Таблицы должны иметь вертикальную ориентацию и создаваться с помощью мастера таблиц (опция «Таблица — вставить таблицу» редактора Word), заголовок и номер (если их не менее двух). Формулы создаются с помощью редактора формул MS Equation, графики и диаграммы — с помощью MS Graph, MS Excel). Фотографии и другие растровые изображения представлять в оригинале и/или отдельными файлами TIFF, Photoshop EPS с разрешением не менее 300 dpi.
11. Текст статьи и все относящиеся к статье материалы должны быть тщательно выверены; цитаты, таблицы, иллюстрации, формулы, сведения о дозировках должны быть завизированы авторами на полях.
12. Дополнительно авторам необходимо сообщить о себе следующие сведения: фамилию, имя, отчество, место работы, должность, научную степень, ученое звание, тему выполненной (выполняемой) научной работы, домашний адрес и контактные телефоны, e-mail (распечатываются на отдельном листе и вносятся в файл).

Все статьи, представленные в редакцию, проходят редактирование и рецензирование. Редакция оставляет за собой право сокращать и корректировать текст статьи в части, не затрагивающей содержания работы. При необходимости статья может быть возвращена авторам для доработки или ответов на возникшие вопросы.

Журнал не принимает материалы, ранее опубликованные или поданные для публикации в другие печатные издания.

Адрес редакции: Украина, 61022, г. Харьков, пр. Ленина, 4, ХГМУ, учебно-лабораторный корпус, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, к. 48.  
 Тел.: (057) 707-73-00.  
 e-mail: [ekm.kharkiv@mail.ru](mailto:ekm.kharkiv@mail.ru)