

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОЧАГА ХРОНИЧЕСКОГО ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Н.А. Клименко, С.В. Татарко, А.Н. Шевченко, Г.И. Губина-Вакулик

Харьковский национальный медицинский университет

На модели хронического иммунного воспаления у крыс иммуногистохимически изучена экспрессия ряда CD⁺-клеток очага. Показано, что экспрессия CD54⁺-клеток была выражена с максимумами на 3-и и 7-е сутки, затем снижалась и вновь повышалась к 28-м суткам. CD44⁺-клетки отсутствовали на протяжении всего периода исследования. Экспрессия CD11c⁺-клеток была выражена с 6-го часа по 3-и сутки с пиком на 1-е сутки. Количество CD31⁺-клеток было увеличенным до конца эксперимента с максимумами на 1-е, 7-е и 28-е сутки. Содержание CD61⁺-клеток было максимальным с 5-х до 10-х суток, снижалось на 14-е и вновь повышалось на 21-е и 28-е сутки.

Ключевые слова: *очаг хронического иммунного воспаления, иммуногистохимия, клетки крови.*

В работах [1–3] описана клеточно-тканевая динамика и дана иммуногистохимическая характеристика очагов острого инфекционного, первично и вторично хронического асептического неиммунного воспаления у крыс.

Существенный интерес представляет изучение хронического иммунного воспаления, поскольку очень часто его развитие связано с персистенцией в организме антигена. Вместе с тем патогенетическим особенностям воспаления в зависимости от его этиологии не уделяется должного внимания, что в определенной степени объясняется тем, что данное воспаление считается типовым патологическим процессом.

Целью настоящего исследования стало изучение иммуногистохимических особенностей очага хронического иммунного воспаления у крыс в динамике.

Материал и методы. Опыты поставлены на 66 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Воспаление типа адьювантного артрита вызывали введением в субплантарный апоневроз полного адьюванта Фрейнда в дозе 0,1 мл [4]. Начиная с 6-го часа и по 28-е сутки воспаления исследовали клеточно-тканевую динамику очага воспаления, развивающегося в коленном суставе, на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм с помощью обзорной окраски гематоксилином и эозином, по ван Гизон (выявление коллагенизации), ШИК + альциановым синим (дифференцирование основных и кислых глико-

заминогликанов), галоцианином по Эйнар-сону (выявление общих нуклеиновых кислот) [5].

Иммуногистохимически, с помощью наборов моноклональных антител против поверхностных антигенов клеток крыс, определяли экспрессию антигенов: лейкоцитов (CD54); отдельно нейтрофильных гранулоцитов (CD44); клеток миелоидного ряда (CD11c); моноцитов, гранулоцитов, В-лимфоцитов, эндотелиальных клеток (CD31); макрофагов (CD61) [6].

Полученные результаты статистически обработали [7].

Результаты и их обсуждение. В коленном суставе интактного животного концы костей покрыты гиалиновым суставным хрящом, состоящим из трех нечетко очерченных зон: наружная зона представлена мелкими уплощенными хондроцитами, в средней зоне клетки расположены в колонках, лежащих перпендикулярно к поверхности, внутренняя зона кальцифицирована, также состоит из мелких хондроцитов. Хрящевой матрикс содержит, как известно, коллаген II типа и много гликозаминогликанов, что выявляется окрасками пикрофуксином по ван Гизон и ШИК + альциановый синий соответственно. Суставной хрящ не имеет капилляров, и питание осуществляется путем диффузии из синовиальной жидкости. Костномозговые лакуны субхондральной кости – эпифиза – заполнены активным многоклеточным костным мозгом.

Суставные концы костей окутаны суставной сумкой, состоящей из наружного, фиброзного слоя и внутреннего – синовиальной оболочки, то есть синовиальная оболочка выстилает изнутри поверхность сустава везде, за исключением поверхности суставных хрящей. Синовиальная оболочка имеет выпячивания – ворсинки, богата кровеносными сосудами, содержит мелкие нервные волокна. Синовиальные клетки – мезенхимального происхождения, малодифференцированы, расположены в большинстве вдоль внутренней оболочки, создавая впечатление сплошной выстилки. Но на микропрепаратах с окраской пикрофуксином по ван Гизон видно, что клетки лежат не на коллагеновых волокнах, а среди них, то есть коллагеновые волокна тоже принимают участие в формировании внутреннего слоя синовиальной оболочки. В разных участках синовиальная оболочка имеет некоторые отличия: с особенно большим содержанием коллагеновых волокон (фиброзная), с концентрацией синовиоцитов у поверхности и размещением их в 3–4 ряда (ареолярная), а также в виде тонкого слоя коллагеновых волокон с внедренными в него синовиоцитами, что создает впечатление клеточной выстилки, покрывающей внутрисуставные жировые подушки (жировая синовиальная ткань).

У животного через 6 часов после субплантарной инъекции полного адьюванта Фрейнда наблюдается пролиферация синовиоцитов в участке ареолярной синовиальной оболочки. Здесь же, под слоем синовиоцитов с более крупными, чем у интактного животного, и округлыми ядрами, расположенными в несколько рядов, наблюдается локальный отек синовиальной оболочки. При этом исчезает кислая реакция, обусловленная продукцией синовиоцитами гиалурононой кислоты, что выявлено при микроскопии препаратов с гистохимической реакцией ШИК + альциановый синий, тогда как полимеризованная гиалуроновая кислота в норме является основным компонентом синовиальной жидкости. Суставной хрящ также поврежден: наблюдаются явления его отека и местами десквамация уплотненных хондроцитов наружной зоны (рис. 1).

Через сутки после инъекции полного адьюванта Фрейнда микроскопическая картина изменилась мало, отмечается лишь гиперпролиферация клеток костного мозга в эпифизах трубчатых костей, образующих сустав. Состояние тканей сустава такое же, как и после 6 часов, однако в одном участке суставной сумки обнаруживается клеточный инфильтрат макрофагального характера, причем цитоплазма клеток объемная, эози-

нофильная. В участках около синовиальной складки обнаружена пролиферация синовиоцитов.

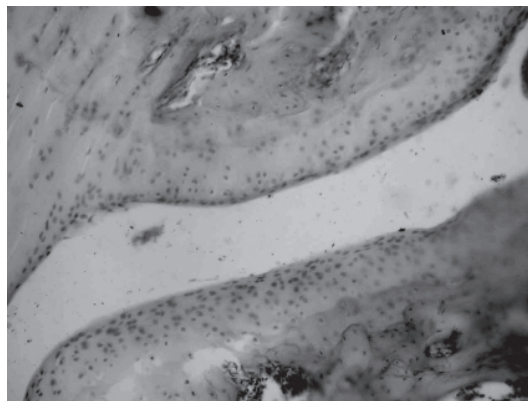


Рис. 1. Явления отека суставного хряща и местами десквамация уплотненных хондроцитов наружной зоны на 6-й час эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

На исходе третьих суток от начала эксперимента нарастает пролиферация синовиоцитов на внутренней поверхности синовиальной сумки соответственно наличию клеточного инфильтрата в толще суставной сумки, формируются сосочки из пролиферирующих синовиоцитов. Активизация синовиальной сумки особенно заметна по морфофункциональному состоянию синовиальной складки: она становится толстой, многоклеточной. Наблюдается прилипание синовиоцитов синовиальной складки к хрящу. Подлежащие хондроциты имеют пикнотичные ядра, то есть происходит локальное повреждение суставного хряща. Основная масса суставных хрящей не повреждена. При этом в инфильтрате среди макрофагов появляются и лимфоциты. Увеличивается общий объем синовиальной ткани в суставе. Костный мозг эпифизов трубчатых костей, образующих сустав, запустевший (рис. 2).

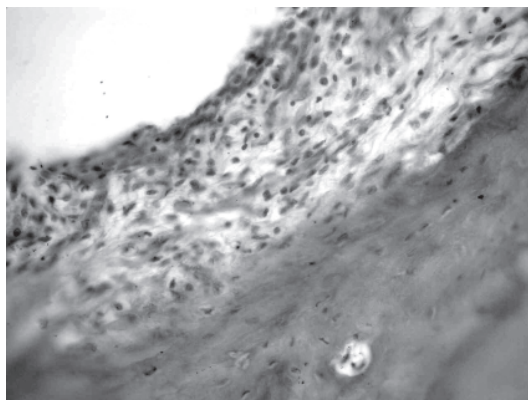


Рис. 2. Проллиферация синовиоцитов с инфильтрацией синовиальной ткани круглоядерными лейкоцитами на 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

На 5-е сутки наблюдения микроскопическая картина тканей сустава кардинально изменилась. Синовиальная складка превратилась в объемную грануляционную ткань, расположенную между суставными поверхностями в плотном контакте с хрящом и разрушающую его. Суставная сумка (все слои) оказалась густо инфильтрирована макрофагами, лимфоцитами, плазмочитами, сосуды полнокровны. Некоторые артериолы имеют признаки пролиферативного воспаления с пролиферацией клеток стенки сосуда. Кислые гликозаминогликаны в синовиальной оболочке не выявляются. В синовиальных полостях – «карманах» обнаруживаются так называемые фибробластные «подушки», выпячивающиеся из синовиальной оболочки в полость сустава в фокусе исчезновения синовиоцитов на ее внутренней поверхности. Фибробласты из синовиальной оболочки и ее капилляры также развиваются в грануляционную ткань, врастающую в синовиальную полость.

На 7-е сутки эксперимента суставные хрящи значительно повреждены и заменены грануляционной тканью, то есть грануляционная ткань местами покрывает субхондральную костную ткань. Грануляционная ткань так же густо инфильтрирована макрофагами, лимфоцитами, плазмочитами, как и ткани суставной сумки. Во всех инфильтрированных тканях имеются признаки васкулита. В наиболее ранних участках воспаления наблюдается активация фибробластов, уменьшение количества макрофагов и лимфоцитов, стимуляция коллагенообразования: волокна короткие, не ориентированные.

На 10-е сутки воспаление распространяется на околосуставные ткани и подкожную клетчатку. Причем везде обнаруживаются васкулиты, местами превращающиеся в макрофагальные гранулемы. Очевидно, васкулиты развиваются не в юной грануляционной ткани. Синовий имеет многочисленные ворсинки. В суставной полости – отдельно лежащие ворсинки, комки фибрина. Суставные хрящи частично замещены грануляционной тканью (рис. 3).

Через 14 суток отмечается интенсификация созревания грануляционной ткани с уменьшением ее объема и макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации, с накоплением коллагена в ткани суставной сумки. Можно сказать, грануляционная ткань «уходит» из полости сустава.

В конце 3-й недели внутренние участки синовиальной ткани – с завершенным воспалением и выраженной коллагенизацией, поэтому синовиальный слой суставной сум-

ки оказывается более толстым, чем у интактного животного. В полости сустава обнаруживаются немногочисленные соединительнотканые спайки между суставной сумкой и суставной поверхностью, участки «слипания» синовиальной оболочки с костью. На большей площади суставных поверхностей костей произошла регенерация суставного хряща. Костный мозг эпифизов этих костей – многоклеточный.

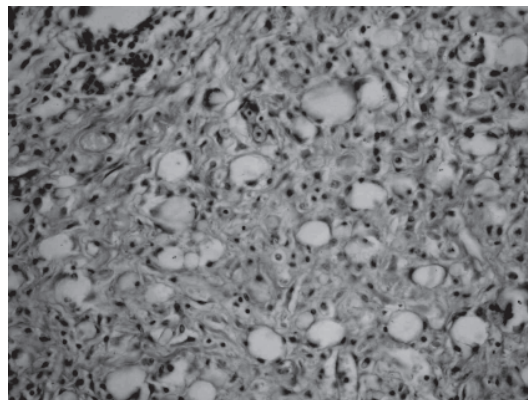


Рис. 3. Грануляционная ткань, замещающая суставной хрящ на 10-е сутки эксперимента. Окраска по Эйнарсону, $\times 400$

В конце 4-й недели в синовиальной оболочке воспалительный инфильтрат отсутствует, но ткань ее обогащена коллагеном (рис. 4).

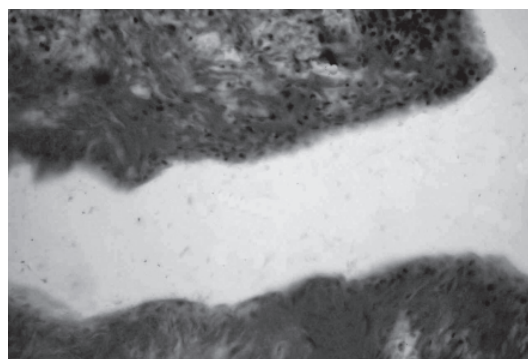


Рис. 4. Коллагенизация синовиальной ткани на 28-е сутки эксперимента. Окраска по ван Гизон, $\times 400$

О восстановлении функции синовиальной ткани свидетельствует появление в ней кислых гликозаминогликанов (реакция ШИК + альциановый синий). Воспалительный макрофагально-лимфоцитарный инфильтрат остается сильно выраженным только в наружных слоях суставной сумки. Суставные поверхности костей покрыты регенерировавшим хрящом.

Таким образом, при адьювантном артрите нейтрофильная реакция отсутствует, макрофагальная реакция наблюдается со 2-х суток до окончания эксперимента, лимфоцитар-

ная – с 3-х, фибробластическая – с 7-х суток. Количество лимфоцитов, макрофагов, фибробластов изменяется фазно. С 5-х до 10-х суток отмечается особенно большое количество макрофагов, на 28-е сутки вновь много макрофагов, лимфоцитов, фибробластов. Происходит интенсивная плазматизация лимфоцитов (на 5-е сутки). С 3–5-х суток формируется грануляционная ткань в полости и тканях сустава. Воспаление достигает пика на 10-е сутки, характеризуется васкулитами и макрофагальными гранулемами. В последующем происходит стихание воспаления, образование соединительнотканых спаек в полости сустава; макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация выражена в наружных слоях суставной сумки. Ранняя лимфоцитарная инфильтрация очага свидетельствует об иммунном характере воспаления.

При иммуногистохимическом исследовании очага воспаления установлено, что экспрессия CD54⁺-клеток была выражена со 2-х до 7-х суток с максимумами на 3-и (19,8 %) и 7-е (20,8 %) сутки, постепенно снижалась к 14-м суткам (1,5 %) и вновь повышалась к 28-м (15,5 %), что, по-видимому, свидетельствует об умеренных и фазных изменениях общего количества лейкоцитов в очаге воспаления по сравнению с хроническим неиммунным воспалением [3] (таблица).

Экспрессия CD⁺-клеток очага хронического иммунного воспаления у крыс (n=6) в динамике, (M±t) %

| Срок исследования, суток | CD54 | CD11c | CD31 | CD61 |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| 6 часов | 3,500±0,671 | 70,30±3,30 | 21,80±2,24 | 0 |
| 1 | 2,830±0,792 | 73,20±3,18 | 30,50±1,73 | 0 |
| 2 | 14,50±2,58 | 52,20±4,65 | 18,00±1,34 | 12,00±2,25 |
| 3 | 19,80±1,72 | 39,30±5,55 | 17,30±2,12 | 17,80±1,76 |
| 5 | 16,70±2,40 | 4,330±0,558 | 12,00±1,44 | 66,80±3,22 |
| 7 | 20,80±2,37 | 3,170±0,749 | 23,00±2,48 | 52,80±2,60 |
| 10 | 8,83±1,60 | 4,50±1,34 | 8,67±1,86 | 59,00±2,37 |
| 14 | 1,500±0,342 | 0 | 2,170±0,307 | 7,50±2,14 |
| 21 | 8,67±1,67 | 0 | 9,33±2,54 | 40,30±7,50 |
| 28 | 15,50±2,35 | 0 | 16,00±2,54 | 34,00±2,65 |

Примечание. CD44 – 0 во всех сроках.

Экспрессия CD44⁺-клеток отсутствовала в очаге на протяжении всего эксперимента, что согласуется с отсутствием нейтрофилов в очаге. Экспрессия CD11c⁺-клеток была выражена с 6-го часа по 3-и сутки с пиком на 1-е (73,2 %), существенно снижалась с 5-х до 10-х суток и отсутствовала с 14-х суток, вероятно, отражая более выраженные, но крат-

ковременные активацию гемопоэза и приток миелоидных клеток в очаг. Экспрессия CD31⁺-клеток была выражена с 6-го часа до конца эксперимента с максимумами на 1-е (30,5 %), 7-е (23 %) и 28-е (16 %) сутки, по-видимому, отражая более выраженные лимфоцитарную реакцию и ангиогенез. Экспрессия CD61⁺-клеток отсутствовала в очаге на 6-й час и 1-е сутки, была максимально выражена с 5-х до 10-х суток (66,8 % на 5-е), снижалась до 7,5 % на 14-е сутки и вновь повышалась на 21-е (40,3 %) и 28-е (34 %) сутки, что совпадало с динамикой макрофагов в очаге.

В целом хроническое иммунное воспаление отличается от гранулематозного более поздним и менее интенсивным началом, большей продолжительностью и большей выраженностью лимфоцитарной реакции. Это представляется объяснимым ввиду различия в этиологии и патогенезе этих видов воспаления [4, 8, 9]. Иммунное воспаление возникает и нарастает по мере сенсибилизации организма и, если оно основано на гиперчувствительности замедленного типа как адьювантный артрит, то связано с Т-лимфоцитами в качестве основных эффекторов реакции. Клинически адьювантный артрит выражен примерно на 10-е сутки и усиливается до 20–30-х суток, затем постепенно стихает,

однако деформация суставов остается [3, 4]. Гранулематозное же воспаление, как связанное с поступлением флоггена извне, характеризуется более интенсивным началом (участием нейтрофилов) и соответствует моноцитарно-макрофагальной и фибробластической реакциям. Сефадексная гранулема активна в основном в течение трех недель.

Литература

1. Клименко Н.А., Татарко С.В., Шевченко А.Н., Губина-Вакулик Г.И. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления. Эксперим. і клін. медицина 2007; 2: 24–28.
2. Клименко Н.А., Татарко С.В., Шевченко А.Н., Губина-Вакулик Г.И. Иммуногистохимические особенности очага острого инфекционного воспаления. Эксперим. і клін. медицина 2007; 3: 4–7.
3. Клименко Н.А., Татарко С.В., Шевченко А.Н., Губина-Вакулик Г.И. Иммуногистохимические особенности очага хронического гранулематозного воспаления. Эксперим. і клін. медицина 2007; 4: 28–31.
4. Чернух А.М. Воспаление: Очерки патологии и экспериментальной терапии. М.: Медицина, 1979. 448 с.
5. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Л.: Медгиз, 1961. 340 с.
6. Brosnan M. Immunofluorescence vysetrovane formalinovego materialu. Čs. Patol. 1979; 15, 4: 215–220.
7. Кулаичев А.П. Методы и средства анализа данных в среде Windows STADIA. М.: Информатика и компьютеры, 1999. 341 с.
8. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. М.: Медицина, 1991. 272 с.
9. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. 276 с.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВОГНИЩА ХРОНІЧНОГО ІМУННОГО ЗАПАЛЕННЯ

М.О. Клименко, С.В. Татарко, О.М. Шевченко, Г.І. Губина-Вакулик

На моделі хронічного імунного запалення у щурів імуногістохімічно вивчена експресія низки CD⁺-клітин у вогнищі. Показано, що експресія CD54⁺-клітин була виражена з максимумами на 3-тю і 7-му добу, потім знижувалась і знову підвищувалась на 28-му добу. CD44⁺-клітини були відсутні протягом всього терміну дослідження. Експресія CD11c⁺-клітин була виражена з 6-ї години до 3-ї доби з піком на 1-шу добу. Кількість CD31⁺-клітин була підвищеною до кінця експерименту з максимумами на 1-шу, 7-му і 28-му добу. Вміст CD61⁺-клітин був максимальним з 5-ї до 10-ї доби, знижувався на 14-ту і знову підвищувався на 21-шу і 28-му добу.

Ключові слова: вогнище хронічного імунного запалення, імуногістохімія, клітини крові.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC IMMUNE INFLAMMATORY FOCUS

N.A. Klimenko, S.V. Tatarko, A.N. Shevchenko, G.I. Gubina-Vakulik

On a model of chronic immune inflammation in rats expression of several CD⁺-cells has been investigated by immunohistochemical assay. It is shown that CD54⁺-cell expression is increased from with maxima on 3rd and 7th days of inflammation, then it is decreased and increased again on 28th day. CD44⁺-cells were absent during the whole study period. Expression of CD11c⁺-cells is increased from 6th hour up to 3rd day of inflammation with peak on 1st day of inflammation. Expression of CD31⁺-cells is increased up to the end of study with peaks on 1st, 7th, and 28th days of inflammation. CD61⁺-cell expression is maximal from 5th to 10th day, then it is decreased on 14th day and increased again on 21st and 28th days of inflammation.

Key words: chronic immune inflammatory focus, immunohistochemistry, cells blood.

Поступила 03.09.07

ДИНАМІКА ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛУТАТІОНУ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІД ЧАС ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

В.В. Руденко

ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України», м. Харків

Виявлено, що в процесі онтогенезу в мозку підвищується активність ферментів метаболізму глутатіону і NADP-залежних дегідрогеназ (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, NADP-залежної малатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази). Імобілізація 1,5- і 2-місячних щурів протягом 30 хв супроводжується підвищенням у них активності окремих ферментів метаболізму глутатіону, у 1,5-місячних тварин це зміщення доповнюється активацією NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. У щурів 6-, 12- і 24-місячного віку імобілізація не супроводжується зміною активності досліджених ферментів метаболізму глутатіону в мозку.
Ключові слова: ферменти метаболізму глутатіону, NADP-залежні дегідрогенази, онтогенез, стрес.

В процесі онтогенезу відбувається зміна чутливості тканин внутрішніх органів до стресу, що є однією з причин формування вікової патології [1, 2]. Разом з тим у літературі є численні дані про особливу роль стимуляції вільнорадикальних процесів у патогенезі стресорного uszkodження клітин [3, 4]. Враховуючи це, можна припустити існування певного взаємозв'язку між віковою зміною стійкості тканин до вільнорадикального uszkodження і зміною їхньої резистентності до стресу. Важливу роль у захисті клітин від вільнорадикального uszkodження грає глутатіон [5, 6]. Це пов'язане з антиоксидантними властивостями даного метаболіту, а також його здатністю брати участь в утилізації цитотоксичних продуктів оксидативного стресу, особливе місце серед яких посідають карбонільні сполуки [7, 8]. Разом з тим до цього часу все ще немає чітких уявлень про вікові особливості участі глутатіону в захисті тканин внутрішніх органів від ушкоджуючої дії стресорних факторів. У зв'язку з цим в даній роботі з метою подальшого розвитку уявлень про причини вікової зміни стійкості тканин до ушкоджуючої дії факторів стресу в мозку щурів різного віку, що піддавалися 30-хвилинній імобілізації, була досліджена активність ферментів метаболізму глутатіону.

Матеріал і методи. Робота виконана на 60 щурах (самці) лінії Вістар 1,5-, 2-, 6-, 12- і 24-місячного віку. Усі тварини були поділені на дві групи: інтактні і такі, що піддавалися імобілізаційному стресу шляхом фіксації на спині протягом 30 хв. Ефективність відтворення стресу контролювалася за рівнем 11-оксикортикостероїдів і адреналіну в крові.

Тварин декапітували, після чого негайно виймали головний мозок і поміщали в охолодженій до 0–4 °С изотонічній розчин NaCl. Півкулі головного мозку гомогенізували за допомогою скляного гомогенізатора Поттера–Ельвех'єма в середовищі виділення, яке містить 0,32 М сахарози і 0,01 М TRIS (pH 7,4) у співвідношенні 1 : 10 (маса тканини / об'єм середовища виділення). Приготовлені гомогенати фільтрували через два шари марлі і центрифугували при 3000 g протягом 10 хв. Отримані супернатанти піддавали наступному центрифугуванню при 10 000 g протягом 20 хв. Надосадову рідину використовували в якості постмітохондріальної фракції. Усі процедури виділення проводили при 4 °С.

Проби постмітохондріальної фракції півкуль головного мозку використовували для визначення активності глутатіон-S-трансферази за методом В. Mannervik and С. Guthenberg [9], глутатіонпероксидази [10], глутатіонредуктази [11], глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, NADP-залежної малатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази [12]. Концентрацію білка в пробах постмітохондріальної фракції печінки визначали за методом Лоурі.

Результати досліджень піддавали статистичній обробці з використанням непараметричного методу Вілкоксона–Манна–Уїтні.

Результати та їх обговорення. Дані дослідження активності ферментів метаболізму глутатіону в постмітохондріальній фракції півкуль головного мозку щурів різного віку наведені в таблиці. Як видно з таблиці, зі збільшенням віку тварин підвищується актив-

ність глутатіонпероксидази в мозку. У 12-місячних щурів вона на 69 % більша, ніж у 1,5-місячних тварин. Далі, до 24-місячного віку, активність глутатіонпероксидази залишається на рівні такої, як у 12-місячних щурів.

Активність глутатіонтрансферази у 6-місячних тварин на 45 %, а у 24-місячних на 74 % вища, ніж у 1,5-місячних щурів. У той же час активність глутатіонредуктази у 6-місячних тварин на 60 % перевищує її величину у 1,5-місячних щурів. Однак до 24-місячного віку активність цього ензиму знижується і наближується до такої, як і у 1,5-місячних щурів.

Концентрація відновленого глутатіону, яку використовували в глутатіонтрансферазній і глутатіонпероксидазній реакціях, залежить від внутрішньоклітинного вмісту відновленого NADP, джерелом якого є реакції, що каталізуються NADP-залежними дегідрогеназами. З огляду на це далі досліджували активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, NADP-залежної малатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази в пробах постмітохондріальної фракції півкуль головного мозку щурів (таблиця). Зі

збільшенням віку тварин відбувається поступове підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в мозку. Так, у 6-місячних щурів вона зростає на 75 %, а у 24-місячних – на 91 % у порівнянні з її величиною у 1,5-місячних тварин. Аналогічно у мозку підвищується активність NADP-залежної малатдегідрогенази. Її величина у 6- і 24-місячних щурів збільшується на 70 і 136 % відповідно у порівнянні з такою у 1,5-місячних тварин. У той же час активність NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази в мозку досягає свого максимального значення у 2-місячних щурів. Зі збільшенням віку тварин вона поступово знижується і у 24-місячних щурів стає нижчою за її рівень у 1,5-місячних тварин.

Імобілізація 1,5-місячних щурів протягом 30 хв супроводжується підвищенням активності глутатіонпероксидази мозку на 70 % у порівнянні з її вихідним рівнем (таблиця). Тенденція до виникнення аналогічного зміщення спостерігається й у 2-місячних тварин ($p > 0,05$). У щурів старших вікових груп активність глутатіонпероксидази в мозку після імобілізації не змінюється.

Активність ферментів метаболізму глутатіону і NADP-залежних дегідрогеназ у постмітохондріальній фракції мозку щурів різного віку в нормі та після імобілізаційного стресу, ($M \pm m$) нмоль/мг білка хв

| Вік, міс | Експерим. група | ІДГ | МДГ | Г-6-Ф-Г | ГР | ГТ | ГП |
|----------|-----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1,5 | Інтактні | 263±27 n=6 | 82±15 n=6 | 79±11 n=6 | 7,6±0,7 n=5 | 94±2 n=6 | 188±25 n=6 |
| | Стрес | 393±45* n=5 | 79±7 n=5 | 110±8* n=6 | 9,6±1,0 n=4 | 96±5 n=5 | 319±30 n=5 |
| 2 | Інтактні | 674±75 [#] n=6 | 90±13 n=4 | 136±19 n=6 | 8,4±0,7 n=4 | 106±7 n=5 | 212±30 n=6 |
| | Стрес | 497±77 n=6 | 110±15 n=5 | 139±26 n=6 | 11,5±0,7* n=4 | 126±8* n=5 | 260±50 n=5 |
| 6 | Інтактні | 588±42 [#] n=5 | 139±12 [#] n=4 | 138±13 [#] n=5 | 12,2±0,1 [#] n=5 | 136±10 [#] n=5 | 203,0±33,0 n=5 |
| | Стрес | 421±46* n=5 | 116±11* n=6 | 141±19 n=5 | 10,9±0,7 n=6 | 167±10 n=6 | 223±21 n=5 |
| 12 | Інтактні | 489±36 [#] n=6 | 90±8 n=5 | 126±7 [#] n=6 | 10,9±0,8 n=5 | 12±3 [#] n=4 | 318±24 [#] n=6 |
| | Стрес | 491±45 n=5 | 73±9 n=5 | 144±12 n=6 | 8,9±1,1 n=5 | 117±3 n=5 | 285±48 n=6 |
| 24 | Інтактні | 218±23 n=4 | 194±35 [#] n=5 | 151±9 [#] n=4 | 8,7±1,4 n=5 | 164±7 [#] n=5 | 289±60 [#] n=4 |
| | Стрес | 479±45* n=5 | 214±30 n=5 | 119±20 n=3 | 8,2±0,6 n=5 | 139±8 n=4 | 274±35 n=3 |

Примітки: 1. ІДГ – ізоцитратдегідрогеназа; МДГ – малатдегідрогеназа; Г-6-Ф-Г – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа; ГР – глутатіонредуктаза; ГТ – глутатіонтрансфераза; ГП – глутатіонпероксидаза.
2. $p < 0,05$; * до інтактних, [#] до інтактних 1,5-місячних.

Активність глутатіонтрансферази постмітохондріальної фракції мозку 2-місячних щурів, що піддавалися 30-хвилинній іммобілізації, підвищується на 19 % у порівнянні з вихідним рівнем. У тварин інших вікових груп активність даного ферменту при іммобілізаційному стресі не змінюється. Аналогічна ситуація виникає й у відношенні глутатіонредуктази (таблиця). У 2-місячних щурів після 30-хвилинної іммобілізації активність цього ферменту підвищується на 37 % у порівнянні з вихідною величиною. У той же час у щурів інших вікових груп іммобілізаційний стрес не супроводжується зміною активності глутатіонредуктази в мозку.

Паралельно зі зміною активності ферментів метаболізму глутатіону в мозку 1,5-місячних тварин після 30-хвилинної іммобілізації підвищується активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази на 39 і 49 % відповідно у порівнянні з вихідною величиною (таблиця). Іммобілізація 2- і 12-місячних щурів не супроводжується зміною активності NADP-залежних дегідрогеназ. У 6-місячних тварин при іммобілізаційному стресі відбувається зменшення активності NADP-залежної малатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази на 17 і 28 % у порівнянні з вихідною величиною. У старих (24-місячних) щурів 30-хвилинна іммобілізація супроводжується зміною активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і NADP-залежної малатдегідрогенази в мозку. У той же час у них виявляється активація і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази на 120 % у порівнянні з вихідною величиною.

Результати проведених досліджень показали, що в процесі онтогенезу в мозку щурів відбувається поступове підвищення активності ферментів метаболізму глутатіону. У пренубертатному періоді (1,5-місячний вік) для півкуль головного мозку характерна найменша активність ферментів метаболізму глутатіону – глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази і глутатіонредуктази, що визначає підвищену чутливість мозку тварин даної вікової групи до дії прооксидантних факторів. Ситуація ускладнюється ще і тим, що саме у 1,5-місячних щурів виявляється найменша у порівнянні з іншими вивченими віковими групами тварин активність NADP-залежних дегідрогеназ.

Подібно ферментам, що приймають участь у метаболізмі глутатіону, в процесі онтогенезу в постмітохондріальній фракції мозку підвищується й активність NADP-залежних дегідрогеназ. Порівняльний аналіз активності досліджених NADP-залежних дегідрогеназ у постмітохондріальній фракції мозку свідчить про особливу роль NADP-залежної

ізоцитратдегідрогенази в забезпеченні клітин головного мозку відновленням NADP, а також в їхньому захисті від синглетного кисню [13]. Останнє набуває особливого значення для нервової тканини, яка характеризується високою інтенсивністю аеробного метаболізму і відповідно високою швидкістю радикалоутворення. Слід зазначити, що з усіх досліджених NADP-залежних дегідрогеназ активність саме цього ензиму піддається найбільшим змінам у процесі онтогенезу. Великий інтерес викликає той факт, що вона виявляється мінімальною в пренубертатному періоді і в період старіння. У зв'язку з цим можна говорити про те, що саме в ці два періоди розвитку виникають передумови для підвищення чутливості мозку до дії прооксидантних факторів. Причому у пренубертатному періоді, на відміну від пізнього онтогенезу, ситуація ускладнюється низькою активністю ферментів метаболізму глутатіону, що обмежує його можливість щодо захисту мозку від оксидативного стресу.

Отже, отримані дані свідчать про можливість існування певних вікових особливостей щодо участі системи глутатіону в захисті нервової тканини від ушкоджуючої дії прооксидантних факторів. У зв'язку з цим вивчали активність досліджуваних ферментів у постмітохондріальній фракції головного мозку щурів, що піддавалися іммобілізаційному стресу.

Дослідження показали, що після 30-хвилинної іммобілізації у 1,5- і 2-місячних тварин відбувається активація ферментів метаболізму глутатіону в мозку. Більшою мірою така зміна виражена у 2-місячних щурів, у них одночасно зростає активність глутатіон-S-трансферази і глутатіонредуктази, тоді як у 1,5-місячних тварин відбувається активація тільки глутатіонпероксидази. У щурів інших вікових груп при іммобілізаційному стресі активність досліджуваних ферментів метаболізму глутатіону істотно не змінюється. При цьому саме у 1,5-місячних тварин відбувається активація NADP-залежних дегідрогеназ у постмітохондріальній фракції півкуль головного мозку (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і ізоцитратдегідрогенази), що, мабуть, сприяє підвищенню ефективності захисної ролі глутатіону при стресі.

Таким чином, у тварин пренубертатного і раннього пубертатного віку, що мають порівняно низький базальний рівень активності ферментів метаболізму глутатіону в мозку, при іммобілізаційному стресі виникає їх компенсаторна активація, яка у 1,5-місячних щурів супроводжується також активацією NADP-залежних дегідрогеназ (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і ізоцитратдегідрогенази).

зи). Це свідчить про значну роль глутатіону в захисті клітин головного мозку щурів цих вікових груп від ушкоджуючої дії вільних радикалів. Однак особливості реалізації виниклої компенсаторної активності в умовах *in vivo* потребують спеціального вивчення.

На відміну від 1,5- і 2-місячних щурів, у 6-, 12- і 24-місячних не відбувається змін з боку активності вивчених ферментів метаболізму глутатіону в мозку при іммобілізаційному стресі. З одного боку, це може вказувати на початково високу потужність системи глутатіону, достатню для підтримки стабільного рівня вільнорадикальних процесів у мозку при 30-хвилинній іммобілізації, з іншого – відображати обмеження ролі глутатіону в захисті нервових клітин від вільнорадикального ушкодження при стресі.

Виявлені вікові особливості з боку активності ферментів метаболізму глутатіону і NADP-залежних дегідрогеназ у мозку, цілком ймовірно, зумовлені їхньою різною чутливістю до дії регуляторних факторів, до числа яких відносять інтенсивно генеровані при стресі активні форми кисню [13–15]. У свою чергу, причиною цього може бути вікова різниця в рівні окисної модифікації поліпептидних ланцюгів даних ензимів. Однак висловлені припущення потребують проведення ретельної експериментальної перевірки, що і буде предметом наших подальших досліджень.

Література

1. Фрольск В.В., Мурадян Х.К. Старение, эволюция и продление жизни. К.: Наук. думка, 1992. 236 с.
2. Locke M., Tanguay R.M. Diminished heat shock response in the aged myocardium. *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 251–260.
3. Kovacs P., Juranek I., Stankovicova T., Svec P. Lipid peroxidation during acute stress. *Pharmacie* 1996; 51, 1: 51–53.
4. Davydov V.V., Shvets V.N. Lipid peroxidation in the heart of adult and old rats during immobilization stress. *Exp. Gerontol.* 2001; 36: 1155–60.
5. Paolicci A., Dominici S., Pieri L. et al. Glutathione catabolism as a signaling mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 64, 5–6: 1027–35.
6. Hollins D.L., Suliman H.B., Piantadosi C.A., Carraway M.S. Glutathione regulates susceptibility to oxidant-induced mitochondrial DNA damage in human lymphocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40, 7: 1220–26.
7. Hiratsuka A., Tobita K., Saito H., Sakamoto Y. (S)-Preferential detoxification of 4-hydroxy-2(E)-nonenal enantiomers by hepatic glutathione S-transferase isoforms in guinea-pigs and rats. *Biochem. J.* 2001; 355: 237–244.
8. Singh P.S., Janecki A.J., Srivastava S.K. et al. Membrane association of glutathione S-transferase mGSTA4-4, an enzyme that metabolizes lipid peroxidation products. *J. Biol. Chem.* 2002; 277, 6: 4232–39.
9. Mannervik B., Guthenberg C. Glutathione transferase. *Methods Enzymology* 1981; 77: 231–235.
10. Ланкин В.З., Тухазе А.К., Ковалевская А.Л. и др. Возрастные изменения глутатион-S-трансферазной и глутатион-пероксидазной активности печени крыс. Докл. АН СССР 1981; 261, 6: 1461–70.
11. Hong-Gyut K., Sung-Min H., Su-Jung K. et al. Age-related changes in the activity of antioxidant and redox enzymes in rats. *Molecules and cells* 2003; 16, 3: 278–284.
12. Мильман Л.С., Юровицкий Ю.Г., Ермолаева Л.П. Определение активности важнейших ферментов углеводного обмена. Методы биологии развития. М.: Наука, 1974: 346–362.
13. Sun Y.K., Jeon-Woo P. Cellular defense against singlet oxygen-induced oxidative damage by cytosolic NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase. *Free Radical Res.* 2003; 37, 3: 309–316.
14. Sahin E., Gumuslu S. Alteration in brain antioxidant status, protein oxidation and lipid peroxidation in response to different stress model. *Behav. Brain Res.* 2004; 155, 2: 241–248.
15. Sorensen M., Sanz A., Gomez J. et al. Effect of fasting on oxidative stress in rat liver mitochondria. *Free Radic. Res.* 2006; 40, 4: 339–347.

Висновки

1. У процесі онтогенезу підвищується активність досліджених ферментів метаболізму глутатіону (глутатионпероксидази, глутатион-S-трансферази і глутатионредуктази), а також активність NADP-залежних дегідрогеназ (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, NADP-залежної малатдегідрогенази і NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази) у постмітохондріальній фракції півкуль головного мозку. Мінімальна активність усіх цих ензимів характерна для щурів препубертатного (1,5-місячного) віку.

2. При іммобілізаційному стресі протягом 30 хв у 1,5- і 2-місячних щурів підвищується активність окремих ферментів метаболізму глутатіону. У 1,5-місячних тварин це зрушення доповнюється активацією NADP-залежної ізоцитратдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. У щурів 6-, 12- і 24-місячного віку іммобілізація не супроводжується зміною активності досліджених ферментів метаболізму глутатіону в мозку.

3. Порівняно невисокий рівень базальної активності ферментів метаболізму глутатіону і NADP-залежних дегідрогеназ у щурів препубертатного і раннього пубертатного віку (1,5- і 2-місячних) при іммобілізаційному стресі підвищується. Це свідчить про особливу роль глутатіону в захисті мозку від вільнорадикального ушкодження при стресі.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА ГЛУТАТИОНА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ**В.В. Руденко**

Обнаружено, что в процессе онтогенеза в мозге повышается активность ферментов метаболизма глутатиона и NADP-зависимых дегидрогеназ (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, NADP-зависимой малатдегидрогеназы и NADP-зависимой изоцитратдегидрогеназы). Иммуобилизация 1,5- и 2-месячных крыс в течение 30 мин сопровождается повышением у них активности отдельных ферментов метаболизма глутатиона. У 1,5-месячных животных этот сдвиг дополняется активацией NADP-зависимой изоцитратдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. У крыс 6-, 12- и 24-месячного возраста иммуобилизация не сопровождается изменением активности исследованных ферментов метаболизма глутатиона в мозге.

Ключевые слова: ферменты метаболизма глутатиона, NADP-зависимые дегидрогеназы, онтогенез, стресс.

DYNAMICS OF CHANGING IN THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE METABOLISM ENZYMES IN RATS AT DIFFERENT AGES UNDER IMMOBILIZATION STRESS**V.V. Rudenko**

It has been revealed that in the process of ontogenesis in the brain there rises the activity of glutathione utilized enzymes and NADP-dependent dehydrogenases (glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-dependent isocitrate dehydrogenase). A 30 min immobilization of rats ranging in age from 1.5 to 2 months is accompanied by an increase in the activity of individual enzymes of glutathione metabolism. In 1.5-month-old animals such shift is accompanied by activation of NADP-dependent isocitrate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In rats of 6-, 12- and 24-months of age immobilization is not accompanied by changes in the activity of the studied enzymes of glutathione metabolism in the brain.

Key words: enzymes of glutathione metabolism, NADP-dependent dehydrogenases, ontogenesis, stress.

Поступила 05.11.07

ПРИМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГОВ У КРЫС

*Т.Г. Григорьева**, *Е.В. Маркелова**, *Е.А. Щегельская*^{***}*,
*Ю.Е. Микулинский***, *Н.И. Горголь****

**Харьковская медицинская академия последипломного образования*

***ООО «Вирола», г. Харьков*

****Харьковский национальный медицинский университет*

В условиях экспериментальной термической травмы изучена эффективность трансплантации стромальных стволовых клеток (ССК) костного мозга у 78 животных. При моделировании глубоких ожогов у крыс использованы методы лечения ран: хирургические (первичная некрэктомия), биологические покрытия, трансплантация ССК. Доказана эффективность инъекций ССК в сочетании с ксенокожей и ауто трансплантации при лечении ожоговых ран.

Ключевые слова: ожог, цитопластика, мезенхимальные стволовые клетки, морфология раневого процесса.

В последние десятилетия в практике лечения обширных ожогов был достигнут несомненный прогресс благодаря использованию методов клеточной терапии и тканевой инженерии. Использование аллогенных и аутологичных фибробластов [1–7] и кератиноцитов [8] с одновременным применением ксенокожи и искусственных раневых покрытий позволяет уменьшить летальность и ускорить заживление и эпителизацию ран.

Недавно начали изучать также возможность применения стволовых клеток костного мозга для лечения ожогов. Сравнительная оценка эффективности трансплантации эмбриональных фибробластов и стромальных (мезенхимальных) стволовых клеток (ССК) костного мозга при лечении глубоких ожогов у крыс показала, что трансплантация клеток данных типов на поверхность раны уменьшает ее клеточную инфильтрацию, ускоряет образование сосудов и грануляционной ткани, причем трансплантация ССК костного мозга приводит к более высокому темпу регенерации, чем трансплантация эмбриональных фибробластов [9]. Вероятно, использование ССК, выращенных на специальных пленках, в комбинации с ксенокожей, аутокератиноцитами и другими методами лечения может ускорить процесс регенерации кожи после ожога в несколько раз.

В данной работе проведена сравнительная оценка различных методов трансплантации ССК костного мозга при лечении глубоких экспериментальных ожогов у крыс.

Материал и методы. Исследование проведено на 78 крысах линии Вистар обоего по-

ла массой 180–200 г, которым моделировали глубокую ожоговую рану площадью 20 % от площади тела. В условиях эфирного наркоза через сутки после удаления шерсти на коже спины животным наносили контактный ожог стандартной площади и глубины электропаяльником, оснащенным рабочей круглой насадкой на рабочем конце диам. 2 см². Нагревающее устройство позволяло достигать постоянной температуры рабочего конца в пределах (360,0±5,2) °С. Ожог наносили равномерно, без надавливания. Экспозиция термического воздействия составляла 10 с. В этих условиях у животных достигалось повреждение всех слоев кожи, подтвержденное гистологически. После оперативного вмешательства животных содержали в одной помещении с постоянной температурой и влажностью воздуха, по одному в клетке. Животные получали питание, равнозначное по качественному и количественному составу. Все манипуляции на животных осуществляли в виварии Харьковской медицинской академии последипломного образования в соответствии с международными требованиями к проведению экспериментов на животных.

В зависимости от метода лечения ожога крысы были разделены на следующие шесть групп (по 13 животных в каждой): К1 – без какого-либо лечения; К2 – первичная некрэктомия на 2-е сутки после ожога; О1 – инъекция под струп суспензии ССК костного мозга; О2 – первичная некрэктомия на 2-е сутки после ожога + инъекция суспензии ССК под струп + покрытие раневой поверхности ксенокожей; О3 – первичная некрэктомия на

2-е сутки после ожога + биodeградируемая пленка с монослоем ССК + ксенокожа; О4 – первичная некрэктомия на 2-е сутки после ожога + биodeградируемая пленка с монослоем ССК + ксенокожа с иммобилизованными аутокератиноцитами.

Для получения первичной культуры ССК использовали костный мозг крыс, который вымывали из бедренных костей раствором Хэнкса (Sigma). Полученную суспензию дважды отмывали в растворе Хэнкса центрифугированием при 25 c^{-1} в течение 10 мин. Клетки рассеивали по 50 млн на культуральный флакон (80 см², Nunc) и культивировали в среде DMEM/F12 (1/1) (Sigma) с 10 % фетальной бычьей сыворотки при 37 °C и 5 % CO₂ в CO₂-инкубаторе. Через 24 часа культивирования среду с неприкрепившимися к субстрату кроветворными клетками костного мозга удаляли, добавляли свежую среду и продолжали культивировать оставшиеся прикрепленными фибробластоподобные ССК еще 10–12 дней, меняя среду каждые трое суток и удаляя при этом остатки кроветворных клеток. После кратковременной инкубации клеточного монослоя в 0,25% -ном растворе трипсина клетки снимали со дна культурального флакона. Для инъекций под струп ожоговой раны использовали клеточную суспензию ССК в растворе Хэнкса в концентрации (1,5–2,8)·10⁵ в 1 мл, которую рассеивали в стандартной посевной дозе на круглые биodeградируемые фибриновые пленки диам. 3 см и культивировали их в течение трех суток до образования на них клеточного монослоя. Рану закрывали пленкой так, чтобы клетки непосредственно контактировали с ее поверхностью. В качестве покрытия использовали препарат «Ксенокожа» (фирма «Комбустиолог», г. Тернополь). Аутокератиноциты получали путем трипсинизации фрагмента кожи, взятого у опытной крысы [10].

Динамику репаративного процесса в послеоперационном периоде оценивали планиметрическими и гистологическими методами на 3, 7, 14 и 21-е сутки после моделирования ожога. Для гистологических исследований фрагменты раны фиксировали в 10% -ном растворе формалина и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной (4–5)·10⁻⁶ м окрашивали гематоксилином и эозином для изучения состояния тканей. Для выявления и дифференцировки соединительнотканых структур препараты окрашивали фукселем на эластические волокна по Вейгерту и докрасивали пикрофуксином по ван Гизон.

Изучение микропрепаратов с последующим микрофотографированием проводили на микроскопе «Olympus VX-41» (Япония).

Результаты и их обсуждение. В отличие от кроветворных стволовых клеток ССК костного мозга обладают адгезивными свойствами. Они могут быть выделены из смеси клеток костного мозга как прикрепившиеся к субстрату и размножены в культуре. В результате культивирования клетки стромы костного мозга крыс образуют на дне культуральных флаконов гетерогенные колонии фибробластоподобных клеток, в которых обычно можно выделить два морфологически различающихся типа клеток: крупные распластаные, образующие филоподии, с большими ядрами и многочисленными ядрышками и относительно мелкие, веретеновидные клетки. Известно, что ССК костного мозга выполняют структурную функцию, играют важную роль в сохранении недифференцированного состояния кроветворных стволовых клеток, а также обладают способностью в определенных условиях дифференцироваться в адипоциты, миоциты, хондроциты и остеобласты. Недавно было также показано, что ССК костного мозга под действием разных индукторов могут дифференцироваться в нейробласты, гепатоциты, кардиомиоциты, клетки поджелудочной железы, эпителиальные клетки. По-видимому, ССК костного мозга являются плюрипотентными стволовыми клетками, поэтому их использование в ожоговой терапии для заживления ран может оказаться вполне оправданным.

В результате изучения планиметрии заживления ран было выявлено, что самые значительные различия в размерах наблюдаются между животными групп К1 и О4. На 14-е сутки послеоперационного периода средние размеры раны у крыс группы О4 были в 4–5 раз меньше, чем у крыс группы К1.

Анализ гистологических препаратов тканей раны животных группы К1 показал, что на 3-и сутки глубокий слой коагуляционного некроза распространялся на эпидермис и дерму, а местами включал и гиподерму и иногда даже слой мышц (рис. 1). В большей части наблюдений под зоной коагуляционного некроза определялся мышечный слой. Строма его была отечна, очагово инфильтрирована нейтрофильными гранулоцитами. Для саркоплазмы мышечных клеток с очагами базофилии была характерна потеря поперечной исчерченности, многие клетки были лишены ядер. Коллагеновые волокна зоны некроза находились в состоянии фрагментации, лизиса, были пикринофильны при окраске по ван Гизон.

В дне раны, на ее краях и в окружающих мягких тканях обнаруживалось серозно-гнойное или фибринозно-гнойное воспаление.

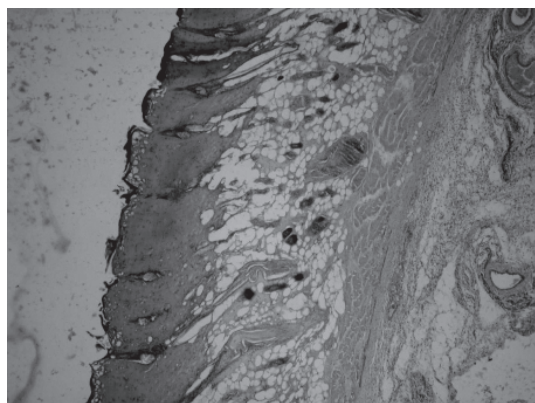


Рис. 1. Глубокий коагуляционный некроз, распространяющийся на эпидермис и дерму, а местами гиподерму и слой мышц крыс контрольной группы (К1) на 3-и сутки. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$

ние, а также выраженные микроциркуляторные расстройства в виде полнокровия сосудов, эритроцитарных стазов, микротромбов, внутрисосудистого гемолиза и периваскулярных кровоизлияний.

В ранах животных этой контрольной группы на 14-е сутки определялась широкая зона некроза, который распространялся на эпидермис, дерму, а иногда на гиподерму, при этом в некоторых наблюдениях имело место его краевое отторжение. В дне раны, на ее краях и в окружающих мягких тканях по-прежнему сохранялось серозно-гнойное воспаление, а также умеренно выраженные микроциркуляторные расстройства. Зона некроза отграничивалась от окружающих тканей зоной грануляционной ткани. Грануляционная ткань была представлена широкопеллистой сетью новообразованных капилляров, в ней обнаруживались многочисленные фибробласты, элементы лимфоцитарного и макрофагального ряда, нейтрофильные гранулоциты и нежная сеть коллагеновых волокон (рис. 2). Базальные мембраны сосудов были тонкими, слабо фуксинофильными при окраске по ван Гизон.

Течение раневого процесса в данной группе было тяжелым: вплоть до 21-х суток сохранялся некротический слой, выраженные дисциркуляторные и воспалительные изменения с участием нейтрофильных гранулоцитов. Грануляционная ткань формировалась лишь на 14-е сутки, однако характеризовалась воспалительными и вторичными некротическими изменениями, что замедляло процессы ее созревания и, как следствие, восстановления эпителиального покрова. К окончанию эксперимента эпителизация раны не наступала.

В группе К2 в результате проведения первичной некрэктомии начало образования

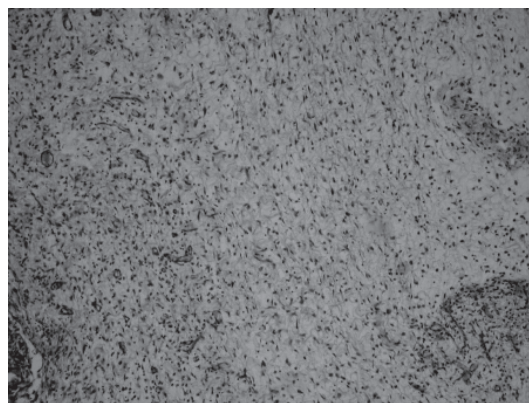


Рис. 2. Грануляционная ткань представлена сетью новообразованных капилляров, многочисленными фибробластами, нежной сетью коллагеновых волокон, элементами лимфоцитарного и макрофагального ряда крыс контрольной группы (К1) на 14-е сутки. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

грануляционной ткани приходилось на 3-и сутки (на две недели раньше, чем в группе К1), однако очаговая пролиферация эпителия в краях раны определялась лишь на 14-е сутки. К окончанию эксперимента эпителизация раны не наступала, что, возможно, связано с процессами раннего склерозирования грануляционной ткани, замедляющего эпителизацию.

Изучение гистологических препаратов ран крыс группы О1 показало, что при использовании ССК костного мозга с первичной некрэктомией образование грануляционной ткани происходит на 7-е сутки, а пролиферация краевого эпителия – на 14-е сутки. Отмечалось ускорение темпов данных процессов на одну неделю по сравнению с группой К1. В то же время к окончанию эксперимента полная эпителизация раны не наступала. Воспалительный процесс, по нашему мнению, затруднял реализацию пролиферативного потенциала ССК костного мозга.

В группе О2 начало формирования грануляционной ткани приходилось на 3-и сутки, в то же время начало краевой пролиферации эпителия отмечалось на 14-е сутки. Эпителизация начиналась на 21-е сутки на фоне формирования или уже сформированного рубца, что способствовало неполноценной эпителизации раны. Таким образом, несмотря на использование ксенокожи и ССК костного мозга в виде инъекций, в данном опыте не удалось достичь нормальной эпителизации кожи к концу эксперимента.

В группе О3 формирование грануляционной ткани началось на 3-и сутки, а пролиферация эпителия – на 14-е. Эпителизация раневой поверхности к окончанию эксперимента происходила в половине наблюдений. Это

свидетельствует о более быстрых регенеративных процессах по сравнению с контрольными группами, а также с группами O1 и O2, где стромальные клетки применяли в виде инъекции, а не на фибриновой подложке.

Самыми высокими темпами заживление ран происходило в группе O4, поэтому на описании гистологических изменений в ранах крыс из этой группы мы остановимся подробнее.

На 3-и сутки после операции некроз в ране не определялся, дном ее были либо глубокие слои гиподермы, либо мышечный слой. Определялись также фрагменты деградированной ксенокожи и фибриновый экссудат, частично замещенный тяжами фибробластов с немногочисленными нейтрофильными гранулоцитами. Под слоем фибрина определялись скопления ССК. В дне раны, на ее краях и окружающих мягких тканях обнаруживалось серозно-гнойное воспаление, а также умеренные циркуляторные расстройства. Кроме того, на краях и в дне раны, особенно вокруг скоплений ССК, определялось формирование островков грануляционной ткани (рис. 3). Строма мышечного слоя была отечна, очагово инфильтрирована нейтрофильными гранулоцитами. Саркоплазма мышечных клеток была представлена очагами базофилии, без признаков поперечной исчерченности.



Рис. 3. Скопления стромальных стволовых клеток под слоем фибрина и элементы деградированной ксенокожи с формированием грануляционной ткани крыс опытной группы (O4) на 3-и сутки. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

На 14-е сутки дно раны было представлено грануляционной тканью, расположенной на месте дермы и гиподермы, а в части наблюдений и в мышечном слое. В грануляционной ткани был хорошо выражен глубокий фиброзный слой, для которого характерно небольшое количество фибробластов, обилие фуксинофильных волокнистых структур, формирующих пучки, и меньшее по сравне-

нию с предыдущим сроком наблюдения количество сосудов. В краях раны и окружающих мягких тканях обнаруживалось слабо выраженное серозно-гнойное воспаление, а также умеренно выраженные циркуляторные расстройства. Саркоплазма мышечных клеток была уже эозинофильной, восстанавливалась поперечная исчерченность. В большей части наблюдений в краях раны обнаруживались тяжи пролиферирующего многослойного плоского эпителия с нарастанием его на грануляционную ткань. Эпителий был утолщен, клетки его базального слоя полиморфны (рис. 4). Иногда в эпителии отсутствовала дифференцировка слоев.

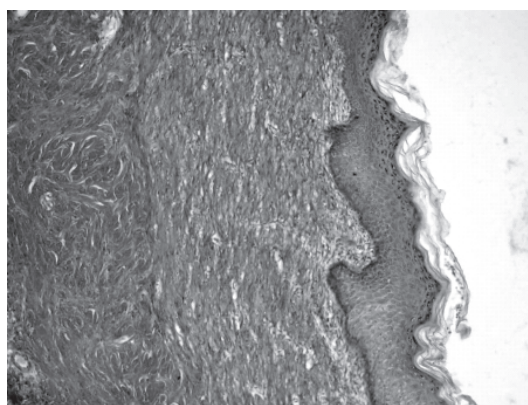


Рис. 4. Эпителизация созревающей грануляционной ткани с дифференцировкой слоев эпителия крыс опытной группы (O4) на 14-е сутки. Окраска по ван Гизон, $\times 100$

На 21-е сутки во всех наблюдениях отмечалось формирование на месте грануляционной ткани молодого соединительнотканного рубца. Верхние слои сформированной соединительной ткани были представлены нежной волокнистой структурой, содержащей клеточные элементы и тонкие слабо фуксинофильные волокна. Глубже находился слой более грубых фуксинофильных волокон, формирующих пучки. Отек, воспалительная инфильтрация и дистрофические изменения мышечного слоя не отмечались. Во всех наблюдениях имела место полная эпителизация раневой поверхности. В половине наблюдений регенерат приближался по строению к дерме, в нем обнаруживались волосяные фолликулы и сальные железы, а соединительнотканная основа по расположению волокон напоминала дерму (рис. 5).

Таким образом, в данной группе начало формирования грануляционной ткани приходилось на 3-и сутки, а начало пролиферации эпителия в краях раны – на 7-е, частичная эпителизация раневой поверхности – на 14-е сутки и формирование целостного эпителиального пласта имело место во всех наблюде-

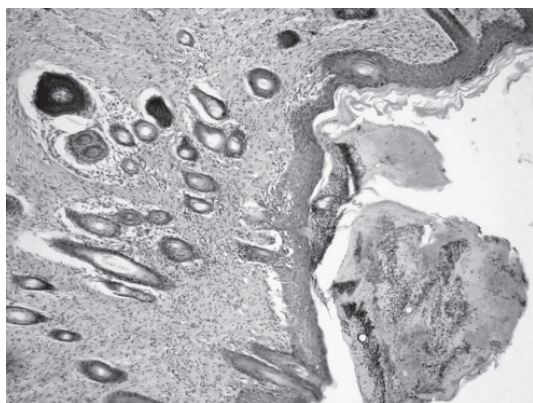


Рис. 5. Соединительнотканная основа регенерата крыс опытной группы (O4) на 21-е сутки, по расположению волокон напоминает дерму, имеет место образование волосяных фолликулов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

ниях к 21-м суткам. Данные темпы формирования рубца и эпителизации раны выгодно отличаются данную группу от всех предыдущих. Образование регенерата дермального типа было отмечено в двух наблюдениях.

Нам представляется, что наиболее эффективным в лечении ожоговых ран является комплексный подход, который определенным образом моделирует естественную структуру кожи и способствует ее более быстрому и нормальному формированию. Многие фирмы и исследователи предлагают в настоящее вре-

мя различные дермальные эквиваленты или их компоненты. Так, некоторые авторы в качестве подложки для культивирования фибробластов или СКК предлагают использовать биodeградируемые хитиновые пленки, полученные из панцирей ракообразных [9], другие применяют фибриновые шарики, покрытые СКК или фибробластами, для удержания этих клеток на поверхности раны [8]. В нашем исследовании впервые для лечения раневой поверхности при экспериментальном ожоге были использованы биodeградируемые фибриновые пленки, покрытые многослойной культурой СКК костного мозга крысы. В сочетании с ксенокожей и аутокератиноцитами это привело к ускорению заживления раны в 5 раз по сравнению с контролем (без лечения) и формированию регенерата дермального типа.

Выводы

1. Фибриновая пленка, покрытая стромальными стволовыми клетками костного мозга крысы, в сочетании с ксенокожей и аутокератиноцитами, может быть использована как эффективное средство при лечении некротизированных ожоговых ран.

2. Инъекции стромальных стволовых клеток костного мозга отдельно, а также в сочетании с ксенокожей ускоряют процесс эпителизации раны.

Литература

1. Алексеев А.А., Глуценко Е.В., Матчин Е.Н. Применение культуры фибробластов для лечения тяжелоожженных. Вестн. новых мед. технологий. Тула, 1995; 2, 1–2: 96–99.
2. Григорьева Т.Г. Новые технологии хирургического лечения обширных глубоких ожогов и их последствий. Междунар. мед. журн. 2002; 1–2: 116–121.
3. Михайлов Г.М., Лебедева М.Ф., Пинаев Г.П. и др. Новые тканые матрицы на основе рассасывающегося природного полисахарида хитина для культивирования и трансплантации клеток кожи человека. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2006; 4 (6): 56–61.
4. Саркисов Д.С., Алексеев А.А., Глуценко Е.В. и др. Теоретические и практические аспекты использования культивированных фибробластов при восстановлении целостности кожных покровов. Вестн. РАМН 1996; 6: 6–11.
5. Расулов М.Ф., Хаджибаев А.М., Уразметова М.Д. Применение аллогенных фибробластов при поверхностных термических повреждениях кожи. Мед. журн. Узбекистана 2001; 5–6: 87–88.
6. Шумаков В.И., Расулов М.Ф., Крашенинников М.Е. и др. Сравнительная оценка эффективности применения аллогенных эмбриональных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для терапии глубоких ожоговых ран. Вестн. трансплантологии и искусственных органов 2002; 4: 7–11.
7. Фісталь Е.Я., Попандопуло А.Г., Ануфрієва В.М. та ін. Перший досвід застосування культуральних аутофібробластів у потерпілих з глибокими опіками. Трансплантологія 2003; 4, 1: 193–194.
8. Naughton G.K. Skin and epithelia. Principles of tissue engineering. Ed. by R. Lanza, R. Langer, W. Chik. R.G. Langer Company 1997: 769–779.
9. Gorodetsky R., Clark R.A., An J. et al. Fibrin microbeads (FMB) as biodegradable carriers for culturing cells and for accelerating wound healing. J. Invest. Dermatol. 1999; 112 (6): 866–872.
10. Пат. 5671 UA. Спосіб лікування шкірно-м'язових ран та подолання дефіциту донорських ресурсів шкіри. О.К. Попсуйшапка, Т.Г. Григор'єва, О.В. Маркелова, О.Є. Грязін. 15.03.2005. Бюл. № 3.

ЗАСТОСУВАННЯ СТРОМАЛЬНИХ СТВОЛОВИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКІВ У ЩУРІВ

Т.Г. Григор'єва, О.В. Маркелова, О.А. Щегельська, Ю.Є. Микулинський, Н.І. Горголь

В умовах експериментальної термічної травми вивчена ефективність трансплантації стромальних стволових клітин (ССК) кісткового мозку у 78 тварин. При моделюванні глибоких опіків у щурів

застосовані різні методи лікування ран: хірургічні (первинна некректомія) та біологічні покриття, трансплантація ССК. Доведена ефективність застосування ССК разом з ксеношкірою та автотрансплантацією при лікуванні опікових ран.

Ключові слова: опік, цитопластика, стромальні стовбурові клітини, морфологія ранового процесу.

USING THE STROMAL STEM CELLS OF THE MARROW UNDER COMPLEX TREATMENT OF EXPERIMENTAL BURNS TO RATS

T.G. Grigorieva, E.V. Markelova, E.A. Shcegelskaja, Yu.Ye. Mikulinskyj, N.I. Gorgol

MSC transplantation efficiency has been studied under experimental thermal trauma to 78 animals. While modelling deep burns to rats there have been surgical (primary necrectomy), biological covering, MSC transplantation used methods of the treatment of wounds. There has been proved the efficiency MSC prick in combination with xenoskin and autotransplantation for treatment of burn wounds.

Key words: burn, cytoplasmic, stromal stem cells, morphology of wound process.

Поступила 13.09.07

МИГРАЦИЯ НЕЙРОИНДУЦИРОВАННЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРКИНСОНИЗМЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ИХ ВВЕДЕНИЯ

В.А. Пятикоп

Харьковский национальный медицинский университет

Показано, что введение нейроиндуцированных стромальных клеток животным с экспериментальным паркинсонизмом способствует раннему регрессу двигательных расстройств. С использованием специального маркера DDC установлено, что субокципитальное введение клеток приводит к их скоплению вокруг зоны деструкции, а интрацеребральное стереотаксическое – вызывает их миграцию в очаг анодного электролиза, что приводит к более раннему восстановлению утраченных двигательных функций.

Ключевые слова: *нейроиндуцированные стромальные клетки, паркинсонизм, миграция, маркер.*

Высокая эффективность корректирующего действия клеточной терапии при некоторых патологических процессах в нервной системе отмечена в ряде работ последних лет [1–3]. При этом большое внимание уделено сравнительной характеристике влияния криоконсервированных эмбриональных нервных клеток (КЭНК) и нейроиндуцированных стромальных клеток (НСК) на регресс двигательных расстройств при экспериментальном паркинсонизме и криогенной травме мозга у животных [4–7]. Ранее нами были описаны особенности миграции маркированных НСК у животных с моделью криогенной травмы мозга [6]. В частности, было показано, что меченные специальным красителем НСК при стереотаксическом введении мигрируют в область криогенной травмы, что способствует восстановлению двигательных расстройств и структуры головного мозга. Отмечено также, что стереотаксическое введение суспензии НСК более эффективно, чем субокципитальное. Сравнительная оценка эффективности нейротрансплантации КЭНК и НСК у животных с экспериментальным паркинсонизмом выявила более выраженный эффект восстановления нарушений при гиперкинезах и других двигательных нарушений у животных, которым трансплантировали НСК [8]. Однако особенности миграции НСК у животных с экспериментальным паркинсонизмом в зависимости от способа введения клеток остаются неизученными.

Целью настоящей работы было изучение особенностей миграции меченых НСК в зависимости от способа их введения при экспериментальном паркинсонизме.

Материал и методы. Исследование проведено на 18 половозрелых беспородных

крысах-самцах массой тела 300–350 г. Животных содержали в условиях, соответствующих правилам «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1985 г.).

Паркинсонизм моделировали с помощью двусторонней деструкции анодным током черной субстанции (SN) с использованием стереотаксического аппарата и атласа стереотаксических координат по описанной ранее методике [3]. После моделирования все животные были разделены на три группы по 6 в каждой: 1-я – контрольная с экспериментальным паркинсонизмом; 2-я – животные с экспериментальным паркинсонизмом, которым вводили НСК, маркированные красителем DDC стереотаксически; 3-я – животные с экспериментальным паркинсонизмом, которым вводили НСК, маркированные красителем DDC субокципитально. Клетки стромы костного мозга крыс выделяли из костного мозга бедренной кости животных, размножали в культуре до образования клеточного монослоя и под действием ретиноевой кислоты индуцировали в нейробласты [3]. НСК перед введением животным метили суправитальным зеленым флуоресцентным красителем DDC, который связывается с липидными компонентами клеточной мембраны без повреждения клетки и позволяет проследить миграцию меченых клеток внутри вещества головного мозга в течение двух недель [4]. Меченые клетки вводили через 7 суток после моделирования экспериментального паркинсонизма в количестве 5×10^5 стереотаксически и субокципитально. Гистологическое исследование (окраска гематоксилином и эозином) мозга всех животных про-

водили на 7-е сутки после введения НСК, то есть на 15-е сутки после моделирования экспериментального паркинсонизма, поскольку, по нашим данным, именно в эти сроки происходит максимальное восстановление двигательных нарушений [6].

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что типичные двигательные расстройства (тремор и ригидность мышц, «манежный» бег, монотонные движения головой, «вертикально поднятый» хвост, «горбоподобный» изгиб туловища, малоподвижность) у животных наступали в течение первых пяти суток, что было описано ранее [6].

Гистологическая картина участка головного мозга крысы на 8-е сутки после деструкции представлена на рис. 1. Видны явления умеренного перичеллюлярного отека, диффузной лимфатической инфильтрации, вакуолярной дистрофии и гибели нейронов. В этот период двигательные расстройства у животных достаточно выражены.

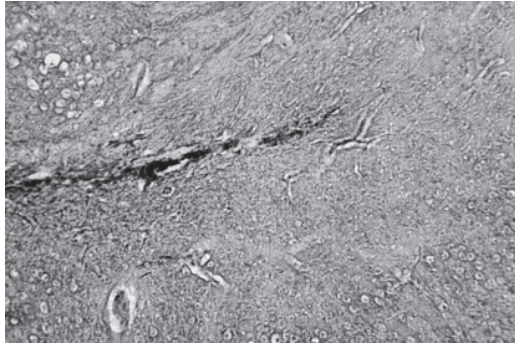


Рис. 1. Участок головного мозга крысы на 8-е сутки после электролитической деструкции. Окраска гематоксилином и эозином, об. 4, ок. 10

После введения НСК животным с экспериментальным паркинсонизмом в ликвор большой затылочной цистерны (субокципитально) на 7-е сутки после моделирования отмечался значительный регресс в нарушении движений, а люминесцентная микроскопия срезов мозга в области участка анодного электролиза показала четкое скопление маркированных клеток вокруг зоны анодного электролиза (рис. 2).

При анализе данных, полученных после введения меченых НСК стереотаксически, было установлено, что клетки при интрацеребральном введении имеют тенденцию к миграции непосредственно в зону проведенной электролитической деструкции (рис. 3).

Введенные НСК заполнили зону некроза вещества головного мозга крысы, образовавшуюся в результате анодного электролиза. Следует подчеркнуть, что регресс поведенческих расстройств и двигательных нарушений у животных этой группы происходил более интенсивно, чем у животных 1-й и 2-й групп.

Анализ данных, полученных в настоящей работе и в предыдущих исследованиях, проведенных на животных с моделью криогенной травмы мозга [4], позволил выявить особенности миграции меченых НСК. Так, интрацеребральное стереотаксическое введение стромальных клеток, индуцированных в нейробласты, приводит к появлению скоплений клеток именно в зоне деструкции, независимо от характера повреждения вещества мозга (криодеструкция или анодный электролиз) и от вида животного (кролики или крысы). В то же время введенные в спинномозговую жидкость НСК проявляют тенденцию к миграции в зону, окружающую

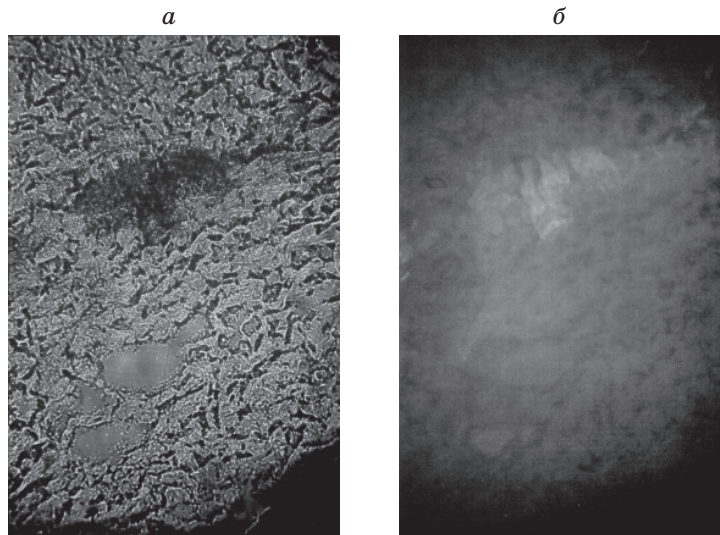


Рис. 2. Скопление маркированных DDC клеток, введенных субокципитально, вокруг зоны деструкции на 15-е сутки после моделирования экспериментального паркинсонизма. Световая (а) и люминесцентная (б) микроскопия, $\times 100$

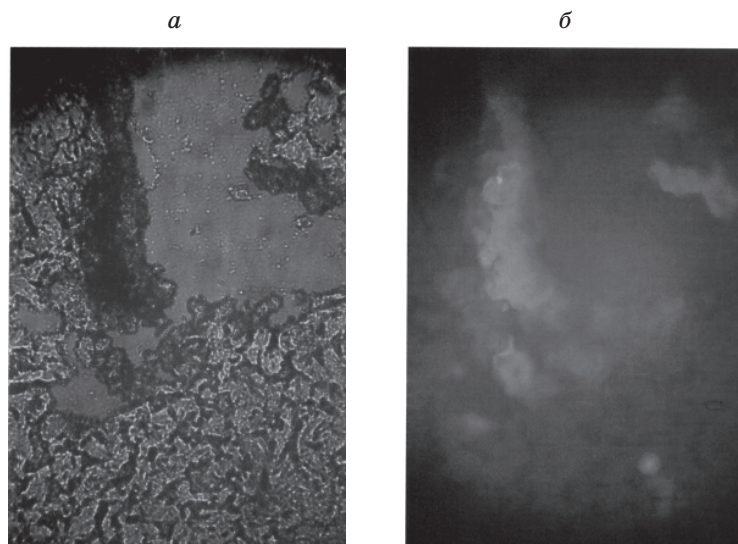


Рис. 3. Скопление маркированных DDC клеток, введенных стереотаксически, в зоне деструкции на 15-е сутки после моделирования экспериментального паркинсонизма. Световая (а) и люминесцентная (б) микроскопия, $\times 100$

очаг некроза. При этом более эффективное восстановление двигательных нарушений наблюдается у животных с локальным, внутримозговым введением НСК [4]. Кроме того, такие особенности миграции введенных субокципитально клеток могут способствовать формированию в зоне деструкции кистозной полости или глиального рубца. Это обстоятельство может иметь значение для клинической практики.

Выводы

1. Двусторонний анодный электролиз SN вызывает развитие характерных для модели паркинсонизма двигательных наруше-

ний в течение пяти суток, а также формирование очага гибели нейронов.

2. Введение меченых нейроиндуцированных стромальных клеток в ликворную систему приводит к скоплению клеток вокруг зоны деструкции и способствует восстановлению утраченных двигательных функций раньше, чем в контрольной группе животных с экспериментальным паркинсонизмом.

3. Интрацеребральная стереотаксическая трансплантация нейроиндуцированных стромальных клеток вызывает наиболее эффективный регресс двигательных расстройств, по-видимому, из-за миграции клеток в очаг анодного электролиза.

Литература

1. Нейрогенная дифференцировка стволовых клеток. Под ред. акад. АМН Украины Ю.А. Зозули, проф. Н.И. Лисяного. К., 2005. 365 с.
2. Цымбалюк В.И., Медведев В.В. Нейрогенные стволовые клетки. К., 2005. 587 с.
3. Gerlach M., Braak H., Hartmann A. et al. Current state of stem cells research for the treatment of Parkinson's disease. J. Neurology 2002; 249, Suppl. 3: III/ 33–35.
4. Пятикоп В.А., Карамышев В.Д., Шеверева В.М., Дворцовой В.К. Гистологический анализ изменений тканей головного мозга крыс с экспериментальным паркинсонизмом до и после трансплантации криоконсервированных эмбриональных нервных клеток. Проблемы криобиологии 2006; 16, 2: 211–215.
5. Пятикоп В.А., Щегельская Е.А., Микулинский Ю.Е. и др. Восстановление структурно-функциональных параметров у крыс с криогенной травмой головного мозга после трансплантации клеток стромы костного мозга, индуцированных в нейробласты. Проблемы криобиологии 2005; 15, 3: 449–451.
6. Пятикоп В.А., Масловский С.Ю., Щегельская Е.А. и др. Эффективность трансплантации клеток стромы костного мозга, индуцированных в нейробласты, в зависимости от путей их введения при криогенной травме головного мозга в эксперименте. Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения 2006; 142, Ч. 1: 63–68.
7. Alvarez-Dolado M. et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. Nature 2003; 425: 968–973.
8. Пятикоп В.А., Григорова И.А. Сравнительная характеристика динамики двигательных нарушений и их сопоставление с морфофункциональными особенностями при экспериментальном паркинсонизме после введения криоконсервированных эмбриональных нервных клеток и нейроиндуцированных *in vitro* стромальных клеток. Укр. вісник психоневрол. 2007; 15, 1: 51–53.

МІГРАЦІЯ НЕЙРОІНДУКОВАНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРКІНСОНІЗМІ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СПОСОБУ ЇХ ВВЕДЕННЯ***В.О. П'ятикоп***

Показано, що введення нейроіндукованих стромальних клітин тваринам з експериментальним паркінсонізмом сприяє ранньому регресу рухових порушень. З використанням спеціального маркера DDC встановлено, що субокципітальне введення клітин приводить до їх накопичення навколо зони деструкції, а інтрацеребральне стереотаксичне – викликає їх міграцію у вогнище анодного електролізу, що приводить до більш раннього відновлення втрачених рухових функцій.

Ключові слова: *нейроіндуковані стромальні клітини, паркінсонізм, міграція, маркер.*

NEUROINDUCED STROMAL CELLS MIGRATION DEPENDING ON THE WAY OF THEIR INJECTION UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL PARKINSONISM***V.A. Pyatikop***

Injection of neuroinduced stromal cells to the animals with experimental parkinsonism was shown to promote early regress of motion disorders. The usage of special marker DDC made possible to find out that suboccipital cells injection results in their accumulation around the destruction area and intracerebral stereotaxic cells injection causes their migration into anode electrolyse area that results in earlier restoration of the lost motion functions.

Key words: *neuroinduced stromal cells, parkinsonism, migration, marker.*

Поступила 28.11.07

МЕХАНІЗМ ВКЛЮЧЕННЯ ТРОМБОПЛАСТИНОВОГО ФАКТОРА ЕРИТРОЦИТІВ У ПРОЦЕС ТРОМБОПЛАСТИНОУТВОРЕННЯ

Н.М. Кононенко

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Тромбопластиновий фактор еритроцитів локалізується в глибоких шарах клітинної мембрани еритроцита. Під впливом трипсину від мембрани еритроцита відщеплюється сіалопротейд поверхневого шару мембрани клітини і при цьому знижується тромбопластинова активність еритроцитів. Одним з механізмів включення тромбопластинового фактора в процес тромбопластиноутворення є збереження сіалопротейду поверхневого шару мембрани клітини, який грав роль посередника між тромбопластиновим фактором еритроцитів і активованими факторами зсідання плазми.

Ключові слова: *еритроцити, тромбопластинова активність, зсідання крові, мембрана еритроцита, сіалопротейд.*

Зсідання крові – це сума процесів, що призводять до переходу крові з рідкого стану в гелеподібний, тобто до тромбоутворення. Серед цих процесів найкраще вивчені зміни, що відбуваються в тромбоцитах. З початку 50-х і до кінця 60-х рр. ученими робилися спроби вивчити вплив гемолізованих еритроцитів на процес внутрішнього тромбоутворення [1]. Однак їх роботи носять одиничний характер. Раніше був відзначений неспецифічний характер тромбопластинової активності гемолізованих еритроцитів, тому що будь-яка зруйнована клітина (у тому числі пухлинна, статева) має подібні ефекти [2]. Лише вивчення впливу цілих еритроцитів може дати відповідь на питання про фізіологічну роль еритроцитів у процесі тромбопластиноутворення. Вивчення тромбопластинової активності цілих еритроцитів дуже важливе, оскільки еритроцити складають основну масу клітин крові і мають потенційно надзвичайно високу тромбопластинову активність.

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що інтактні еритроцити підвищують тромбопластинову активність плазми завдяки наявності тромбопластинового фактора еритроцитів (ТФЕ) [3]. У зв'язку з цим метою даного дослідження було вивчення механізму включення ТФЕ в процес тромбопластиноутворення.

Матеріал і методи. Досліди проведено на 40 нелінійних щурах-самцях масою 180–200 г. Порівнювали тромбопластинову активність цілих і зруйнованих еритроцитів після обробки цілих клітин протеолітичним ферментом (трипсином) і оцінювали її за здатністю підвищувати тромбопластинову активність плазми у відсутність тромбоцитів. Визначали генерацію тромбіну за методом

Pitne і Dacie, час рекальцифікації за методом Howell [4] і вивчали тромбоеластограму. Поряд з абсолютними величинами визначали і відносні показники: індекс порівняльної активності еритроцитів (ІПАЕ) – відношення абсолютної величини показника в плазмі, що містить трипсинізовані еритроцити, до абсолютної величини даного показника в плазмі з нормальними еритроцитами та індекс порівняльної активності гемолізату (ІПАГ), що рахувався аналогічно ІПАЕ. Для одержання трипсинізованих еритроцитів відмиті еритроцити обробляли розчином кристалічного ферменту за методом Доссе [5]. У першій серії досліду брали 0,1%-вий розчин трипсину з використанням концентрованої суспензії еритроцитів (4,0–4,5 млн у 1 мм³) і інтактні еритроцити у такій самої концентрації; у другій серії досліду для більш глибокого ферментативного впливу на клітину використовувалася 0,4%-вий розчин трипсину і завись еритроцитів у більшому розведенні (800–900 тис. в 1 мм³) і інтактні еритроцити у відповідному розведенні. Гемолізат із відмитих еритроцитів, трипсинізованих клітин готували з таким розрахунком, щоб за концентрацією еритроцитів (тут – зруйнованих) він точно відповідав суспензії еритроцитів у відповідному розведенні. Також вивчали вплив нормальних і трипсинізованих еритроцитів, гемолізату нормальних і трипсинізованих еритроцитів на генерацію тромбіну в плазмі при розведенні суспензії еритроцитів (гемолізату) 1 : 10, трипсин – 0,4%-вий розчин. Швидкість осідання еритроцитів визначали за допомогою мікрометоду Т.П. Панченкова [6], агрегаційну активність еритроцитів – за методом Н.В. Іванова [4]. Результати досліджень об-

робили за допомогою методів параметричної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Відомо, що в результаті ферментативної дії на білкову частину ліпопротеїду, який має певну біологічну активність, остання втрачається чи стає значно менш вираженою [7]. Тому у разі розташування ТФЕ (ліпопротеїду) в мембрані поверхнево, очікували ушкодження його під впливом трипсину і внаслідок цього зниження тромбопластинової активності клітини, що зберігається і після її руйнування. Між тим нами не виключалася можливість посилення прокоагулянтної активності трипсинізованої клітини. Останнє свідчило б на користь глибокої локалізації ТФЕ і одночасно про «бар'єрну» роль сіалопротеїду зовнішнього шару мембрани, що перешкоджає взаємодії клітинного фактора з плазмовими.

Уточнювалась локалізація ТФЕ в мембрані еритроцита і вплив останнього на тромбопластинову активність. Під час проведення першої серії дослідів встановлено, що трипсинізовані еритроцити знижують тромбопластинову активність крові, що виявлялося збільшенням часу рекальцифікації й уповільненням генерації тромбіну (подовження параметрів *r* і *k* тромбоеластограми), таблиця. Індекс порівняльної активності еритроцитів для даних показників збільшився (>1). У другій серії дослідів при використанні суспензії еритроцитів у більшому розведенні і оброблених більш концентрованим розчином ферменту зміни тромбопластинової активності еритроцитів були більш вираженими. При цьому ІПАЕ перевищив величину показника в досліді попередньої серії.

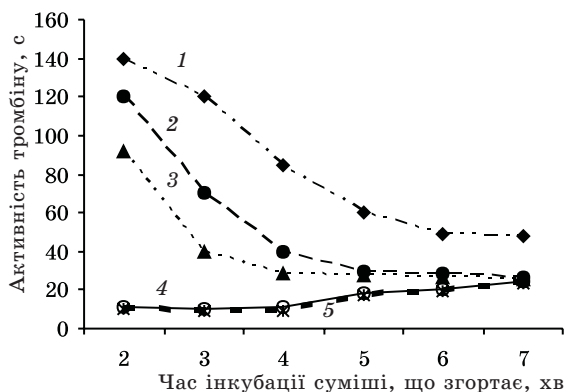
Необхідно підкреслити, що вплив гемолізату нормальних і трипсинізованих еритроцитів на генерацію тромбіну в плазмі вірогідно не різнився (рисунок). Після обробки еритроцитів трипсином число неагрегованих клітин зменшилося в 4,2 раза (при нормі 25 %), а швидкість осідання еритроцитів зросла в 3,8 раза (норма 10 мм/год). Під впливом трипсину від мембрани еритроцита відщеплюється переважно глікопротеїновий комплекс – сіалопротеїд, який, за сучасними уявленнями, займає зовнішнє положення в мембрані еритроцита [8].

З відщепленням від клітинної мембрани сіалопротеїду змінюються її поверхневі властивості і, зокрема, електронегативність [8], з чим, на нашу думку, пов'язані посилення агрегації і зниження суспензійної стабільності трипсинізованих еритроцитів. Зниження активності ТФЕ після трипсинізації зумовлене частковим зменшенням впливу еритроцитарного фактора, але не пов'язане з придбанням певною частиною еритроцитів гальмівних властивостей у відношенні власне процесу тромбопластинування. Останнє можна було б пояснити збереженням на поверхні відмитих еритроцитів деякого числа адсорбованих молекул трипсину [9]. Проти подібного допущення свідчить, однак, той факт, що в малій концентрації трипсин має активізуючий вплив на тромбопластинування [9]. Можливість придбання трипсинізованими еритроцитами гальмівних властивостей не підтверджується й при аналізі впливу трипсинізованих еритроцитів на процес тромбопластинування в плазмі, багатій на тромбоцити; зниження рівня тромбопластинування при цьому не спо-

Результати впливу нормальних і трипсинізованих еритроцитів на показники тромбопластинування ($X \pm x$; $n=10$)

| Показник | I серія дослідів | | II серія дослідів | |
|---|------------------|-----------|-------------------|-----------|
| | ІПАЕ | ІПАГ | ІПАЕ | ІПАГ |
| Час рекальцифікації, с | 1,20±0,01* | 0,90±0,01 | 1,40±0,04* | 1,00±0,01 |
| Сумарна активність тромбіну, с, за період, хв | | | | |
| 2-4 | 1,20±0,02* | 0,9±0,1 | 1,5±0,1* | 1,00±0,01 |
| 5-7 | 1,10±0,02 | 1,1±0,1 | 1,3±0,1* | 0,90±0,01 |
| 2-7 | 1,20±0,02* | 0,90±0,01 | 1,5±0,2* | 0,90±0,01 |
| Максимальна активність тромбіну, с | 1,1±0,2 | 0,90±0,02 | 1,4±0,1* | 0,90±0,01 |
| Тромбоеластограма | | | | |
| α° | 0,90±0,04 | – | 0,80±0,08 | 1,10±0,01 |
| r, с | 1,1±0,1 | – | 1,30±0,01* | 0,80±0,02 |
| R, с | 1,3±0,1 | – | 1,5±0,2* | 0,9±0,1* |

* $p < 0,05$ між середніми величинами ІПАЕ та ІПАГ для даної серії дослідів.



Вплив нормальних, трипсинізованих еритроцитів і гемолізату на генерацію тромбіну в плазмі, бідну на тромбоцити. Розведення зависі еритроцитів (гемолізату) 1 : 10, трипсин – 0,4% -вий розчин:

1 – генерація тромбіну в плазмі до впливу (контроль); 2 – після додавання трипсинізованих еритроцитів; 3 – після додавання нормальних еритроцитів; 4 – після додавання гемолізату нормальних еритроцитів; 5 – після додавання гемолізату трипсинізованих еритроцитів

стерігалося. Зниження активності ТФЕ, на нашу думку, не пов'язане з безпосереднім ушкодженням фактора протеолітичним ферментом. У випадку прямого впливу трипсину на білкову частину ліпопротеїду з прокоагулянтною активністю зниження прокоагулянтної активності клітини збереглося б і після її руйнування, як це, зокрема, спостерігалося при обробці трипсином гемолізованих еритроцитів [9]. Можна припустити, що зникнення обговорюваних розходжень після руйнування клітини пов'язане з тим, що надлишкова тромбопластинова активність гемолізату маскує часткове зменшення тромбопластинової активності в цілій клітині. Проти цього, однак, свідчить те, що і при використанні гемолізату з меншою активністю нормальних і трипсинізованих еритроцитів зниження активності не виявлено. Якщо в цілій клітині трипсин безпосередньо не ушкоджує ліпопротеїд із прокоагулянтною активністю, то ми вважаємо, що ТФЕ розта-

шовується не поверхнево, а знаходиться в більш глибоких шарах цитоплазматичної мембрани. Це підтверджується нашими даними про асиметричне розташування різних фосфоліпідів у клітинній мембрані з локалізацією фосфатидилсерину і фосфатидилетаноламіну (які мають тромбопластинову активність) у внутрішніх шарах мембрани еритроцитів людини [10]. В останньому випадку варто було б очікувати, що відщеплення під впливом трипсину зовнішнього компонента зовнішнього шару мембрани полегшить взаємодію «зануреного» у мембрану еритроцитарного фактора з факторами плазми, як це відомо, зокрема, у відношенні так званого Т-феномена [11] і ряду інших імунологічних реакцій. Ефект, однак, спостерігався зворотний.

Отже, ТФЕ локалізується в глибоких шарах клітинної мембрани еритроцита і для повного прояву активності має потребу в сіалопротеїді зовнішнього шару мембрани клітини, який відіграє роль своєрідного посередника. Оптимальному контакту ТФЕ з плазмовими факторами повинно відповідати наближення його до поверхні мембрани еритроцита. Це досягається, цілком ймовірно, перебудовою внутрішньої структури клітинної мембрани в результаті взаємодії зовнішньо розташованого сіалопротеїду з активованими факторами зсідання плазми.

Висновки

1. Під впливом трипсину від мембрани еритроцита відщеплюється сіалопротеїд зовнішнього шару мембрани клітини, при цьому знижується тромбопластинова активність еритроцитів.

2. Одним із механізмів включення тромбопластинового фактора еритроцитів у процес тромбопластиноутворення є збереження сіалопротеїду зовнішнього шару мембрани клітини, що відіграє роль своєрідного посередника між тромбопластиновим фактором еритроцитів і активованими факторами зсідання плазми.

Література

1. Макаров В.А. Патология гемостаза. Пат. физиол. и эксперим. терапия 1998; 4: 40–48.
2. Грицюк А.И., Амосова Е.Н., Грицюк И.А. Практическая гемостазиология. К.: Здоров'я, 1994: 26–31.
3. Кононенко Н.М. Вплив інтактних еритроцитів на тромбопластинову активність плазми. Тези доп. IV Міжнар. мед.-фарм. конгресу «Ліки та Життя». К., 2007: 99–100.
4. Баркаган З.С. Исследование системы гемостаза в клинике (методические указания). Барнаул, 1975: 73–121.
5. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 368 с.
6. Макаров В.А., Козинец Г.М., Арутамян Ю.С., Ащуров Г.Д. Исследование системы крови в клинической практике; Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.
7. Иванов Е.П. Руководство по гемостазиологии: Нормальные и нарушенные функции системы гемостаза, клинико-лабораторная диагностика кровотечений, тромбозов и ДВС-синдрома. Минск: Беларусь, 1991. 302 с.

8. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. М.: «Ньюдиамед-АО», 1999. 224 с.

9. Шиффман Фред Дж. Патология физиологии крови. Пер. с англ. М.: «Изд-во БИНОМ» – СПб.: «Невский диалект», 2001. 448 с.

10. Кононенко Н.М. Дестабілізація ліпідних структур еритроцитів при зсіданні крові. Ліки 2007; 3: 50–54.

11. Новиков Д.К. Медицинская иммунология. Минск: Выш. шк., 2005. 301 с.

МЕХАНИЗМ ВКЛЮЧЕННЯ ТРОМБОПЛАСТИНОВОГО ФАКТОРА ЭРИТРОЦИТОВ В ПРОЦЕСС ТРОМБОПЛАСТИНООБРАЗОВАНИЯ

Н.Н. Кононенко

Тромбопластиновый фактор эритроцитов локализуется в глубоких слоях клеточной мембраны эритроцита. Под влиянием трипсина от мембраны эритроцита отщепляется сиалопроteid наружного слоя мембраны клетки и при этом снижается тромбопластиновая активность эритроцитов. Одним из механизмов включения тромбопластинового фактора эритроцитов в процесс тромбопластинообразования является сохранность сиалопротеида наружного слоя мембраны клетки, играющего роль посредника между тромбопластиновым фактором эритроцитов и активированными факторами свертывания плазмы.

Ключевые слова: эритроциты, тромбопластиновая активность, свертывание крови, мембрана эритроцита, сиалопроteid.

MECHANISM INCORPORATION OF THE THROMBOPLASTINIC FACTOR ERYTHROCYTES IN PROCESS FORMATION OF THROMBOPLASTIN

N.N. Kononenko

Thromboplastinic factor erythrocytes is localized in profound layer cellular membrane erythrocyte. Under influence of trypsin from membrane erythrocyte is chipped off sialoproteid externally layer membrane of the cell and herewith falls thromboplastinic activity of erythrocytes. One of the mechanism incorporation of the thromboplastinic factor of erythrocytes in process formation of thromboplastin is safety sialoproteid externally layer membrane of the cell, playing role messenger between thromboplastinic by factor of erythrocytes and actuated factor of the blood-clotting sequence.

Key words: erythrocytes thromboplastinic, blood-clotting sequence, membrane erythrocytes, sialoproteid.

Поступила 27.06.07

ОСОБЛИВОСТІ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ ЛЮДИНИ ПРИ ТРИВАЛОМУ ПЕРЕБУВАННІ В АНТАРКТИЦІ

Є.В. Моїсеєнко

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ

Наведені результати медико-біологічного обстеження учасників тривалої антарктичної експедиції. Показано, що внаслідок впливу на організм людини кліматичних умов можуть проявлятися ознаки оксидативного стресу, прихованої гіпоксії. Обговорюється роль порушень прооксидантно-антиоксидантного статусу у формуванні компенсаторних механізмів при дії гіпоксичного стимулу у зимівників антарктичної станції.

Ключові слова: зимівники антарктичної експедиції, кліматичні умови, оксидативний стрес, латентна гіпоксія.

Процес адаптації практично здорової людини до специфічних клімато-географічних умов високих широт супроводжується досить виразним функціональним напруженням усіх фізіологічних систем організму, особливо тих, які беруть участь у його забезпеченні киснем. Згідно з гіпотезою «синдрому полярного напруження» [1], організм людини потерпає від впливу надзвичайних факторів навколишнього середовища у високих широтах, особливо підвищеної геомагнітної активності внаслідок частих неперіодичних коливань магнітного поля Землі. Первинні зрушення на клітинному і тканинному рівнях реалізуються у змінах енергетичного обміну, які, у свою чергу, викликають необхідність функціональних перебудов у системах зовнішнього дихання, кровообігу та крові. Причини модифікації адаптаційних перебудов в організмі людини можуть бути неперіодичні коливання атмосферного тиску з превалюванням циклонічної погоди, проходженням теплих фронтів і фронтів оклюзії. Такі умови формують «зовнішню гіпоксію рівнин», яка сприяє суттєвому зниженню вмісту кисню в атмосферному повітрі. На підставі положення про «синдром полярного напруження» велися спроби визначення найбільш загальних і специфічних ланок метаболічних і поведінкових реакцій, які можуть лімітувати процес адаптації людини у полярних широтах. При тривалих експедиційних роботах в Антарктиці людина постійно знаходиться під впливом низки екстремальних факторів, у результаті чого у членів екіпажу станції періодично виникає «антарктичний синдром», проявляються дизадаптаційні та десинхронозні розлади функцій організму і особливо його киснетранспортних систем [2]. Тому метою роботи було визначення особливостей проокси-

дантно-антиоксидантного статусу та його вірогідної ролі у перебудовах функціонування киснетранспортних систем організму в антарктичних зимівників.

Матеріал і методи. У медико-біологічних дослідженнях приймали участь 15 чоловіків-фахівців експедиційного екіпажу антарктичної станції «Академік Вернадський» (65°14'43"S; 64°15'24"W), які перебували в Антарктиці упродовж 13 місяців. Середній віковий рівень обстежуваних складав (43,1±2,9) року.

Всі протоколи досліджень відповідали положенням Конвенції з біоетики Ради Європи (1997) і були затверджені Комітетом з біомедичної етики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця. Кожен з учасників дослідження підписав згоду на участь у дослідженнях.

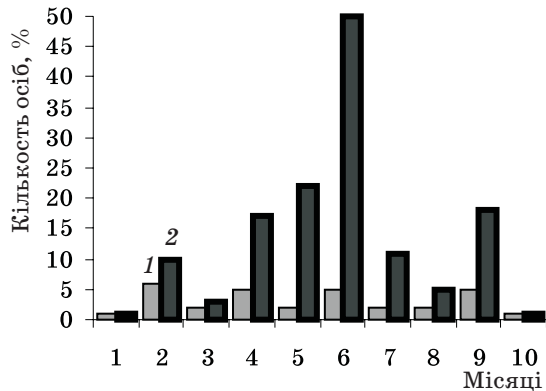
Медико-біологічні обстеження проводились у режимі медичного відбору до участі в експедиції, моніторингу стану функціональних систем організму упродовж діяльності на станції, одразу після повернення із експедиції і у віддалені строки після експедиції.

Моніторинг електричної активності мозку та серця учасників експедиції виконувався за допомогою телемедичних технологій фірми TREDEX (Україна). Загальноприйняті лабораторні методи використовували для визначення вмісту катехоламінів і кортикостероїдних гормонів у сечі (флуорометрія), активність супероксиддисмутази (СОД) і вміст малонового діальдегіду визначали у сироватці крові за загальноновизнаними методиками [3]. Показники газообміну та кисневих режимів організму розраховували з використанням математичного моделювання за методом А.З. Колчинської [4]. Генотипування проводили з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції [5].

Використано програмний метод математичної обробки даних з розрахунками індивідуальних оціночних критеріїв кисневих режимів організму зимівників [4].

Результати досліджень статистично обраховані з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Аналіз щоденного бліцтестування зимівників упродовж експедиції на станції «Академік Вернадський» засвідчив наявність індивідуальних розладів у самопочутті практично в усіх членів екіпажу станції (рисунок).



Динаміка кількості осіб (1) та випадків погіршення настрою зимівників (2) під час тривалої антарктичної експедиції

Найбільша кількість зимівників потерпала від означеного симптомокомплексу в початковий період адаптації (перші місяці), протягом антарктичної зими та наприкінці експедиції. Під час зими у окремих зимівників формувалися стійкі порушення настрою з ознаками депресії, що вело до самоізоляції, формування мікрогруп і негативно впливало на взаємовідносини в колективі. Зрушення психоемоційного стану в окремих зимівників стабілізувалися, але не до кінця, часом утримувалися і після повернення із Антарктики.

По закінченні експедиції у більшості членів екіпажу реєструвалися ознаки депресії, загальмованості, дратівливості, підвищеної мінливості настрою, що супроводжувалися зростанням частки низькочастотних ритмів у спектрі потужностей біологічних ритмів електроенцефалограми [6]. Виявлено, що наприкінці зимівлі відмічається зменшення потужності високочастотних ритмів

(бета- і гамма-активності на 2,4 та 1,2 % відповідно), потужність альфа-ритму зменшувалася на 3,8 %, потужності тета- і дельта-ритмів підвищувалися на 0,4 і 7,1 % відповідно. В цілому картина біоелектричної активності головного мозку характеризувалась тим, що на фоні майже подібних електрофізіологічних показників, зареєстрованих до і після зимівлі, значно зростала активність у дельта-діапазоні, що може свідчити про наявність підвищеного функціонального напруження ЦНС.

З іншого боку, при аналізі стану кисневих режимів організму зимівників після експедиції виявлялись ознаки як прихованої (латентної), так і компенсованої респіраторної гіпоксії [7]. При цьому були виявлені характерні зрушення показників прооксидантно-антиоксидантного статусу зимівників (таблиця).

За результатами біохімічного дослідження сироватки крові, у 100 % учасників експедиції було виявлено перевищення контрольної величини вмісту у ній сполук, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК), від 6,7 до 89,0 % (у середньому на 41,2 %). Останні є низькомолекулярними маркерами наявності оксидативного стресу, тобто активації вільнорадикальних перекисних процесів у організмі. При цьому у 80 % обстежених виявлено зниження активності антирадикального ферменту СОД з максимальним відхиленням від контролю на 58 %.

Отже, в учасників експедиції виявлена активація вільнорадикального ПОЛ з розгалуженням процесу ліпопероксидації, про що свідчило накопичення у сироватці крові його кінцевих продуктів – низькомолекулярних маркерів оксидативного стресу (ТБК-активних сполук). Про участь у цьому процесі вільнорадикального механізму свідчило зниження в обстежених активності антирадикального ферменту СОД, основною функцією якого є дисмутація однієї з активних форм кисню – супероксид-радикалу. Тобто йдеться про зниження ефективності перехоплення і дисмутації супероксидних радикалів ферментом СОД, що характерно для стресорного стану організму. Розвиток цього стану може бути зумовлений тривалим впливом комплексу факторів (геліогеофізичні та метеорологічні впливи, сенсорна депривація

Прооксидантно-антиоксидантний статус учасників антарктичної експедиції ($M \pm m$)

| Показник | Після експедиції | Контроль |
|---|------------------|------------|
| Концентрація ТБК-активних сполук у сироватці крові, ммоль/л | 593,1±26,6* | 420,0±80,0 |
| Активність СОД у сироватці крові, у. о. | 84,0±6,2* | 112,5±10,0 |

* Достовірність у порівнянні з контролем.

та біоритмологічна десинхронізація тощо), про що свідчать результати моніторингу психофізіологічних функцій людини впродовж зимівлі.

Визначення стану симпатико-адреналової системи людини при фаховій діяльності у високих широтах дає можливість відстежити роль гуморальних механізмів у розвитку нервово-психічного напруження, втоми, перебудови кисневих режимів організму. Результати досліджень показали, що на початковому етапі адаптації людини до умов Антарктики рівні екскреції катехоламінів (адреналін, норадреналін, дофамін, ДОФА) підвищувалися у порівнянні з вихідними до експедиції [відповідно (23,2±4,3) та (53,3±5,2) ммоль/л, $p<0,001$; (67,1±12,3) та (138,3±16,9) ммоль/л, $p<0,01$; (1749,6±476,5) та (7094,6±918,3) ммоль/л, $p<0,001$; (129,6±12,3) та (349,9±40,6) ммоль/л, $p<0,001$]. Після повернення із експедиції вказані величини вмісту катехоламінів у добовій сечі були на рівні вихідного стану, а деякі утримувалися на дещо підвищеному рівні [відповідно (35,1±7,2) ммоль/л, $p<0,2$; (91,9±25,9) ммоль/л, $p<0,5$; (2122,3±860,3) ммоль/л, $p>0,5$; (246,7±65,9) ммоль/л, $p<0,1$]. Рівень 17-оксикортикостероїдів у сечі зимівників після повернення з експедиції характеризувався тенденцією до підвищення від (0,25±0,04) у. о. (у вихідному стані) до (0,34±0,05) у. о. ($p<0,2$).

Таким чином, підтверджується наявність функціонального напруження у симпатико-адреналовій системі людини, особливо на етапі термінової адаптації до умов Антарктики (1-й місяць перебування на станції) та, меншою мірою, після повернення з експедиції.

Дослідження, проведені серед людей у приполярних регіонах, засвідчили зростання активності процесів ПОЛ у мембранних структурах клітин, що викликало наростання функціонального напруження у системі антиоксидантного захисту організму. Зрушення у прооксидантно-антиоксидантній рівновазі людини значно подовжували процес її адаптації до умов високих широт. Оскільки активація процесів переокиснення, очевидно, супроводжується порушеннями споживання кисню, то це може відігравати важливу роль у регуляції кисневого режиму організму у високих широтах. Такі відхилення в окисному гомеостазі нагадували адаптаційні реакції організму людини до впливу хронічної гіпоксії. Проте механізми розвитку «високоширотної» гіпоксії залишаються не до кінця з'ясованими [1].

Виявлені психофізіологічні розлади у людей у полярних широтах, які проявлялися у різні строки адаптації тимчасовою втратою сну, астенизацією, невротичними проявами,

«полярною» задихою, підвищеною стомлюваністю, також пояснюються певними однотипними біофізичними та біохімічними зрушеннями на рівні клітинних структур. Останні можуть бути першоосновою різноманітних індивідуальних проявів адаптаційного напруження, формування передпатологічних і патологічних станів організму. Основні положення гіпотези зводяться до того, що дія комплексу факторів високих широт проявляється на молекулярному рівні, а первинні порушення пов'язані з підвищенням швидкості генерації супероксидного радикалу кисню, зі збільшенням вмісту у клітинних мембранах гідроперексидів жирних кислот, зі зниженням антиокисної активності ліпідів і стійкості мембран еритроцитів до переокиснення ліпідів [1]. У відповідь на це збільшується активність ферментів антиоксидантної системи організму та підвищується стійкість мембранних структур до переокиснення. Очевидно, такі події на молекулярному рівні виступають у ролі первинних «шумових» факторів, які стимулюють формування подальших метаболічних реакцій на клітинному і тканинному рівнях, необхідних для адаптації людини до умов високих широт. Серед них найбільш суттєва роль належить перебудовам енергетичних потоків у організмі та генетичним механізмам, які забезпечують підвищення антиокисної активності і активують синтез ферментів-антиоксидантів. Ці адаптаційні механізми узгоджуються з численними іншими адаптаційними реакціями, спрямованими на забезпечення і підтримку енергетичних і пластичних потреб організму при стресі [8].

Одним з молекулярних механізмів пригнічення активності вільнорадикального ПОЛ у стадії термінової адаптації, окрім екстреної мобілізації ендогенних антиоксидантних ресурсів, є первинна реакція організму на стресорний вплив – підвищена секреція катехоламінів і кортикостероїдів наднирковими залозами, які, за фізіологічними нормами рН, здатні до нейтралізації супероксидних і радикальних форм кисню. Однак при цьому потрібно враховувати, що рання фаза стресу супроводжується порушенням органного кровообігу в мікроциркуляторному руслі. Внаслідок різких змін у швидкості кровотоку (гіпоксія-гіпероксія) відбувається надлишкове утворення вільних радикалів, які здатні ініціювати вільнорадикальний ПОЛ. До причин швидкої активації вільнорадикального ПОЛ після короточасного переходу у фазу термінової адаптації можна віднести поступове виснаження пулу ендогенних біоантиоксидантів, порушення мікроциркуляції, пригнічення активності СОД супероксид-ра-

дикалом, аутоокиснення катехоламінів і генерацію ними вільних радикалів через набуття здатності до радикалоутворення. Ключова роль у антирадикальному захисті організму належить процесові дисмутації супероксидних радикалів. На користь цього свідчить те, що накопичення низькомолекулярних продуктів вільнорадикального ПОЛ – маркерів оксидативного стресу – зворотно пропорційне інтенсивності перехоплення і дисмутації супероксидних радикалів.

Останніми роками оксидативний стрес розглядається як важливий компонент активації генетичного апарату, спрямованого на підвищення резистентності організму до впливу ушкоджуючих факторів навколишнього середовища. Гіпоксичний фактор стимулює біологічний синтез, який регулюється генною експресією. Він прискорює експресію гена еритропоетину, активує транскрипцію гена фактора росту судинного ендотелію. Згідно з даними багатьох дослідників, регуляція ДНК-зв'язуючої активності під впливом гіпоксії відбувається завдяки фактору HIF-1 (hypoxia-inducible factor), який було виділено з ядерного екстракту клітинної культури Нер-3В в умовах гіпоксії [9]. Однак цей фактор має індивідуальні структурні відмінності, що підтверджено наявністю його поліморфізму у зимівників (30 % відсотків учасників експедиції мали гетерозиготний тип HIF-1). Вивчення ролі поліморфізму означеного гена в регуляції кисневих режимів організму при гіпоксичній стимуляції знаходиться на початковому етапі і є завданням для подальших досліджень механізмів адаптації.

Отже, дослідженнями підтверджено наявність ознак розвитку стресу та порушень

режимів транспорту кисню в організмі людини під час тривалого перебування на антарктичній станції, що може призводити до виникнення дизадаптаційних розладів. Останні можуть провокувати виникнення головного болю, порушень нормального режиму сну та діяльності серцево-судинної системи, нестійкості психоемоційного стану, розвиток латентних форм гіпоксії, посилення втоми, зниження працездатності. Тому детальне вивчення патогенетичних механізмів становлення дизадаптаційних розладів буде основою для розробки ефективних профілактичних і лікувальних засобів.

Висновки

1. Експедиційна діяльність людини в Антарктиці супроводжується певними адаптаційними перебудовами функціональних систем організму, які характеризуються підвищенням напруженості психофізіологічних функцій та вірогідними порушеннями кисневих режимів з розвитком ознак латентної гіпоксії.

2. Особливості прооксидантно-антиоксидантного статусу людини при тривалому перебуванні в Антарктиці полягають у розвитку оксидативного стресу внаслідок тривалого комплексного впливу на організм антарктичних умов.

3. Зрушення в прооксидантно-антиоксидантному статусі людини під впливом тривалого перебування на антарктичній станції, очевидно, відіграють ключову роль у розвитку гіпоксичних станів і запуску генетичних антигіпоксичних механізмів, які можуть мати індивідуальні особливості в регуляції кисневих режимів організму.

Література

1. Казначеев В.П., Стригин В.М. Проблемы адаптации человека. Некоторые итоги и перспективы исследований. Новосибирск, 1978: 54–62.
2. Деряпа Н.Р., Давиденко В.И. Теоретические и прикладные аспекты проблемы адаптации человека в Антарктиде. Антарктика (Москва) 1988; 27: 203–218.
3. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. К.: Наук. думка, 1991. 256 с.
4. Колчинская А.З., Циганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. М.: Медицина, 2003. 408 с.
5. Melanie J. Percy, Sharon M. Mooney, Mary Frances McMullin et al. A common polymorphism in the oxygen-dependent degradation (ODD) domain of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) does not impair Pro-564 hydroxylation. Molecular Cancer 2003; 31, 2: 13–19.
6. Моисеенко Е.В., Середенко М.М., Качалин И.Г., Лящук А.И. Функциональное состояние кислородтранспортных систем организма при влиянии экстремальных факторов окружающей среды: Автоматизированный анализ гипоксических состояний. Нальчик–Москва, 2003: 176–180.
7. Маньковська І.М., Моїсеєнко С.В., Демченко М.П. та ін. Особливості перебудов функціональної системи дихання людини після тривалого перебування в умовах Антарктики. Фізіол. журн. 2005; 53, 3: 25–31.
8. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука, 1981. 278 с.
9. Semenza G.L., Rue E.A., Iyer N.V. et al. Assignment of the hypoxia-inducible factor 1-alpha gene to a region of conserved synteny on mouse chromosome 12 and human chromosome 14 q. Genomics 1996; 34: 437–439.

ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРЕБЫВАНИИ В АНТАРКТИКЕ***Е.В. Моисеенко***

Представлены результаты медико-биологического обследования участников длительной антарктической экспедиции. Показано, что вследствие влияния на организм человека климатических условий могут проявляться признаки оксидативного стресса, латентной гипоксии. Обсуждается роль нарушений прооксидантно-антиоксидантного статуса в формировании компенсаторных механизмов при действии гипоксического стимула на организм зимовщиков антарктической станции.

Ключевые слова: *зимовщики антарктической экспедиции, климатические условия, оксидативный стресс, латентная гипоксия.*

PROOXIDATION-ANTIOXIDATION BALANCE IN THE BODY OF WINTERERS IN CONDITIONS OF THE ANTARCTIC EXPEDITION***Е. V. Moiseyenko***

The article presents results of the monitoring of functional body systems in winterers in conditions of Academician Vernadsky Antarctic expedition. It is found, that as a result of the exposure of a combination of Antarctic factors signs of the state of stress can be manifested in the human body as well as oxidation stress and latent hypoxia. The part of disorders in the prooxidation-antioxidation status in formation of compensation mechanisms under the effect of hypoxia stimulus in the body of winterers at the Antarctic station is discussed.

Key words: *winterers of Antarctic expedition, climatic condition, oxidation stress, latent hypoxia.*

Поступила 21.09.07

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА С ТИРЕОИДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Хаддад Айхам Али, В.В. Давыдов

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Изучались возрастные особенности изменения состояния свободнорадикального окисления белков и липидов в субклеточных фракциях полушарий головного мозга крыс с экспериментальным гипотиреозом под влиянием интенсивной физической нагрузки (ИФН). Установлено, что у взрослых крыс и животных пубертатного возраста при экспериментальном гипотиреозе и после ИФН в мозге возникают проявления оксидативного стресса. Они выражаются в накоплении в митохондриальной и микросомальной фракциях мозга продуктов свободнорадикального окисления. При гипотиреозе ограничивается эффективность реализации прооксидантного действия физической нагрузки на митохондрии мозга. Обсуждается значение этого сдвига в возникновении нарушений в ЦНС при гипотиреозе.

Ключевые слова: *мозг, гипотиреоз, интенсивная физическая нагрузка, оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, свободнорадикальное окисление белков.*

Среди многочисленных проявлений гипотиреоза широкое распространение имеет поражение ЦНС [1]. Механизм его возникновения до настоящего времени не изучен. Анализируя данные литературы по этому вопросу, можно предположить существенные взаимосвязи центральных нарушений с формированием в организме больных с гипотиреозом оксидативного стресса [2], к повреждающему действию которого мозг проявляет высокую чувствительность. Вместе с тем систематизированных данных о состоянии свободнорадикальных процессов в головном мозге при заболеваниях, сопровождающихся недостаточностью функции щитовидной железы, в литературе нет. Принимая во внимание современные представления о физиологической роли оксидативного стресса [3], следует обратить внимание на то, что существенно больший интерес, чем просто определение базального уровня свободнорадикального окисления, представляет изучение особенностей реализации в мозге при гипотиреозе эффекта прооксидантных факторов. Подобные факторы появляются в организме под воздействием различных стрессоров, в том числе и при интенсивной физической нагрузке (ИФН) [4, 5].

Ввиду известных особенностей проявления гипотиреоза у детей и подростков и их роли в возникновении тяжелых осложнений этого заболевания в более зрелом возрасте [6] важно изучить возрастные аспекты данной проблемы. В связи со сказанным настоящая работа посвящена изучению возрастных особенностей изменения свободнорадикально-

го окисления белков и липидов в субклеточных фракциях полушарий головного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе в норме и в условиях ИФН.

Материал и методы. Работа выполнена на 28 крысах-самцах линии Вистар пубертатного (1,5-месячные) возраста, а также взрослых половозрелых крысах (12-месячные). Животных обеих возрастных групп разделили на четыре подгруппы: 1-я – интактные, 2-я – крысы, которые подвергались плаванию «до отказа», 3-я – животные, у которых воспроизводили экспериментальный гипотиреоз путем ежедневного в течение 15 дней внутрибрюшинного введения мерказолила из расчета 1 мг на 100 г массы [7], и 4-я – крысы с гипотиреозом, которые подвергались плаванию «до отказа». Эффективность воспроизведения гипотиреоза в использованной модели подтверждалась результатами исследования концентрации ТТГ, тироксина и трийодтиронина в крови [8].

Животных декапитировали. Экстирпировали головной мозг, который немедленно помещали в 0,9% -ный изотонический раствор NaCl, охлажденный до 4°C. Выделяли большие полушария головного мозга, отмывали от крови и использовали для приготовления 10% -ных гомогенатов на 0,32 М сахарозе (рН 7,4). Гомогенаты центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g. Надосадочную жидкость вновь подвергали центрифугированию при 10000 g в течение 20 мин. Надосадочную (постмитохондриальную) фракцию использовали для получения микросом [9], а осадок суспензировали с 5 мл 0,32 М

сахарозы (рН 7,4) и повторно центрифугировали 20 мин при 10000 g. Отмытый осадок суспензировали с 2 мл изотонического раствора NaCl и использовали в работе в качестве грубой митохондриальной фракции.

В пробах митохондриальной, постмитохондриальной и микросомальной фракции определяли содержание карбонилированных белков [10], флюоресцирующих соединений типа оснований Шиффа (ОШ) [11] и диеновых конъюгатов (ДК) [12]. В митохондриальной и микросомальной фракции измеряли скорость индуцированного свободнорадикального окисления белков и липидов [13]. Интенсивность индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ) рассчитывали по скорости накопления в реакционной смеси веществ, дающих положительную реак-

цию с 2-тиобарбитуровой кислотой [14]. В митохондриальной и постмитохондриальной фракции измеряли активность ферментов первой линии антиоксидантной защиты – каталазы [15] и супероксиддисмутазы [16] и рассчитывали индекс соотношения их активности. Содержание белка в пробах определяли по методу О. Lowry.

Полученные данные подвергали статистической обработке с помощью непараметрического метода Вилкоксона–Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что в митохондриях мозга взрослых крыс при ИФН и гипотиреозе возникают проявления оксидативного стресса (таблица), выражающиеся в накоплении продуктов ПОЛ (ДК и ОШ), а также карбонилированных белков, фенилгидразоны ко-

Изменение содержания продуктов свободнорадикального окисления в субклеточных фракциях мозга крыс с гипотиреозом под влиянием физической нагрузки ($M \pm m$; $n = 5-6$)

| Группа животных | Содержание продуктов | | | |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | ДК, нмоль/мг белка | ОШ, мкмоль/мг белка | КБ ₃₆₃ , нмоль/мг белка | КБ ₃₇₀ , нмоль/мг белка |
| <i>Митохондриальная фракция</i> | | | | |
| 1,5-месячные | | | | |
| интактные | 0,31±0,03 | 0,84±0,06 | 4,6±0,5 | 5,9±0,8 |
| ИФН | 0,39±0,09 | 0,72±0,07 | 10,2±0,7* | 7,5±1,0 |
| гипотиреоз | 0,22±0,02 | 0,57±0,03* | 8,1±0,4* | 4,8±0,5 |
| гипотиреоз + ИФН | 0,15±0,03 | 0,50±0,04 [@] | 7,5±1,4 | 3,8±0,3 |
| 12-месячные | | | | |
| интактные | 0,12±0,01 [#] | 0,42±0,04 [#] | 5,8±0,9 | 4,6±0,5 |
| ИФН | 0,27±0,01* | 0,83±0,04* | 7,6±1,0 | 11,8±1,1* |
| гипотиреоз | 0,28±0,04 | 0,65±0,06* | 4,6±0,4 | 8,8±0,8* |
| гипотиреоз + ИФН | 0,11±0,01 [@] | 0,52±0,04 | 4,2±0,4 | 7,2±1,3 |
| <i>Микросомальная фракция</i> | | | | |
| 1,5-месячные | | | | |
| интактные | 2,3±0,3 | 7,4±0,6 | 24,2±1,8 | 23,4±1,8 |
| ИФН | 3,5±0,1* | 7,3±0,3 | 33,3±7,7 | 26,0±6,3 |
| гипотиреоз | 3,7±0,3* | 8,6±0,6 | 34,5±5,2 | 29,3±3,4 |
| гипотиреоз + ИФН | 4,7±0,7* | 10,9±1,2* | 39,9±7,3* | 27,2±2,9 |
| 12-месячные | | | | |
| интактные | 1,12±0,01 [#] | 6,70±0,04 | 17,6±1,5 [#] | 16,1±0,7 [#] |
| ИФН | 3,9±0,3* | 7,2±0,3 | 21,2±0,9 | 14,3±1,2 |
| гипотиреоз | 4,3±0,9* | 7,3±0,5 | 24,1±3,0 | 18,4±1,3 |
| гипотиреоз + ИФН | 3,8±0,3* | 6,2±0,4 | 25,6±6,3 | 23,8±3,6* |

Примечания: 1. ДК – диеновые конъюгаты; ОШ – основания Шиффа; КБ₃₆₃ – карбонилированные белки с максимумом поглощения фенилгидразонов при 363 нм; КБ₃₇₀ – те же при 370 нм.

2. $p < 0,05$; * по отношению к интактным животным; # к интактным 1,5-месячным; ^ к животным с гипотиреозом.

торых имеют максимум светопоглощения, соответствующий 370 нм. Характерно, что уровень накопления продуктов ПОЛ в митохондриях мозга при гипотиреозе меньше, чем после ИФН.

У крыс с гипотиреозом происходит выраженное ограничение эффективности реализации прооксидантного действия ИФН на митохондрии мозга. У животных с гипотиреозом после ИФН содержание всех исследованных продуктов свободнорадикального окисления не отличается от такового у интактных крыс ($p > 0,05$), таблица. Вместе с тем концентрация продуктов свободнорадикального окисления в митохондриях мозга оказывается у них значительно ниже, чем у крыс без гипотиреоза, подвергнутых ИФН. Возникающие особенности в проявлении оксидативного стресса после ИФН дополняются еще и тем, что у животных с гипотиреозом, подвергнутых ИФН, исчезает обусловленный физической нагрузкой эффект стимуляции индуцированного ПОЛ в митохондриях (рис. 1). Характерно, что формирование подобных изменений не связано с нарушением функционирования митохондриальных ферментов первой линии антиоксидантной защиты (рис. 2).

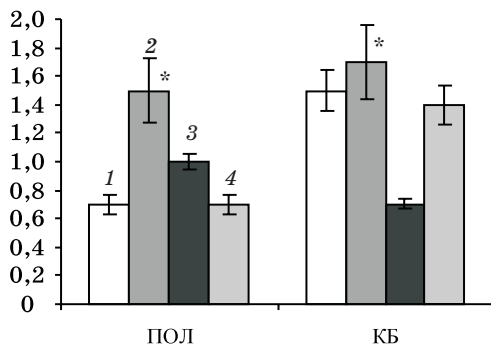


Рис. 1. Скорость индуцированного ПОЛ и индуцированного накопления карбонилированных белков (КБ), нмоль/мг белка-мин, в митохондриальной фракции мозга взрослых крыс ($n=5-6$).

* $p < 0,05$ к интактным: 1 – интактные; 2 – после интенсивной физической нагрузки (ИФН); 3 – с гипотиреозом; 4 – с гипотиреозом + ИФН

Таким образом, при гипотиреозе в митохондриях мозга формируются условия для ограничения проявлений прооксидантного эффекта физической нагрузки. Одной из причин этого может быть повышение устойчивости митохондрий к действию прооксидантов, отражением чего служит понижение в них скорости индуцированного ПОЛ. Возникновению этого изменения, в свою очередь, способствует увеличение содержания в митохондриях мозга при гипотиреозе продуктов свободнорадикального окисления белков и липидов.

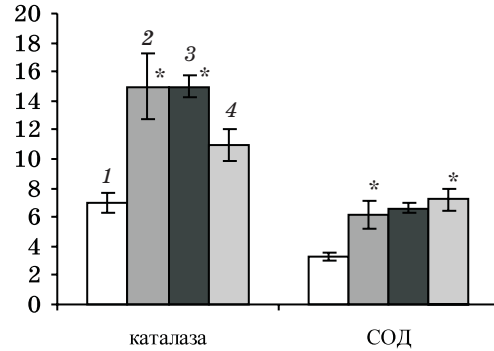


Рис. 2. Активность каталазы (мкмоль/мг белка \times мин) и СОД (ЕД/мг белка) в митохондриальной фракции мозга взрослых крыс ($n=5-6$). * $p < 0,05$ к интактным. 1–4 – те же, что и на рис. 1

Изменения аналогичной направленности возникают и у крыс пубертатного возраста, однако спектр их проявлений значительно меньше, чем у взрослых животных. Установлено, что у крыс пубертатного возраста после ИФН и при экспериментальном гипотиреозе происходит увеличение концентрации карбонилированных белков с максимумом поглощения фенолгидразонов, соответствующим 363 нм. Величина других исследованных показателей у них остается на уровне интактных крыс. Обнаруженный факт подтверждает точку зрения о том, что белки являются более чувствительной мишенью свободных радикалов, чем липиды [17]. На его основании можно констатировать возникновение проявлений оксидативного стресса в митохондриях мозга у крыс пубертатного возраста после ИФН и при экспериментальном гипотиреозе. Как и у взрослых животных, гипотиреоз у них ограничивает проявление прооксидантного действия физической нагрузки.

Оценивая причины понижения чувствительности мозга к действию прооксидантных факторов в периоде полового созревания, можно предполагать, что особая роль в этом принадлежит возрастным различиям в базальном уровне содержания продуктов свободнорадикального окисления в митохондриях. Действительно, концентрация продуктов ПОЛ (ДЖ и ОШ) в митохондриях мозга крыс пубертатного возраста существенно выше, чем у взрослых животных (таблица). Накопление продуктов окисления липидов и белков в митохондриальных мембранах способствует понижению их чувствительности к инициации свободнорадикальных процессов. С подобным предположением согласуются результаты экспериментов, связанных с изучением скорости индуцированного накопления карбонилированных белков, но не данные о состоянии индуцированного ПОЛ (см. рис. 1). В этой связи более коррект-

ным представляется мнение о том, что обнаруженные возрастные различия в базальном уровне свободнорадикального окисления липидов в митохондриях обусловлены возрастными различиями в их липидной структуре. Подобно митохондриям, в микросомальной фракции мозга при ИФН и экспериментальном гипотиреозе тоже усиливаются процессы свободнорадикального окисления (таблица). Однако возникающие в ней изменения имеют более ограниченный и не зависящий от возраста характер. Его проявлением при ИФН и экспериментальном гипотиреозе служит накопление первичных продуктов ПОЛ (ДК). В отличие от митохондрий, накопление ДК в микросомах происходит в равной мере при ИФН как у животных с гипотиреозом, так и без него. Различия в интенсивности стимуляции свободнорадикальных процессов в митохондриях и микросомах мозга могут быть обусловлены неодинаковой ролью этих субклеточных структур в процессе радикалообразования в нервных клетках. Основное значение в формировании проявлений оксидативного стресса в них имеют митохондрии, чему способствует интенсивный аэробный обмен мозга. Более того, усиление ПОЛ в микросомах мозга при гипотиреозе и ИФН может возникать из-за стимуляции радикалообразования в митохондриях.

Оценивая полученные результаты, можно прийти к заключению, что при гипотиреозе в мозге возникают проявления оксидативного стресса, обусловленные усилением процессов радикалообразования в митохондриях нервных клеток. Следствием их возникновения является накопление в них продуктов свободнорадикального окисления липидов и карбонилированных белков. В ре-

зультате этого создаются предпосылки для ограничения эффекта прооксидантных факторов, подтверждением чего служат данные об уменьшении проявлений прооксидантных эффектов физической нагрузки.

Ограничение реализации эффекта прооксидантных факторов имеет важное значение для мозга. Это обусловлено тем, что свободнорадикальные интермедиаты выступают в роли своеобразных посредников, обуславливающих взаимодействие между клеткой и внешней средой, обеспечивающих формирование в клетках адаптивных реакций [18, 19]. Ограничение эффективности образования свободнорадикальных продуктов в ответ на действие прооксидантов предопределяет нарушение реакции мозга на внешние стимулы, проявлением чего может служить угнетение ВНД при гипотиреозе. Эти сдвиги возникают как у взрослых половозрелых животных, так и у крыс, находящихся в периоде полового созревания. Однако в пубертатном возрасте их выраженность меньше, что может влиять на возникновение невротических расстройств при гипотиреозе в разные возрастные периоды.

Выводы

1. В мозге крыс с экспериментальным гипотиреозом, а также у животных, подвергнутых интенсивной физической нагрузке, возникают проявления оксидативного стресса.

2. У крыс с экспериментальным гипотиреозом ограничивается эффективность прооксидантного действия интенсивной физической нагрузки на митохондрии мозга. У животных пубертатного возраста проявление этого сдвига менее выражено, чем у взрослых половозрелых крыс.

Литература

1. *Зефирова Г.С.* Заболевания щитовидной железы. М.: Арт-Бизнес-Центр, 1999. 215 с.
2. *Das K., Chainy G.B.* Thyroid hormone influences antioxidant defense system in adult rat brain. *Neurochem. Res.* 2004; 29, 9: 1755–66.
3. *Schoneich C., Sharov V.S.* Mass spectrometry of protein modifications by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radical. Biol. Med.* 2006; 41, 10: 1507–20.
4. *Urso M.L., Clarkson P.M.* Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplement. *Toxicology* 2003; 189, 1–2: 41–54.
5. *Мохамед Салем Джазаэрли, Давыдов В.В.* Особенности формирования оксидативного стресса в печени крыс с гипотиреозом при интенсивной физической нагрузке в зависимости от возраста животных. *Укр. биохим. журн.* 2006; 78, 5: 81–87.
6. *Браверман Л.Е.* Болезни щитовидной железы. М.: Медицина, 2000. 432 с.
7. *Krasnikova O.A., Kavok N.S., Babenko N.A.* Drug-induced and postnatal hypothyroidism impairs the accumulation of diacylglycerol in liver and liver cells plasma membranes. *BMC Physiology* 2002; 2, 12: 9–11.
8. *Мохамед Салем Джазаэрли, Давыдов В.В.* Возрастные особенности изменения концентрации тиреоидных гормонов в крови при интенсивной физической нагрузке у крыс с экспериментальным гипотиреозом. *Міжнар. ендокринол. журн.* 2006; 2, 4: 78–80.
9. *Де-Пьер Ж., Дальнер Г.* Выделение, субфракционирование и характеристика эндоплазматической сети. *Биохим. исследование мембран.* М.: Мир, 1979: 75–123.
10. *Дубинина Е.Е.* Окислительная модификация белков плазмы крови больных с психиатрическими расстройствами. *Вопр. мед. химии* 2000; 4: 36–47.
11. *Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R.* Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research. London, 1991. 234 p.

12. *Стальная И.Д.* Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот. Со-временные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977: 66–68.
13. *Вьюшина А.В., Герасимова И.Г., Флеров М.А.* Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс, селектированных по скорости выработки условного рефлекса активного избегания, в норме и при стрессе. Бюл. эксперим. биол. и мед. 2002; 133, 3: 286–288.
14. *Muller G., Fruhant A., Mathias B.* Thiobarbituric acid-positive Substanzen als Indikatoren der lipid Peroxidation. Z. Gesamte. um. Med. und Grenzgeb. 1986; 41, 24: 673–676.
15. *Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М.* Перекисное окисление липидов и радиация. К.: Наук. думка, 1991. 256 с.
16. *Костюк В.А.* Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмута-зы, основанный на реакции окисления кверцетина. Вопр. мед. химии 1990; 36, 2: 28–35.
17. *Reinheckel T., Noack H., Lorenz S. et al.* Comparison of protein oxidation and aldehyde formation during oxidative stress in isolated mitochondria. Free Radic. Res. 1998; 29, 4: 297–305.
18. *Hensley K., Robinson K.A., Gabbita S.P. et al.* Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. Free Radical. Biol. Med. 2000; 28, 10: 1456–62.
19. *Mossan B.T.* Signal transduction by oxidants: look who's talking. Free Radical. Biol. Med. 2000; 28, 9: 1315–16.

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ З ТИРЕОЇДНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

Хаддад Аіхам Алі, В.В. Давидов

Вивчалися вікові особливості зміни стану вільнорадикального окиснення білків і ліпідів у субклі-тинних фракціях півкуль головного мозку щурів з експериментальним гіпотиреозом під впливом інтенсивного фізичного навантаження (ІФН). Встановлено, що у дорослих щурів і тварин пубертатно-го віку при експериментальному гіпотиреозі та після ІФН у мозку виникають прояви оксидативного стресу. Вони виявляються в накопиченні в мітохондріальній та мікросомальній фракціях мозку про-дуктів вільнорадикального окиснення. При гіпотиреозі обмежується ефективність реалізації про-оксидантної дії фізичного навантаження на мітохондрії мозку. Обговорюється значення цього зру-шення у виникненні порушень у ЦНС при гіпотиреозі.

Ключові слова: мозок, гіпотиреоз, фізичне навантаження, окислювальний стрес, перекисне окиснення ліпідів, вільнорадикальне окиснення білків.

AGE PECULIARITIES OF OXIDATIVE STRESS APPEARANCE IN RATS WITH HYPOTHYROIDISM

Khaddad Aikham Ali, V.V. Davydov

The age peculiarity of free radical protein oxidation and lipid peroxidation in brain of 1,5-months-old and 12-months-old rats with drug-induced hypothyroidism by exercises have been studied. It has been shown, that hypothyroidism at both 1,5-months and 12-months old rat is accompanied by appear oxidative stress in the brain. It manifests by increase content of lipid peroxidation products and protein carbonyls in mitochondrial and microsomal fraction. Hypothyroidism decreases prooxidant affect of exercises to brain mitochondria.

Key words: brain, hypothyroidism, exercises, oxidative stress, lipid peroxidation, free radical protein oxidation.

Поступила 04.10.07

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС И СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО В ХОДЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

В.П. Старенький, Л.П. Абрамова, М.К. Адейшвили-Сыромятникова*,
Л.Г. Диголь*, В.В. Мясоедов**

*Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева АМН Украины, г. Харьков
Харьковский национальный медицинский университет

Первичное обследование больных немелкоклеточным раком легкого выявило усиление процессов липопероксидации, что положительно коррелировало с исходно высокими уровнями микроэлементов: Ca, Fe, Mn, Cu, Zn. Состояние антиоксидантной защиты характеризовалось неоднозначными изменениями в различных ее звеньях. Проведение курса лучевой терапии, инициирующей каскады перекисных реакций, приводило к напряжению и срыву ферментного звена антиоксидантного потенциала организма, в результате чего происходила повторная активация перекисного окисления липидов. Вторичное повышение уровней железа и меди в конце курса лучевой терапии было связано с дестабилизацией клеточных мембран и усиленным лизисом клеток.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, микроэлементы, немелкоклеточный рак легкого, лучевая терапия.

Существенная роль свободнорадикальных процессов в жизнедеятельности организма на сегодняшний день доказана многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями [1, 2]. В то же время некоторые механизмы регуляции этих реакций в тканях организма и, в частности, перекисного окисления липидов (ПОЛ) изучены недостаточно. Не до конца выясненным остается вопрос о роли микроэлементов в поддержании активности антиоксидантных (АО) ферментов и об их влиянии на прооксидантно-антиоксидантный баланс в клетках и жидких средах организма.

Как известно, ионы металлов с переменной валентностью, такие как Fe, Cu, Zn, Mn, Co, Mg, Se, входят в состав многих ферментных систем, выполняя в активных центрах роль основного катализатора, и участвуют во многих окислительно-восстановительных реакциях и процессах ПОЛ [3]. Снижение уровня какого-либо микроэлемента или чрезмерное накопление его в тканях может указывать на изменения активности соответствующих АО-ферментов и существенно влиять на развитие патологических процессов путем регуляции ответных реакций клеток на воздействие окислительного стресса.

Изучение динамики содержания микроэлементов в крови и тканях позволяет более полно оценивать функциональную активность АО-систем и состояние различных звеньев ПОЛ, что расширяет возможности

оценки тяжести состояния больного, прогнозирования развития патологического процесса и эффективности проводимого лечения.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение интенсивности ПОЛ и активности АО-ферментов, а также уровня некоторых микроэлементов в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого в ходе проведения курса лучевой терапии (ЛТ).

Материал и методы. Были обследованы 54 мужчины в возрасте от 40 до 68 лет с немелкоклеточным раком легкого III стадии, проходившие курс дистанционной ЛТ в Институте медицинской радиологии им. С.П. Григорьева. ЛТ проводили по радикальной программе на аппарате РОКУС-АМ. Суммарная очаговая доза при стандартном режиме фракционирования (2 Гр x 5 фракций в неделю) составляла 55–65 Гр в зависимости от морфологической структуры и степени дифференцировки опухоли. Контрольную группу составили 20 здоровых мужчин (доноров) соответствующего возраста.

В сыворотке крови больных определяли содержание продуктов липопероксидации – диеновых конъюгат (ДК) [4] и малонового диальдегида (МДА) [5], активность АО-ферментов – церулоплазмينا (ЦП) [6] и глутатионпероксидазы (ГП) [7], а также содержание микроэлементов: Ca, Fe, Mn, Cu и Zn с помощью метода регистрации рентгеновского излучения, возбуждаемого в образцах ускоренными протонами [8]. Пучок протонов

с энергией от 1 до 3 МэВ получали на перезарядном ускорителе ПГ-5, с помощью которого можно определять практически все элементы, даже находящиеся в образцах в очень малых количествах.

Показатели определяли при поступлении больного в стационар, в середине и после завершения курса ЛТ. Кровь брали из локтевой вены утром натощак до проведения сеанса ЛТ. Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятыми методами [9] с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Обследование показало, что в сыворотке крови больных раком легкого при поступлении в стационар (то есть в период, предшествующий проведению курса ЛТ) наблюдалась выраженная активация перекисных процессов: повышение уровней ДК и МДА (таблица).

Динамика содержания продуктов ПОЛ и активности АО-ферментов в сыворотке крови обследованных больных ($x \pm Sx$) в ходе проведения лучевой терапии (ЛТ)

| Показатель | Контрольная группа доноров (n=20) | Группа больных, получавших ЛТ (n=54) | | |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------|------------------------|
| | | исх. данные | в середине курса | после завершения курса |
| ДК, мМ/л | 3,55±0,22 | 3,95±0,17 | 2,96±0,20 | 4,36±0,26* |
| МДА, мкМ/л | 4,65±0,27 | 6,57±0,42* | 4,88±0,26 | 5,84±0,42* |
| ЦП, у. е. | 182,0±13,8 | 356,0±25,3* | 273,0±15,7* | 202,0±16,5 |
| ГП, у. е. | 16,83±1,46 | 15,34±2,47 | 13,48±2,27* | 10,36±1,38* |

Примечания: 1. ЦП – церулоплазмин; ГП – глутатионпероксидаза.
2. * Достоверно относительно контрольной группы.

Активность одного из ключевых АО-ферментов – ЦП у обследуемых больных перед началом ЛТ практически в два раза превышала таковую у мужчин контрольной группы. Активность другого АО-фермента – ГП в этот период, напротив, имела выраженную тенденцию к снижению.

В середине курса ЛТ отмечалось ингибирование начальной стадии ПОЛ, на что указывало существенное снижение уровня ДК в сыворотке крови больных по сравнению с исходными данными. Накопление МДА в сыворотке также снижалось в этот период – уровень данного деривата перекисидации практически соответствовал таковому у доноров.

После завершения лучевого лечения наблюдалось повторное повышение уровней ДК и МДА в сыворотке крови ($p < 0,05$) как по сравнению с предыдущим сроком исследования, так и относительно группы доноров.

Активность АО-ферментов (ЦП и ГП) в сыворотке крови на протяжении курса ЛТ характеризовалась прогрессирующим снижением. При этом активность ЦП после завершения ЛТ практически восстанавливалась до верхней границы доноров, тогда как актив-

ность ГП снижалась на 38 % по сравнению с таковой в группе доноров.

Активность ферментов, как известно, непосредственно связана с включением в их активные центры ионов определенных металлов. Современные высокоинформационные методы анализа дают возможность получить оптимальные данные о содержании микроэлементов практически в любой ткани организма. Данные, полученные при помощи атомно-абсорбционного метода, показали, что исходные концентрации в сыворотке крови таких микроэлементов, как Са, Fe, Mn, Zn и Cu, у больных раком легкого были выше, чем у доноров. При этом наибольшее увеличение было характерно для Fe (165 %) и Cu (190 %).

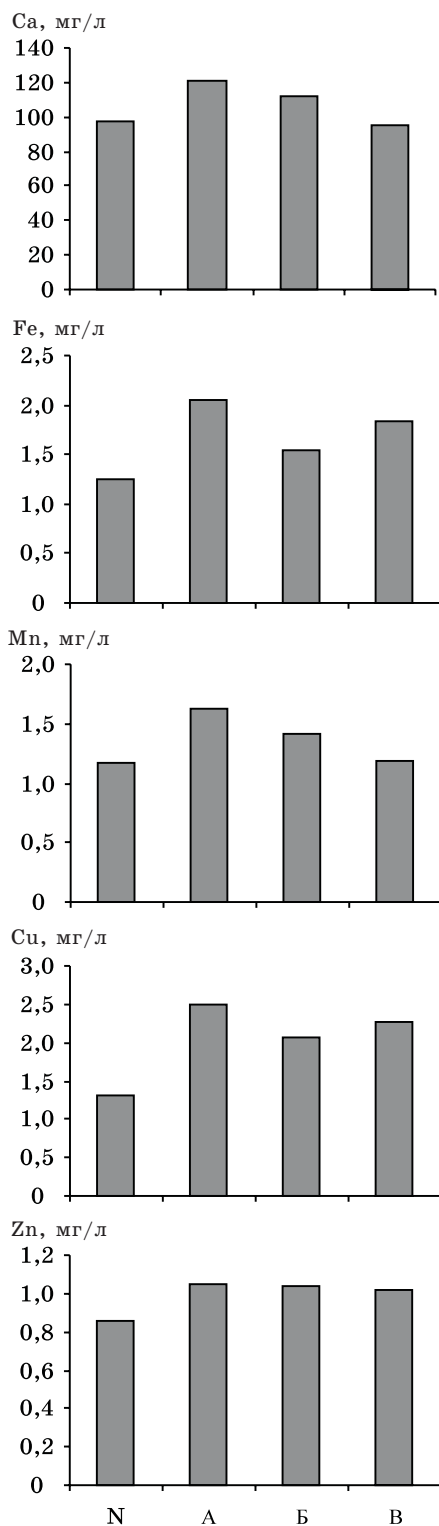
Исследование динамики микроэлементного состава сыворотки крови (рисунок) показало, что в середине курса ЛТ содержание всех исследуемых элементов существен-

но снижалось по сравнению с исходными данными. В наибольшей степени снижалось содержание Fe (на 42 %) и Cu (на 32 %).

После окончания курса ЛТ содержание Fe и Cu в сыворотке вновь повышалось, а содержание Са снижалось до уровня, характерного для доноров. Исходно высокое содержание Mn, наблюдаемое перед началом ЛТ, также постепенно снижалось до нормального уровня. Уровень такого важного АО-элемента, как Zn, не претерпевал в процессе ЛТ существенных изменений.

Анализ полученных данных свидетельствует, что, несмотря на индуцирующее действие радиации на свободнорадикальные процессы, в середине курса ЛТ содержание перекисных продуктов (ДК и МДА) в сыворотке крови снижалось. Здесь, очевидно, проявился терапевтический эффект облучения, когда усиленный распад опухолевых клеток вызывал поступление в межклеточную жидкость, а оттуда в кровь больших количеств накопленных АО-веществ.

Однако длительное воздействие суммарных высоких доз ионизирующей радиации, применяемых при ЛТ, обуславливало посто-



Содержание микроэлементов в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого в ходе проведения лучевой терапии: N – норма, доноры; А – исходные данные; Б – середина курса, В – после лечения

янную длительную инициацию процессов липопероксидации, что в конце концов при-

водило к истощению АО-защиты, которая уже не могла сдерживать чрезмерное накопление перекисных продуктов. Значимое повышение содержания ДК и МДА в сыворотке крови больных к концу курса ЛТ указывало на существенную роль активации ПОЛ в дестабилизации клеточных мембран.

Поскольку ЦП является многофункциональным медьсодержащим гликопротеином, который осуществляет транспорт меди из печени в клетки других органов, выявленная исходно высокая активность этого фермента, которая положительно коррелировала с уровнем меди в сыворотке крови, являлась компенсаторной реакцией на инактивацию или истощение других звеньев АО-защиты.

Уменьшение концентрации марганца и меди в середине курса ЛТ, очевидно, было связано со снижением активности исследуемых АО-ферментов, что, возможно, обуславливалось инактивацией ПОЛ, для уровня которого уже не нужно было повышенного количества АО. Кроме того, падение активности ЦП и ГП могло указывать на снижение резервной мощности АО-потенциала организма и истощение некоторых его звеньев.

В ходе проведения ЛТ наибольшие изменения претерпевал уровень железа. Исходное высокое содержание этого элемента, очевидно, напрямую было связано с активацией перекисных процессов, ведущих к разветвленной цепи свободнорадикальных реакций. Снижение его уровня в середине курса ЛТ, по-видимому, было связано с развитием анемии, которая на данном этапе лечения отмечалась практически у всех больных. Вторичный подъем в конце курса был, по-видимому, обусловлен увеличением лизиса клеток, в том числе и эритроцитов, и выходом в плазму железосодержащих соединений, в частности гемоглобина и оксидазных ферментов.

Наиболее устойчивым к воздействию ионизирующего излучения оказался цинк, содержание которого в сыворотке крови не меняется под воздействием повреждающих факторов. Являясь ингибитором свободнорадикальных процессов и стабилизируя клеточные мембраны, цинк, тем не менее, редуцирует активность апоптоза, что может снижать эффективность проводимой ЛТ.

В целом обнаруженные изменения состояния ПОЛ и активности АО-ферментов определенным образом коррелировали с динамикой содержания в сыворотке крови основных микроэлементов, которые входят в состав активных центров многих антирадикальных энзимов: ЦП, ГП, глутатионредуктазы, супероксиддисмутаза и др. Чрезмерное иницирование ПОЛ под воздействием ионизирующего излучения приводило к усиленному расхо-

дованню фрагментів АО-захити, в том числi и ee ферментного звена, что совпадало по срокам исследования с изменениями уровней микроэлементов в сыворотке крови. Такое истощение АО-потенциала организма могло удерживать перекисные процессы в нормальном русле, на что указывало повышение уровней ДК и МДА в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого после проведения курса ЛТ. Полученные данные указывают на целесообразность применения сопроводительной АО-терапии в ходе комплексного лечения онкологических больных.

Выводы

1. Первичное обследование больных немелкоклеточным раком легкого выявило усиление процессов липопероксидации с повышением уровня перекисных продуктов – ДК и МДА в сыворотке крови, что положительно коррелировало с исходно высокими уровнями основных микроэлементов: Са, Fe,

Mn, Cu и Zn. Состояние АО-захити в различных звеньях было неодинаковым и характеризовалось существенным двукратным повышением активности церулоплазмينا и выраженной тенденцией к снижению активности глутатионпероксидазы по сравнению с показателями у доноров.

2. Длительное воздействие высоких доз радиации, применяемой в ходе лучевой терапии и инициирующей каскады перекисных реакций, приводило к напряжению и срыву ферментного звена АО-захити, что выражалось в снижении активности исследуемых ферментов – церулоплазмينا и глутатионпероксидазы, в результате чего увеличивалось содержание перекисных продуктов в сыворотке крови. Вторичное повышение уровней железа и меди в конце курса лучевой терапии было связано, по-видимому, с дестабилизацией клеточных мембран и повышением лизиса клеток.

Литература

1. Брехман И.И., Голотин В.Г., Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. 140 с.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. 423 с.
3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М.: Знание-М, 2000: 40–45.
4. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Методические особенности исследования перекисного окисления: Перекисное окисление и радиация. К.: Наук. думка, 1991: 52–75.
5. Малоновый диальдегид. Медицинские лабораторные технологии: Справочник. Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 1999: 100–101.
6. Мжельская Т.И., Завалишин И.А. Активность церулоплазмينا сыворотки крови при прогрессирующих заболеваниях центральной нервной системы. Лаб. дело 1989; 11: 12–15.
7. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Активность глутатионзависимых ферментов при хроническом поражении гепатоцитов. Клин. лаб. диагностика 1998; 4: 16–18.
8. Методика определения микроэлементов в диагностируемых субстратах атомной спектроскопии. Метод. рекомендации. М.: ФЦГСЭН МЗ РФ, 2003. 17 с.
9. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., 1962: 260–275.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС І ВМІСТ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕДРІБНОКЛІТИННИЙ РАК ЛЕГЕНІ ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ

В.П. Старенький, Л.П. Абрамова, М.К. Адейшвілі-Сиром'ятнікова, Л.Г. Діголь, В.В. М'ясоєдов

При первинному обстеженні хворих на недрібноклітинний рак легені виявлено підсилення процесів липопероксидації, що позитивно корелювало з початково високими рівнями мікроелементів: Са, Fe, Mn, Cu, Zn. Стан антиоксидантного захисту характеризувався неоднозначними змінами в різних його ланках. Проведення курсу променевої терапії, яка ініціює каскади перекисних реакцій, призводило до напруження та срыву ферментної ланки антиоксидантного потенціалу організму, внаслідок чого відбувалась вторинна активація перекисного окиснення ліпідів. Вторинне підвищення рівня заліза та міді наприкінці курсу променевої терапії було пов'язане з дестабілізацією клітинних мембран і підсиленням лізису клітин.

Ключові слова: мікроелементи, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантні ферменти, недрібноклітинний рак легені, променева терапія.

PROOXIDANT-ANTIOXIDATING BALANCE AND MICROELEMENTS CONTAIN IN BLOOD SERUM OF LUNG CANCER PATIENTS DURING RADIOTHERAPY

V.P. Starenkiy, L.P. Abramova, M.K. Adeyshvili-Syromyatnikova, L.G. Digol, V.V. Myasoedov

Higher levels of lipid peroxidation in serum of lung cancer patients were revealed before beginning of the radiotherapy, that positive correlated with microelements contain: Ca, Fe, Mn, Cu, Zn. Different link of antioxidant defence changed nonidentical. During radiotherapy initiating lipid peroxidation antioxidant enzyme activity reduced as result a lipid peroxidation repealed increase was observed. After radiotherapy course second increase of the Fe and Cu levels in serum was associated with cell membran destabilization and intensive cell lysis.

Key words: lipid peroxidation, antioxidant enzyme, microelements, lung cancer, radiotherapy.

Поступила 07.11.07

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ СФІНГОЛІПІДІВ І ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ У СТАРОСТІ ЗА ДОПОМОГОЮ АЛІМЕНТАРНИХ ФАКТОРІВ

Н.О. Бабенко, Лоай Халед Мохаммад Хассунех, Я.О. Семенова

НДІ біології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна

Вивчали обмін сфінголіпідів у печінці, нирках і гіпокампі щурів різного віку і харчовий статус. Встановлено підсилення синтезу кераміду, глюкозилцераміду і сфінгозину в печінці та нирках 24-місячних тварин у порівнянні з 3-місячними та зниження включення [¹⁴C]пальмітинової кислоти у сфінголіпідах гіпокампа. Введення вітаміну Е знижує синтез кераміду в печінці і вміст кераміду в усіх досліджуваних тканинах. Введення до раціону 24-місячних тварин риб'ячого жиру знижує синтез кераміду і відношення керамід/сфінгом'єлін в досліджуваних тканинах, а також синтез сфінгозину в гіпокампі.
Ключові слова: сфінголіпіди, печінка, нирки, гіпокамп, старіння, вітамін Е, риб'ячий жир.

Сфінголіпіди становлять новий клас біоактивних молекул, які беруть участь у регуляції процесів росту, диференціювання та апоптозу клітин [1, 2]. Порушення обміну сфінголіпідів призводить до зміни специфічних функцій клітин і органів. Підвищення здатності клітин і тканин утворювати та накопичувати керамід спостерігається при атеросклерозі, діабеті і нейродегенеративних захворюваннях, які найчастіше виникають у похилому віці та старості [3–5]. Рівень кераміду в клітинах і тканинах значно збільшується в умовах нормального старіння організму тварин і людини [6].

Відомо, що обмін сфінголіпідів тісно пов'язаний з редокс-станом клітини. Глутатіон попереджує утворення і накопичення в клітинах кераміду шляхом інгібування нейтральної сфінгом'єлінази [7]. Вітамін Е перешкоджає індукції β-амілоїдним пептидом накопичувати керамід в гліальних клітинах [5]. Активацію сфінгом'єлінази в умовах оксидативного стресу в ендотеліальних клітинах і клітинах RAW264.7 [8] можна попередити за допомогою α-токоферолу. Збагачення їжі мишей ейкозопентаєновою та докозагексаєновою кислотами риб'ячого жиру приводить до зниження вмісту кераміду в лімфоцитах [9] і посилення обміну попередників синтезу сфінголіпідів [10] – L-серину та фосфатидилсерину в різних тканинах і клітинах. З огляду на це метою даного дослідження було вивчення вікових особливостей обміну сфінголіпідів і впливу біологічно активних компонентів дієти на залежні від віку зміни обміну сфінголіпідів у функціонально різних тканинах щурів.

Матеріал і методи. Експерименти проведено на 3- та 24-місячних щурах-самцях лінії

Вістар масою 180–350 г, які знаходилися на стандартному раціоні віварію. Перед розкриттям черевної порожнини тварин наркотизували дієтиловим ефіром. Тваринам дослідної групи (6 шт.) вводили вітамін Е перорально у дозі 100 мкг на 100 г маси тіла протягом 7 днів. Контрольні тварини (7) отримували кукурудзяну олію. Для вивчення впливу риб'ячого жиру на обмін сфінголіпідів щурів у 14-місячному віці переводили на раціон, калорійність якого була збільшена на 25 ккал за рахунок риб'ячого (дослідна група, 6) або яловичого (контрольна група, 6) жиру, та утримували на такому раціоні до 24-місячного віку. В цілому калорійність раціону дослідної та контрольної груп становила 172 ккал, у той час як стандартного раціону – 147 ккал. У якості попередника синтезу ліпідів використовували [1-¹⁴C]пальмітонову кислоту (2,07 ГБк/ммоль, Amersham, GE Healthcare UK). Екстракцію ліпідів з гомогенатів печінки, нирок, гіпокампа проводили за методом [11]. Екстракти ліпідів, призначені для аналізу сфінголіпідів, випарювали у вакуумі та інкубували 60 хв при 37 °С у середовищі хлороформ – метанол (1 : 1), яке містило КОН (0,1 М) для гідролізу ацилгліцеринів. Ліпіди знову екстрагували і розділяли на класи [сфінгом'єлін (СФМ), керамід, глюкозилцерамід (ГЛЦ) і сфінгозин (СФЗ)] методом тонкошарової хроматографії на комерційних платівках Sorbfil (АТ «Сорб-полімер», Росія) у системі розчинників: хлороформ – етилацетат – ізопропіловий спирт – метанол – 0,25 % КСl. СФМ, керамід і ГЛЦ проявляли у парах йоду, СФЗ – за допомогою 3%-вого розчину нінгідрину в бутанолі, насиченому Н₂О, та ідентифікували відповідно до вимог стандартів. Для кількісного

визначення вмісту керамідів у тканинах ліпідні плями переносили у пробірки та елюювали сумішню хлороформу з метанолом (1 : 1) з подальшим елююванням метанолом. Поєднані елюати випарювали у вакуумі і піддавали кислому гідролізу в 0,5 М HCl у метанолі при 65 °C протягом 15 год. Вміст керамідів визначали за вивільненням довголанцюгових основ у ході гідролізу ліпідів за методом [12]. Кількісне визначення СФМ у хроматографічних фракціях проводили за методом [13]. Радіоактивність проб, що містили мічені [¹⁴C]ліпіди, визначали за допомогою лічильника радіоактивності БЕТА. Експериментальні результати представлені як середнє арифметичне ± стандартна похибка. Для порівняння використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA, Fisher LSD-test) та t-критерій Стьюдента. Різницю між групами вважали статистично вірогідною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у тварин до 24-місячного віку відбувається підсилення синтезу загальних сфінголіпідів, кераміду, ГЛЦ і СФЗ у печінці та нирках (рис. 1, а і б) та зниження рівня знов синтезованих ліпідів у гіпокампі (рис. 1, в). Введення в організм тварин цього віку додаткових кількостей вітаміну Е супроводжується майже дворазовим збільшенням синтезу СФМ у печінці та нирках і кераміду в нирках (рис. 2, а). Вітамін Е впливає на синтез ГЛЦ і СФЗ у печінці та нирках і пригнічує синтез СФМ і утворення СФЗ у гіпокампі. Встановлено зниження вмісту кераміду в усіх досліджуваних тканинах старих щурів. Харчовий раціон, збагачений риб'ячим жиром, знижує вміст знов синтезованого кераміду (рис. 2, б) та відношення керамід/СФМ (таблиця) в усіх досліджуваних тканинах і збільшує вміст [¹⁴C]ГЛЦ та [¹⁴C]СФМ у печінці 24-місячних тварин порівняно з тваринами контрольної групи того ж віку (рис. 2, б).

Збільшення вмісту кераміду в печінці, гіпокампі і корі головного мозку 24-місячних щурів у порівнянні з 3-місячними корелює з накопиченням в клітинах вільних жирних кислот [6]. Відомо, що збільшення рівня вільних жирних кислот є передумовою підсилення синтезу кераміду та загальних сфінголіпідів у клітинах вільних жирних кислот [14], жирової тканини і скелетних м'язів [4]. Можна припустити, що збільшення вмісту кераміду і СФЗ в печінці та нирках у старості відбувається завдяки підсиленню синтезу кераміду de novo. Наступна деградація кераміду при участі керамідаз призводить до збільшення рівня СФЗ в печінці та нирках старих тварин. Вміст кераміду в гіпокампі 24-місячних тварин більший, ніж у 3-місячних [6], що

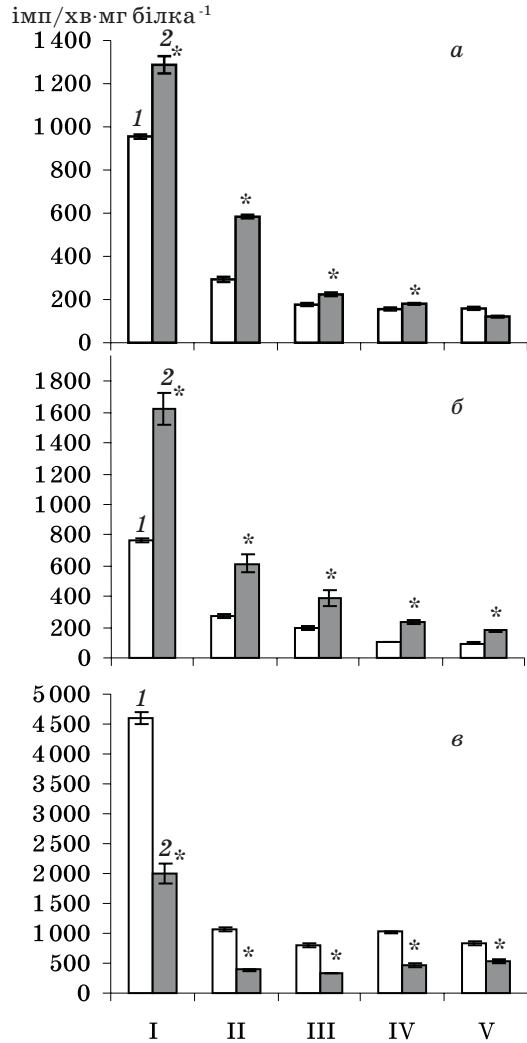


Рис. 1. Особливості обміну сфінголіпідів у печінці (а), нирках (б) та гіпокампі (в) щурів 3- (1) та 24-місячного (2) віку:

I – сфінголіпіди, II – керамід, III – ГЛЦ, IV – СФЗ, V – СФМ; $p < 0,05$

відбувається, мабуть, не через зміни синтезу ліпиду de novo (рис. 1, в), а через підсилення деградації складних сфінголіпідів – ГЛЦ, СФМ та ін.

Виявлені нами зміни обміну сфінголіпідів – кераміду, ГЛЦ і СФЗ, що мають високу біологічну активність, в печінці, нирках і гіпокампі в старості можуть бути причиною вікових змін функціональної активності досліджуваних тканин. Так, підвищення обміну сфінголіпідів і вмісту кераміду та СФЗ в печінці старих щурів – одна з важливих причин розвитку хронічного запалення [15]. Підсилення синтезу кераміду de novo передусе зниженню експресії Bcl-2, підвищенню активності каспази-3, апоптозу тубулярних клітин нирок і розвитку нефропатії під дією радіоконтрастного середовища [16]. Вікові порушення функції нирок (гломерулосклероз

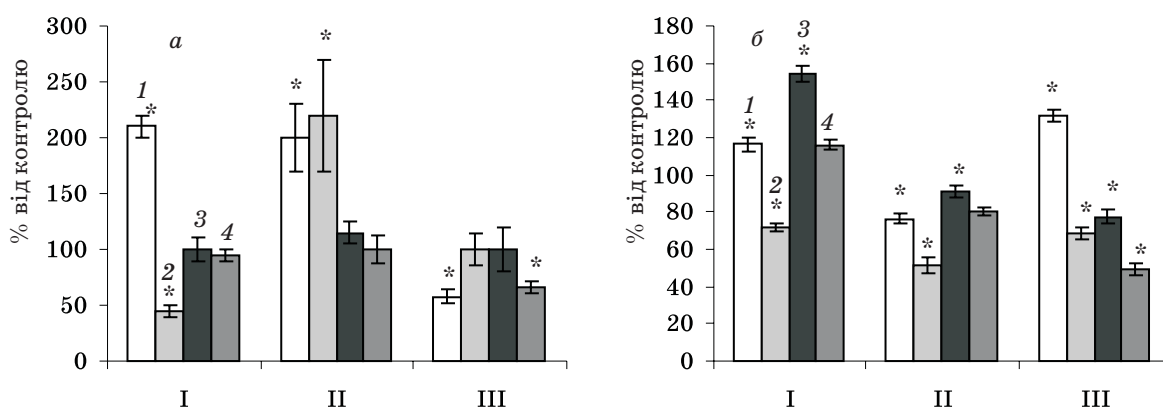


Рис. 2. Вплив вітаміну Е (а) та риб'ячого жиру (б) на вміст [¹⁴С]сфінголіпідів у печінці (І), нирках (ІІ) і гіпокампі (ІІІ) старих щурів: 1 – СФМ, 2 – керамід, 3 – ГЛЦ, 4 – СФЗ; $p < 0,05$

Вплив аліментарних факторів на відношення керамід/СФМ в тканинах старих щурів

| Аліментарний фактор | Тканини | | |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|
| | печінка | нирка | гіпокамп |
| Вітамін Е | | | |
| у старих щурів | 0,169±0,018 | 0,154±0,011 | 0,321±0,041 |
| у контролі | 0,447±0,101 | 0,392±0,100 | 0,794±0,084 |
| Риб'ячий жир | | | |
| у старих щурів | 0,650±0,081 | 0,566±0,140 | 0,590±0,129 |
| у контролі | 1,050±0,213 | 0,849±0,059 | 1,060±0,136 |

Примітка. $p < 0,05$.

і зниження рівня фільтрації) пов'язані зі значними порушеннями обміну ліпідів, які виявляються в акумуляції триацилгліцеринів [17], що, у свою чергу, може призводити до накопичення вільних жирних кислот і їхніх метаболітів – керамідів – у нейронах гіпокампа. Даний процес є однією з причин загибелі клітин [5], що характерно для нейродегенеративних захворювань старечого віку.

Вивчення можливості корекції метаболізму сфінголіпідів у тканинах старих щурів за допомогою фізіологічних модуляторів обміну ліпідів – компонентів харчового раціону: вітаміну Е та жирних кислот n-3 ряду, показало, що вітамін Е збільшує синтез СФМ у печінці та нирках і кераміду в нирках (рис. 2, а). Зміни вмісту знов синтезованого кераміду в печінці та нирках, однак, не супроводжуються зміною рівнів його метаболітів – ГЛЦ та СФЗ. Ці дані можуть свідчити, що падіння рівня [¹⁴С]керамідів під дією вітаміну Е навряд чи відбувається через його перетворення на [¹⁴С]СФЗ або у ході перетворення в [¹⁴С]ГЛЦ. Важливою причиною падіння рівня кераміду в печінці може бути підсилення під дією вітаміну Е його використання у синтезі СФМ (рис. 2, а). Вивчення впливу вітаміну Е на зміни вмісту кераміду показало значне зни-

ження рівня ліпиду в усіх досліджуваних тканинах старих щурів (таблиця). Враховуючи те, що СФМ є субстратом сфінгомеліназ, можна припустити, що падіння відношення керамід/СФМ є результатом пригнічення активності ферментів під дією вітаміну Е. Рівень кераміду може збільшуватися в клітинах також в процесі інгібування керамідаз. В даних умовах експерименту встановлено падіння під дією вітаміну Е рівня продукту керамідазної реакції – [¹⁴С]СФЗ – в гіпокампі, що відбувається, однак, на тлі зниження синтезу [¹⁴С]кераміду (рис. 1, в). Не виключено, що вітамін Е може підсилювати також і глибоку деградацію СФЗ чи перетворення ліпиду на СФЗ-1-Р і таким чином знижувати його продукцію у клітинах.

Доцільно припустити, що вітамін Е змінює метаболізм сфінголіпідів у старості через пригнічення продукції прозапальних цитокінів, які, як відомо, реалізують частину своїх ефектів, індукуючи утворення керамідів у клітинах [15]. На користь даного припущення свідчать дані про пригнічення активності сфінгомеліназ і зниження продукції керамідів під дією рослинних поліфенолів, які мають виражені антиоксидантні властивості та знижують рівень прозапальних ци-

токінів [18]. Встановлено також, що введення в раціон людини [19] і тварин [9] ейкозопентаєнової та докозагексаєнової кислот риб'ячого жиру супроводжується супресією продукції та секреції цитокинів. Зниження продукції інтерлейкіну-2 під дією жирних кислот n-3 ряду корелює з падінням вмісту кераміду в клітинах.

Дослідження показало, що тривале утримування тварин на харчовому раціоні, збагаченому риб'ячим жиром, супроводжується зниженням вмісту знов синтезованого кераміду в усіх досліджуваних тканинах 24-місячних тварин порівняно з тваринами контрольної групи цього ж віку (рис. 2, а). У печінці дієта, збагачена жирними кислотами n-3 ряду, не тільки сприяє зниженню рівня [¹⁴C]кераміду, але й збільшує рівень знов синтезованих [¹⁴C]ГЛЦ та [14C]СФМ, не впливаючи на вміст СФЗ. З огляду на це можна припустити, що в даних умовах експерименту підсилюється використання знов синтезованого кераміду в синтезі більш складних сфінголіпідів. У той же час n-3 жирні кислоти знижують синтез кераміду de novo у нирках і гіпокампі, що і є однією з причин падіння рівня його різних метаболітів – СФМ і СФЗ у нирках та СФЗ і ГЛЦ у гіпокампі. Дієта, що застосована у даному дослідженні, різко знижує відношення між керамідом і СФМ (таблиця), що може свідчити про внесок сфінгомеліназ у зміни вмісту кераміду в усіх досліджуваних тканинах.

Висновки

В старості у тварин відбуваються значні тканиноспецифічні зміни метаболізму сфін-

голіпідів. Підсилення обміну сфінголіпідів – важлива причина збільшення рівня високо-токсичних для клітини ліпідів: кераміду і сфінгозину в печінці та нирках старих тварин. У той же час у гіпокампі відзначено пригнічення синтезу сфінголіпідів до досягнення тваринами 24-місячного віку та збільшення вмісту кераміду в старості, яке відбувається в ході активації сфінгомеліназ і деградації складних сфінголіпідів.

Вітамін Е та жирні кислоти n-3 ряду риб'ячого жиру є фізіологічними модуляторами обміну біологічно активних сфінголіпідів у функціонально різних тканинах старих тварин.

Використані в роботі аліментарні фактори знижують підвищений у старості вміст проапоптичного ліпиду – кераміду в усіх досліджуваних тканинах. Важливу роль в нормалізації рівня даного ліпиду у печінці, нирках і гіпокампі 24-місячних тварин під дією риб'ячого жиру відіграють процеси синтезу ліпиду de novo. Збагачення їжі піддослідних тварин вітаміном Е приводить до різноспрямованих змін обміну окремих ліпідів у різних тканинах і зниження вмісту кераміду. Враховуючи те, що вивчені у роботі сфінголіпиди (керамід, глюкозилцерамід і сфінгозин) характеризуються значною біологічною активністю та беруть участь у регуляції таких важливих процесів, як проліферація, запалення і апоптоз, можна вважати, що зміна у старості метаболізму сфінголіпідів за допомогою фізіологічних факторів харчування дозволить спрямовано впливати на функціональну активність досліджуваних тканин і органів з метою корекції вікових порушень їх функцій.

Література

1. *Pena L.A., Fuks Z., Kolesnick R.* Stress-induced apoptosis in the sphingomyelin pathway. *Biochem. Pharmacol.* 1997; 53, 5: 615–621.
2. *Perry D.K., Hannun Y.A.* The role of the ceramide in cell signaling. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1436: 233–243.
3. *Schissel S.L., Tweedie-Hardman J., Rapp J.H. et al.* Rabbit aorta and human atherosclerosis lesions hydrolyze the sphingomyelin of retained low density lipoprotein. Proposed role for arterial-wall sphingomyelinase in subendothelial retention and aggregation of atherogenic lipoproteins. *J. Clin. Invest.* 1998; 98: 1455–64.
4. *Unger R.H.* Lipotoxic diseases. *Annu. Rev. Med.* 2002; 53: 319–336.
5. *Ayasolla K., Khan M., Singh A.K., Singh J.* Inflammatory mediator and β -amyloid (25–35)-induced ceramide generation and iNOS expression are inhibited by vitamin E. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 37: 325–338.
6. *Хассунех Л., Семенова Я.О., Красильнікова О.А., Бабенко Н.О.* Вікові особливості вмісту сигнальних ліпідів у печінці та мозку щурів. *Фізіол. журн.* 2006; 52, 6: 79–84.
7. *Liu B., Hannun Y.A.* Inhibition of the neutral magnesium-dependent sphingomyelinase by glutathione. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 16281–87.
8. *Hatanaka Y., Fujii J., Fukutomi T. et al.* Reactive oxygen species enhances the induction of inducible nitric oxide synthase by sphingomyelinase in RAW264.7 cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1393, 1: 203–210.
9. *Jolly C.A., Jiang Y.H., Chapkin R.S., McMurrey D.N.* Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide. *J. Nutr.* 1996; 127: 37–43.
10. *Meyer S.G.E., de Groot H.* [¹⁴C]serine from phosphatidylserine labels ceramide and sphingomyelin in L929 cells: evidence for a new metabolic relationship between glycerophospholipids and sphingolipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003; 410: 107–111.

11. *Bligh E.G., Dyer W.J.* A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian J. Biochemistry and Physiology* 1959; 37, 8: 911–917.
12. *Lauter C.J., Trams E.G.* On the isolation and characterization of gangliosides. *J. Lipid Res.* 1962; 3: 136–138.
13. *March J.B., Weinstein D.B.* Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Res.* 1966; 7, 4: 574–580.
14. *Merrill A.H., Lingrell S., Wang E. et al.* Sphingolipid biosynthesis de novo by rat hepatocytes in culture. *J. Biol. Chem.* 1995; 270, 23: 13834–41.
15. *Lightle S.A., Oakley J.L., Nikolova-Karakashian M.N.* Activation of sphingolipid turnover and chronic generation of ceramide and sphingosine in liver during ageing. *Mech. Ageing. Dev.* 2000; 120, 1–3: 111–125.
16. *Itoh Y., Yano T., Sendo T. et al.* Involvement of de novo ceramide synthesis in radiocontrast-induced renal tubular cell injury. *Kidney Int.* 2006; 69, 2: 288–297.
17. *Jiang T., Liebman S.E., Lucia M.S. et al.* Role of altered renal lipid metabolism and the sterol regulatory element binding proteins in the pathogenesis of age related renal disease. *Kidney Int.* 2005; 68, 6: 2608–20.
18. *Babenko N., Shachova E.* Effects of Chamomilla recutita flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Exp. Geront.* 2005; 41: 32–39.
19. *Meydani S.N., Endres S., Woods M.M. et al.* Oral n-3 fatty supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: Comparison between young and older women. *J. Nutr.* 1991; 121: 547–555.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА СФИНГОЛИПИДОВ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ В СТАРОСТИ С ПОМОЩЬЮ АЛИМЕНТАРНЫХ ФАКТОРОВ

Н.А. Бабенко, Лоай Халед Мохаммед Хассунех, Я.А. Семенова

Изучали обмен сфинголипидов в печени, почках и гиппокампе крыс разного возраста и пищевой статус. Установлено усиление синтеза церамида, глюкозилцерамида и сфингозина в печени и почках 24-месячных животных по сравнению с 3-месячными и снижение включения [¹⁴C]пальмитиновой кислоты в сфинголипидах гиппокампа. Введение витамина Е снижает синтез церамида в печени и содержание церамида во всех изученных тканях. Введение в рацион 24-месячных животных рыбьего жира снижает синтез церамида и отношение церамид/сфингомиелин во всех изученных тканях, а также синтез сфингозина в гиппокампе.

Ключевые слова: сфинголипиды, печень, почки, гиппокамп, старение, витамин Е, рыбий жир.

AGE PECULIARITIES OF SPHINGOLIPID TURNOVER AND WAYS OF IT CORRECTION BY ALIMENTARY FACTORS AT OLD AGE

N.O. Babenko, Loay Khaled Mohammad Hassouneh, Ya.O. Semenova

Sphingolipid metabolism in the liver, kidney and hippocampus of rats of different age and nutritional state has been investigated. It has been determined that ceramide, glucosylceramide (GCer) and sphingosine synthesis increased in the liver and kidney and sphingolipid synthesis decreased in the hippocampus of 24-month-old rats as compared to the 3-month-old animals. Vitamin E and fish oil administration to the old rats lead to the ceramide mass decrease in the all studied tissues. Fish oil addition to the old rat meal decreases synthesis ceramide de novo in the all tissues studied while vitamin E lead to the ceramide synthesis decreasing in the liver. Vitamin E and fish oil decrease the level of newly synthesized sphingosine in the hippocampus.

Key words: sphingolipids, liver, kidney, hippocampus, aging, vitamin E, fish oil.

Поступила 31.07.07

РОЛЬ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП БЕЛКОВ В МЕХАНИЗМАХ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

В.В. Соколик

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины», г. Харьков

Определяли концентрацию SH-групп белков в апоА- и апоВ-содержащих фракциях липопротеинов и сыворотке крови пациентов с сахарным диабетом (СД) 2-го типа и здоровых добровольцев. Выявили снижение уровня SH-групп в апоВ-содержащей фракции липопротеинов инсулинорезистентных больных, а также дальнейшее падение этого показателя в ходе липопротеинлиполиза. Результаты экспериментов *in vitro* свидетельствуют о вероятности образования комплекса между инсулином и апоВ в составе липопротеинов сыворотки крови пациентов с СД 2-го типа.

Ключевые слова: SH-группы, инсулин, липопротеины, СД 2-го типа.

В условиях гиперинсулинемии тиоловый статус выходит на передний план в реализации эффектов инсулина [1]. Хорошо известно, что добавление инсулина к среде снижает число свободных SH-групп на мембране клеток диафрагмы крысы, а тиоловые ингибиторы (п-хлормеркурийбензоат и N-этилмалеимид) тормозят действие инсулина на транспорт D-ксилозы в эти клетки [2]. Данное обстоятельство обусловлено тем, что внеклеточная α -субъединица инсулинового рецептора имеет два цистеинсодержащих участка в области специфического связывания гормона [3]. В молекуле самого же инсулина А- и В-полипептидные цепочки объединены дисульфидными связями, редукция которых приводит к потере биологической активности гормона [4].

По аналогии с инсулином апоВ-белок липопротеинов в С-концевой части содержит фрагмент, обогащенный цистеиновыми аминокислотными остатками, который отвечает за связывание с В/Е (ЛПНП)-рецептором (специфический рецептор элиминации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) из кровотока) [5, 6]. Дефект в структуре данного фрагмента апоВ приводит к уменьшению связывания ЛПНП с В/Е (ЛПНП)-рецептором и к развитию гиперлипидемии [7].

Цель настоящего исследования состояла в изучении уровня сульфгидрильных групп апобелков липопротеинов и сыворотки крови при гиперинсулинемии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД 2). Представляло интерес рассмотрение гипотетической возможности взаимодействия апоВ-белка в составе липопротеинов и инсулина в условиях стационарного присутствия гормона в кровотоке при инсулинорезистентности. В экспериментах *in vitro* акцентировалось внимание на роли SH-групп во взаи-

модействии инсулина и апоВ-белка в составе липопротеинов.

Материал и методы. В исследование были включены здоровые добровольцы (10 чел.) и пациенты с СД 2 (18 чел.) в возрасте 45–50 лет. Во всех случаях было получено согласие лиц на участие в исследовании. Для определения показателей сыворотки натощак венозную кровь получали утром, не менее чем через 12 часов после последнего приема пищи. Клинические признаки инсулинорезистентности подтверждались анамнезом и показателями лабораторных исследований натощак: содержание глюкозы в сыворотке крови – $(9,00 \pm 0,68)$ ммоль/л (ферментативный метод, набор реактивов «ГЛЮКОЗА-Ф», «Филисит-Диагностика», г. Днепропетровск, норма $(4,70 \pm 0,42)$ ммоль/л; молярная доля гликозилированного гемоглобина HbA_{1c} – $(7,60 \pm 0,25)$ % (спектрофотометрический метод, набор реактивов «РЕАГЕНТ», г. Днепропетровск, норма – $(4,30 \pm 0,88)$ %); концентрация иммунореактивного инсулина – $(17,2 \pm 1,2)$ мЕД/л (радиоиммунологический метод, набор реактивов радио-ИНС-ПГ- ^{125}I , Беларусь, норма – $(11,4 \pm 1,1)$ мЕД/л).

В гепариновом тесте [8] стерильный раствор нефракционированного гепарина (ВАТ «Белмедпрепараты») вводили внутривенно в дозе 50 ЕД на 1 кг массы обследуемого и через 15 мин повторно осуществляли забор крови. Получали до- и постгепариновые образцы сыворотки крови путем центрифугирования (50 с^{-1} , 10 мин, 4°C).

АпоА- и апоВ-содержащие фракции липопротеинов разделяли осаждением последних (50 с^{-1} , 30 мин, 4°C) из аликвоты сыворотки крови объемом 0,6 мл после прибавления 0,4 мл фосфорно-вольфрамовой кислоты, содержащей Mg^{2+} (набор реактивов «Холестерин ЛВП», Ольвек диагностика).

Надосадочная жидкость пробы являлась источником апоА-содержащих липопротеинов. Осадок апоВ-содержащих липопротеинов растворяли в 0,6 мл трис-НСІ буфера, рН 6,9.

Концентрацию общих и небелковых SH-групп апоА- и апоВ-содержащих фракций липопротеинов и сыворотки крови определяли методом Элмана с 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислотой (DTNB) [9]. Концентрацию SH-групп белков рассчитывали по разнице между содержанием общих и небелковых SH-групп (в ммоль/л, а в отдельных случаях в мкмоль/г белка). Концентрацию белка в апоВ- и апоА-содержащих фракциях липопротеинов определяли биуретовым методом с помощью стандартного набора реактивов «PROTEIN TOTAL Liquidcolor» (HUMAN).

Изучали влияние *in vitro* возрастающих концентраций инсулина «Монодар» (0→33,75 г/л) на уровень белковых SH-групп в апоВ-содержащей фракции липопротеинов здоровых лиц и пациентов с СД 2 в ходе 24-часовой инкубации при 37 °С. Дополнительным контролем на отсутствие окисления SH-групп в ходе инкубации служили пробы апоВ-содержащих липопротеинов, преинкубированные с ионолом. Антиоксидант растворяли в минимальном объеме этанола и вводили в апоВ-содержащие липопротеины непосредственно перед суточной инкубацией с инсулином. Время встраивания ионола в липопротеины частицы составляло 20 мин, конечная концентрация антиоксиданта в пробе – 22 мг/л.

Полученные результаты обработали статистически с использованием t-критерия Фишера–Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Концентрация SH-групп белков у пациентов с СД 2 не отличалась от контрольных значений (рис. 1). Однако данные таблицы свидетельствуют о том, что апоВ-белок липопротеинов инсулинорезистентных больных экспонирует на поверхности липопротеиновой частицы существенно меньшее количество SH-групп по сравнению с контролем. Это может быть обусловлено конформационными изменениями апоВ-белка в липопротеинах из-за ненормального липидного состава этих частиц, а именно избытком триглицеридов и холестерина на фоне дефицита фосфолипидов в условиях СД 2 [10].

При активации липопротеинлиполиза в гепариновом тесте наблюдалось снижение уровня белковых SH-групп в сыворотке крови инсулинорезистентных больных и здоровых добровольцев (рис. 1). При этом концентрация SH-групп во фракции апоА-содержащих липопротеинов при инсулинорезистентности не отличалась от контроля и не изме-

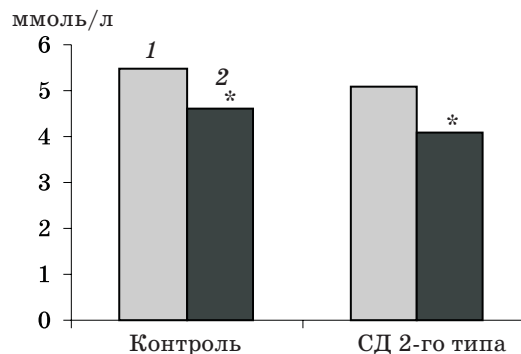


Рис. 1. Концентрация SH-групп белков в догепариновой (1) и постгепариновой (2) сыворотке крови в группах контроля и с СД 2-го типа.

* достоверные изменения показателя между сыворотками крови

нялась в гепариновом тесте ни у здоровых лиц, ни у пациентов с СД 2 (таблица). Дело в том, что апоА1- и апоА2-белки не имеют в своем составе цистеинов, а апоЕ и другие регуляторные белки апоА-содержащих липопротеинов присутствуют в данной фракции в малых количествах и значимо не влияют на уровень белковых SH-групп [11]. Кроме того, на уровень сульфгидрильных групп альбумина, который также был представлен во фракции апоА-содержащих липопротеинов, активация липопротеинлиполиза не оказывала никакого влияния, поскольку, как известно, альбумин не является апобелком липопротеинов [11].

Данные таблицы иллюстрируют более выраженное снижение в ходе липолиза концентрации SH-групп (на 42 %) во фракции апоВ-содержащих липопротеинов больных с СД 2 по сравнению с аналогичными изменениями в такой же фракции липопротеинов здоровых лиц (на 26,5 %). Объяснить это особенностями липидного состава апоВ-содержащих липопротеинов при инсулинорезистентной патологии невозможно, поскольку вследствие активного липолиза избыточного количества триглицеридов в этих липид-белковых комплексах сульфгидрильные группы апоВ-белка должны не экранироваться, а экспонироваться на поверхности липопротеинов, а этого не наблюдается. Поэтому было выдвинуто предположение, что в ходе липопротеинлиполиза SH-группы апоВ-белка в составе липопротеинов экранируются вторично вследствие конформационных изменений в глобуле апобелка или в результате образования дисульфидных мостиков с другими белками крови.

В качестве претендента на такое партнерство в исследовании *in vitro* был рассмотрен инсулин, поскольку именно гиперинсулинемия характеризует пациентов с СД 2 [12]. Для апоВ-содержащих липопротеинов пост-

Концентрация SH-групп белков в апоВ- и апоА-содержащих фракциях липопротеинов здоровых лиц и пациентов с СД 2-го типа при активации липопротеинлиполиза в гепариновом тесте *in vivo*, ($M \pm t$) мкмоль/г белка

| Группа | Фракция ЛП | Догепариновая сыворотка крови | Постгепариновая сыворотка крови |
|-------------------------|------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Контрольная | АпоВ | 17,0±0,9 | 12,5±1,0* |
| | АпоА | 45,0±3,9 | 43,0±3,6 |
| Пациенты с СД 2-го типа | АпоВ | 13,8±0,6 [#] | 8,0±0,6* |
| | АпоА | 41,0±3,3 | 32,0±2,7 |

* Достоверные изменения показателя между соответствующими пробами догепариновой и постгепариновой сыворотками крови; [#] достоверные изменения показателя по отношению к контролю.

гепариновой сыворотки крови инсулинорезистентных больных было выявлено снижение уровня SH-групп в условиях суточной инкубации с инсулином начиная с действующей концентрации гормона 18,75 г/л (36 % от исходного уровня без инсулина) и до достижения максимального эффекта (62 % и более) в диапазоне 22,50–33,75 г/л инсулина (рис. 2). В апоВ-содержащих липопротеинах догепариновой сыворотки крови инсулинорезистентных больных также обнаружено снижение концентрации SH-групп при 24-часовом действии инсулина, эффективная концентрация гормона составляла 11,25 г/л (45,3 % от исходного уровня без инсулина) и достигала максимального эффекта (61 % и более) в диапазоне 15,00–33,75 г/л инсулина (рис. 2). Полученные результаты свидетельствуют о возможности формирования комплекса между инсулином и апоВ-белком в составе липопротеинов сыворотки крови

инсулинорезистентных больных. На уровень SH-групп апоВ-содержащих липопротеинов пост- и догепариновой сыворотки крови здоровых лиц суточная инкубация с инсулином не влияла (рис. 2).

Для исключения окисления SH-групп апоВ-содержащих липопротеинов сыворотки крови пациентов с СД 2 в процессе инкубации с инсулином дополнительно изучали суточное влияние возрастающих концентраций гормона в присутствии антиоксиданта ионола. Было показано, что введение ионола в сыворотку крови не влияло на снижение уровня SH-групп в апоВ-содержащих липопротеинах сыворотки крови больных СД 2 после 24-часовой инкубации с инсулином (рис. 3). Данное обстоятельство свидетельствует об отсутствии окисления SH-групп в процессе инкубации *in vitro*. В литературе встречаются лишь единичные указания на принципиальную возможность формирова-

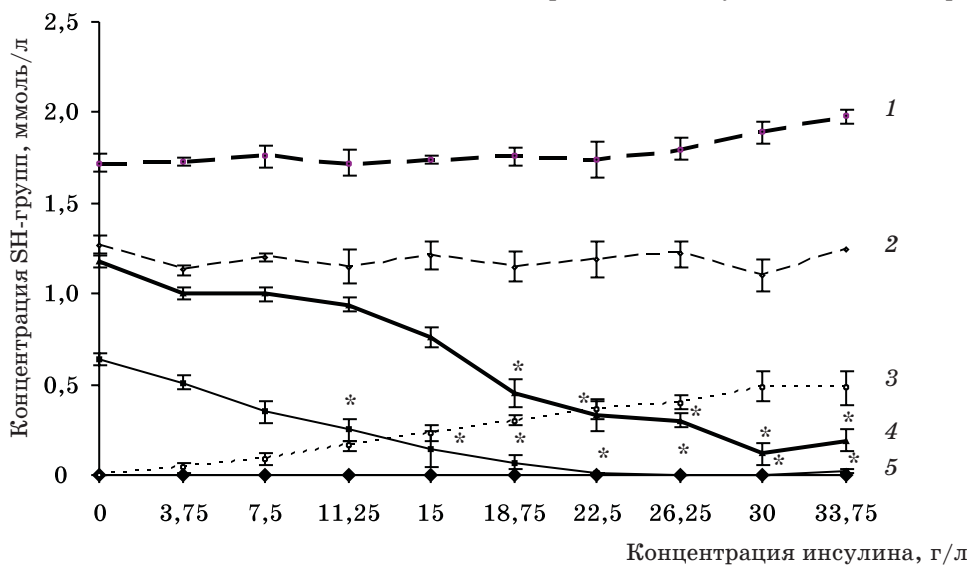


Рис. 2. Концентрация SH-групп апоВ-содержащей фракции липопротеинов сыворотки крови больных СД 2-го типа и контрольной группы при действии возрастающих концентраций инсулина (инкубация 24 ч, 37 °С):

1, 2 — постгепариновая и догепариновая соответственно сыворотка крови здоровых лиц; 3 — фоновая кривая инсулина без апоВ-содержащих липопротеинов; 4, 5 — постгепариновая и догепариновая сыворотка крови пациентов с СД 2-го типа; * достоверные изменения показателя относительно исходного уровня без инсулина

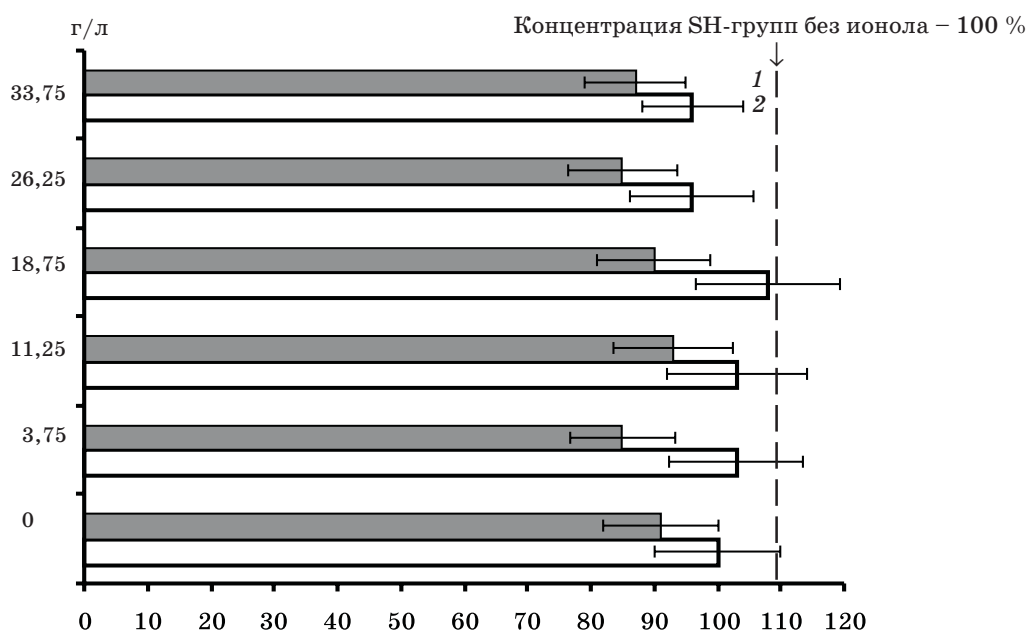


Рис. 3. Концентрация SH-групп (в % от уровня без антиоксиданта) апоВ-содержащих фракций липопротеинов догепариновой (1) и постгепариновой (2) сыворотки крови больных СД 2-го типа при действии инсулина (инкубация 24 ч, 37 °С) в присутствии антиоксиданта ионола.
Ось ОУ – концентрация инсулина

ния комплекса между апоВ-белком и инсулином из-за наличия у обоих белков в составе полипептидных последовательностей общих иммунореактивных эпитопов [13].

Таким образом, наблюдаемое в гепариновом тесте снижение концентрации белковых сульфгидрильных групп в сыворотке крови пациентов с СД 2 обусловлено, по нашему мнению, образованием комплексов между инсулином и апоВ-белком в составе липопротеинов, что может влиять на стабилизацию инсулинорезистентности и гиперинсулинемии, поскольку препятствует элиминации инсулина из кровотока рецепторным путем, а также маскирует его реальный уровень в крови при данной патологии.

Литература

1. Балаболкин М.И., Кремникова В.М., Клебанова Е.М. Роль дисфункции эндотелия и окислительного стресса в механизмах развития ангиопатий при сахарном диабете 2-го типа. Кардиология 2004; 44, 7: 90–97.
2. Ильин В.С., Титова Г.В. О молекулярном механизме действия инсулина: Химические факторы регуляции активности и биосинтеза ферментов. М., 1969. 361 с.
3. Панков Ю.А. Достижения в исследовании молекулярной генетики сахарного диабета. Биомед. химия 2005; 51, 2: 107–117.
4. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Ф. и др. Основы биохимии. М., 1981. 1878 с.
5. Чумакова О.С., Затеищиков Д.А., Сидоренко Б.А. Аполипопротеин В: структура, функция, полиморфизм гена и связь с атеросклерозом. Кардиология 2005; 45, 6: 43–55.
6. Segrest J.P., Jones M.K., Loof H. et al. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. J. Lipid. Res. 2001; 42: 1346–67.
7. Raugaard B., Heath F., Hansen R.S. et al. Flow cytometric assessment of LDL ligand function for detection of heterozygous familial defective apolipoprotein B-100. Clin. Chem. 2000; 46: 224–233.
8. Соколик В.В., Божко Г.Х., Чурсина В.С., Перцева Т.Г. Спосіб діагностики інсулінорезистентності в тесті з гепарином. Декларац. патент на корисну модель № 18577 від 15.11.06.
9. Elman G.L. Tissue sulphydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 1959; 82: 70–72.

10. Соколик В.В., Чурсина В.С., Роденко О.С., Божко Г.Х. Особенности липидного состава липопротеинов сыворотки крови при инсулинорезистентности. Укр. біохім. журн. 2007; 79, 2: 62–69.
11. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липопротеидов и его нарушения. СПб.–Харьков–Минск, 1999. 512 с.
12. Ахметов А.С. Инсулиносекреция и инсулинорезистентность: две стороны одной медали. Пробл. эндокринолог. 2002; 48, 3: 31–37.
13. Панин Л.Е., Потеряева О.Н., Воронова О.С. и др. Фрагмент аполипопротеина В с инсулиноподобной иммунореактивностью. Пробл. эндокринолог. 2002; 48, 1: 6–9.

РОЛЬ СУЛЬФІДРИЛЬНИХ ГРУП БІЛКІВ У МЕХАНІЗМАХ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

В.В. Соколик

Визначали концентрацію SH-груп білків у апоА- і апоВ-вмісних фракціях ліпопротеїнів і сироватці крові пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу та здорових добровольців. Виявили зниження рівня SH-груп в апоВ-вмісній фракції ліпопротеїнів інсулінорезистентних хворих, а також подальше падіння цього показника під час ліпопротеїнолілізу. Результати досліджень *in vitro* обґрунтовують ймовірність утворення комплексу між інсуліном і апоВ у складі ліпопротеїнів сироватки крові пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Ключові слова: SH-групи, інсулін, ліпопротеїни, ЦД 2-го типу.

ROLE OF PROTEIN SULPHYDRATIC GROUPS IN MECHANISMS OF INSULIN RESISTANCE

V.V. Sokolik

The concentration SH-groups of proteins of lipoproteins apoA and apoB in blood serum were examined in patients with the type 2 diabetes mellitus and healthy volunteers. Were found decrease of SH-groups level in lipoproteins apoB, presented in insulin resistance patients blood serum, and also further fall of this index after an intensification of lipoproteinlipolises. The results *in vitro* experiments to assume the possibility complexes between insulin and apoB in structure of lipoproteins, presented in patients with the type 2 diabetes mellitus blood serum, formation.

Key words: SH-groups, insulin, lipoproteins, type 2 diabetes mellitus.

Поступила 06.08.07

РОЛЬ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА И АЛЬБУМИНА В ДИАГНОСТИКЕ ГИПЕРГЛИКЕМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

В.П. Калиман

Харьковский национальный медицинский университет

Обсуждается возможность диагностики и контроля некомпенсированных гипергликемических состояний у больных сахарным диабетом путем количественного и качественного определения гликированных протеинов крови в различные периоды жизни и с различной чувствительностью к редуцирующим факторам крови.

Ключевые слова: сахарный диабет, гликированные белки, альдиминовые соединения, кетоамины, редуцирующие факторы крови.

На момент постановки клинического диагноза сахарный диабет (СД) у больных уже имеется ряд осложнений в виде офтальмопатии, нефропатии, гипертензии, дислипидемии, ангиопатии [1–4]. Одной из главных причин возникновения и прогрессирования вторичных осложнений СД является хроническая гипергликемия (Diabetes Control and Complications Trial Group, 1993). Связь между хроническим повышенным содержанием глюкозы в крови и многочисленными осложнениями СД убедительно подтверждают многочисленные клинические исследования [1–4]. При строгом гликемическом контроле риск возникновения хронических осложнений у больных СД значительно снижается.

По данным UKPDS group, проводимым в 1998 г., гипогликемическая терапия, позволяющая снизить уровень гликированного гемоглобина только на 1 %, уменьшает риск возникновения таких вторичных осложнений, как микрососудистые осложнения (на 37 %), поражения периферических сосудов (на 43 %), а также летальность (на 21 %). Строгий гликемический контроль, позволяющий снизить уровень гликированного гемоглобина на 1–2 %, уменьшает стоимость лечения больного СД за один месяц на 35 %, а больного СД с поздними осложнениями в случае снижения уровня гликированного гемоглобина на 2 % – в 3,25 раза.

В настоящее время основным лабораторно-диагностическим показателем оценки компенсированности углеводного обмена у больных СД является уровень гликированного гемоглобина.

Общеизвестно, что большинство белков, синтезируемых в организме человека, подвергаются гликированию (неферментативному гликозилированию). Условно этот процесс можно разделить на ферментативный и неферментативный. Первый протекает в эндоплазматической сети клетки с участием фер-

ментов (гликозилтрансфераз), катализирующих наращивание олигосахаридной цепи на молекуле белка, и заканчивается образованием полноценного гликопротеина. Второй представляет собой реакцию химической конденсации белка с моносахаридом с дальнейшим превращением этого соединения. Неферментативное посттрансляционное гликозилирование происходит при нормальном функционировании белка и контакте его с глюкозой или другим редуцирующим моносахаридом. Химическая конденсация является реакцией соединения амина (NH_2 -группы) и альдегида (СНО-группы). Присоединение альдегида происходит, как правило, к свободной NH_2 -группе концевой аминокислоты, например, к валину у гемоглобина А (HbA_{1c}), или к одной из доступных Е-аминогрупп остатка лизина (у большинства белков) [5].

В связи со сказанным актуальной задачей является оптимизация диагностики и лечения некомпенсированных гипергликемических состояний, что позволит снизить риск развития вторичных осложнений СД. Это и было целью настоящей работы.

Материал и методы. В основу используемых в данной работе клинико-лабораторных методов определения неферментативно гликозилированных белков был положен процесс посттрансляционного образования гликированного протеина, который протекает в два этапа: 1-й – образование оснований Шиффа, протекает быстро и обратимо, возникающее при этом альбуминовое соединение легко гидролизует; 2-й – перегруппировка Амадори, протекает более длительно и завершается образованием стабильного кетоаминового соединения. Выраженность процесса неферментативного гликозилирования в первую очередь зависит от продолжительности контакта белка с глюкозой.

В связи с тем, что высокоспецифичным белком к альдегидной форме глюкозы явля-

ется альбумин сыворотки крови, который имеет четко определенный период жизни (19–20 дней), высокую предрасположенность к неферментативному гликированию, ограниченное влияние сопутствующих редуцирующих веществ, он был выбран в качестве биологического материала. На метод определения гликированного альбумина крови получен патент [6].

Параллельно проводилось количественное определение гликированного гемоглобина фракции HbA_{1c} модифицированным клинико-лабораторным методом с помощью стандартных наборов «Диабет-тест». Поскольку период жизни эритроцита составляет 90–120 дней, данный метод позволял определить адекватность гипогликемической терапии за более длительный промежуток времени.

Суть метода определения гликированного (неферментативно гликозилированного) гемоглобина заключалась в том, что стабильная форма гликированного гемоглобина содержит 1-дезоксиглюкозид-1-(N-валин) фруктозы и дегидратируется с образованием 5-оксиметил-2-фуральдегида, который взаимодействует с 2-тиобарбитуровой кислотой с формированием комплекса, владеющего максимумом абсорбции при 443 нм.

Полученные результаты были статистически обработаны [7].

Результаты и их обсуждение. Было обследовано 75 человек в возрасте от 25 до 50 лет.

Находящихся на диспансерном учете обследуемых больных разделили на четыре группы: 1-я – больные СД в стадии компенсации; 2-я – в стадии декомпенсации; 3-я – находящиеся в режиме интенсивной гипогликемической терапии; 4-я – находящиеся в обычном (плановом) режиме гипогликемической терапии. Контрольную группу составили условно здоровые люди.

У пациентов всех групп определяли содержание глюкозы в крови натощак, гликированного альбумина и гликированного гемоглобина.

Из вены брали цельную кровь в количестве 5,0 мл в одноразовый шприц и смешивали ее с цитратом натрия, после чего из крови выделяли цельный альбумин. Затем 10,0 мг выделенного цельного альбумина инкубировали с 2,0 мл насыщенной щавелевой кислоты в течение 3,5 ч при температуре 100 °С. После охлаждения инкубируемого соединения в опытную пробирку добавляли 1 мл 20%-ной трихлоруксусной кислоты, затем центрифугировали эту пробирку на протяжении 15 мин при 50 с⁻¹. Две пробы супернатанта (по 1,0 мл каждая проба) отбирали и отстаивали. Одну инкубировали с 0,25 мл насыщенного раствора тиобарбитуровой кислоты (опытная

проба), другую – с 0,25 мл дистиллированной воды (контрольная проба). После этого обе пробирки инкубировали на протяжении 50 мин при 40 °С. Измерения проводили на спектрофотометре в кюветах с длиной оптического пути 1,0 см, против контроля, при волне 443 нм. Для калибрования использовали серию растворов по 1,0 ммоль/л фруктозы. Единицы измерения – микромоляр фруктозамина на 10 мг альбумина (мкмоль ФА/10 мг).

Методика количественного определения гликированного гемоглобина в клинических условиях выполняется следующим образом. У пациента забирают 3 мл венозной крови и смешивают ее с тремя каплями гепарина, затем не менее двух раз отмывают эритроциты в изотоническом растворе NaCl путем центрифугирования забранного материала в течение 10–15 мин при скорости не менее 50 с⁻¹, каждый раз удаляя супернатант. Затем в центрифужную пробирку отбирают 0,5 мл полученной эритроцитарной массы, добавляют в нее 4,0 мл бидистиллята и оставляют на 15–18 часов для гемолиза эритроцитов. Вслед за этим пробирку центрифугируют в течение 10–15 мин при скорости не менее 50 с⁻¹. Затем 2,0 мл полученного гемолизата отбирают в другую химически чистую пробирку с притертой пробкой и добавляют в нее 1,0 мл 0,3 н. щавелевоуксусной кислоты. После этого пробирку инкубируют в течение одного часа при температуре 100 °С, после чего охлаждают при комнатной температуре до полного остывания. Добавляют 1,0 мл 40%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают встряхиванием. Через 10 мин пробирку центрифугируют в течение 10 мин при скорости не менее 50 с⁻¹. К 3,0 мл центрифугата добавляют 0,75 мл 0,05 М тиобарбитуровой кислоты, несколько раз перемешивая интенсивным встряхиванием. Затем пробирку инкубируют в течение 40 мин при 40 °С на водяной бане, фотометрируют при длине волны 443 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см против холостой пробы. Приготовление холостой пробы: 2 мл H₂O + 1 мл 0,3 н. щавелевоуксусной кислоты + 0,75 мл 0,05 М тиобарбитуровой кислоты. Расчет проводят по формуле: $E_{443} / 0,029 = \% HbA_{1c}$, где E_{443} – значение оптической плотности исследуемой крови; 0,029 – значение оптической плотности 1%-ного содержания гликированного гемоглобина; % HbA_{1c} – процент гликированного гемоглобина от общего гемоглобина крови.

Проведенные клинические исследования показали, что количественное содержание гликированного альбумина и гликированного гемоглобина в группе условно здоровых людей не зависит от пола, возраста, вредных

привычек, наличия или отсутствия беременности и т. д., однако количественное содержание гликированного альбумина и гликированного гемоглобина у больных с СД (во всех группах) достоверно превышает количественные показатели в группе условно здоровых людей ($p < 0,05$). Во всех группах больных СД отмечалась высокая степень корреляции ($r > 0,9$; $p < 0,05$) содержания гликированного альбумина и гликированного гемоглобина.

Коэффициент корреляции между гликированным альбумином и гликированным гемоглобином в первой опытной группе равнялся $r = 0,96$; во второй – $r = 0,97$; в третьей – $r = 0,98$; в четвертой – $r = 0,97$.

Количественное содержание гликированного альбумина и гликированного гемоглобина в группе больных СД в стадии декомпенсации (2-я группа) достоверно превышает ($p < 0,05$) таковое у больных СД в группе с компенсированной формой этого заболевания (1-я группа, $p < 0,05$). В группе больных СД, находящихся в режиме интенсивной гипогликемической терапии (3-я), отмечалось достоверное прогрессивное снижение концентрации гликированного альбумина с четкой корреляцией между уровнем гликемии и количеством гликированного альбумина ($r = 0,9$; $p < 0,05$). Отмечалась аналогичная тенденция по снижению гликированного гемоглобина, но достоверно менее выраженная ($p < 0,05$).

Литература

1. Диагностика, лечение и профилактика диабетических осложнений у детей и подростков. Под ред. И.И. Дедова. М., 1997: 5, 25–28.
2. Implementing the lessons of DCCT. Report of a national workshop under the auspices of the British Diabetic Association. 1994.
3. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837–853.
4. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1995; 44: 968–983.
5. Rifkin H., Perte D. Diabetes Mellitus. Theory and practice. Milano, 1990: 279–292.
6. Патент України 19667. Метод визначення глікованого альбуміну крові. В.П. Каліман, П.А. Каліман, М.О. Клименко та ін. Опубл. 15.12.2006. Бюл. № 12.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.

РОЛЬ ГЛІКОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ І АЛЬБУМІНУ В ДІАГНОСТИЦІ ГІПЕРГЛІКЕМІЧНИХ СТАНІВ

В.П. Каліман

Обговорюється можливість діагностики та контролю некомпенсованих гіперглікемічних станів хворих на цукровий діабет шляхом кількісного та якісного визначення глікованих протеїнів крові, які мають різні періоди життя та різну спорідненість до редуруючих чинників крові.

Ключові слова: цукровий діабет, гліковані білки, альдимінові сполуки, кетоаміни, редуруючі чинники крові.

ROLE OF GLYCATED HAEMOGLOBIN AND ALBUMIN IN THE DIABETES CONTROL

V.P. Kaliman

In the article discussing the possibility of diagnostics and control metabolism of glucose by connected with glucose and proteins which have different periods of life and different sensitiveness to the oxidation factors of blood.

Key words: diabetes mellitus, connected with glucose proteins, oxidation affinity to the factors of blood.

Поступила 02.07.07

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО АТРОФИЧЕСКОГО ГАСТРИТА, АССОЦИИРОВАННОГО С *H. PYLORI*

И.К. Кондаков, В.Ю. Гальчинская, А.Б. Шитова

ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины», г. Харьков

Проанализированы гастробиоптаты 61 больного с хроническим атрофическим гастритом слабой, средней и выраженной степени, ассоциированным с *H. pylori*. Получены морфологические и размерные характеристики элементов поверхностного и ямочного эпителия слизистой оболочки желудка, а также установлены особенности гистоархитектоники собственных желез. Морфометрические данные могут служить объективным критерием для оценки эффективности лечебных мероприятий и прогноза течения заболевания при анализе повторных гастробиопсий.

Ключевые слова: *хронический атрофический гастрит, H. pylori, морфометрические критерии оценки.*

Основной причиной возникновения и развития хронического атрофического гастрита является обсеменение слизистой оболочки желудка *H. pylori* [1, 2]. Хеликобактеры, вступая в контакт с эпителием, нарушают нормальные физиологические функции желез, что в конечном итоге приводит к развитию язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, предраковых состояний и раку желудка [2, 3]. Эффективная эрадикация не только приводит к восстановлению морфофункционального состояния эпителия желудка, но и способствует обратному развитию предраковых состояний [4–6]. Объективная морфологическая оценка структурно-функционального состояния эпителия слизистой оболочки желудка служит важным критерием для оценки эффективности лечебных мероприятий и прогноза течения заболевания [7]. Используемые клиническими морфологами полуколичественные методы описания состояния эпителия желудка носят субъективный характер. Для уменьшения доли субъективизации с введением Сиднейской системы (1990) и ее Хьюстонской модификации (1994) предложена визуально-аналоговая шкала [8, 9]. Однако с позиций доказательной медицины в ряде клинических ситуаций требуется точная количественная характеристика покровного и фовеолярного эпителия, а также состояния собственных желез слизистой оболочки желудка.

Поэтому целью настоящего исследования явился морфологический и морфометрический анализ состояния слизистой оболочки желудка на различных стадиях развития

хронического атрофического гастрита, ассоциированного с *H. pylori*.

Материал и методы. Материалом для исследования служили гастробиоптаты 61 больного с диагнозом хронический неатрофический и атрофический гастрит, ассоциированный с *H. pylori*. Гастробиоптаты брали из антрального отдела желудка. Биопсийный материал заливали в парафин, изготавливали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином для морфологического и морфометрического исследования и по Гимзе для оценки степени контаминации *H. pylori*. Верификацию патологического процесса и установление стадии заболевания проводили на гистологических препаратах по Сиднейской системе [1, 2]. На основании данных гистологического исследования весь биопсийный материал разделен на 4 группы: в 1-ю (относительный контроль) вошли биоптаты 10 пациентов с диагнозом хронический поверхностный гастрит; во 2-ю – 13 больных хроническим атрофическим гастритом слабой (+) степени; в 3-ю – 21 больного с умеренной (++) степенью и в 4-ю – биоптаты 17 пациентов с выраженной (+++) степенью тяжести течения заболевания. На гистологических препаратах под световым тринокулярным микроскопом с телевизионной приставкой с использованием морфометрической программы Biovision 3.0 в каждом наблюдении при увеличении 160, в 10 случайных полях зрения количественно определяли высоту покровного и ямочного эпителия желез, ширину и глубину желудочных ямок, абсолют-

ное число собственных желез на 1 мм² среза, расстояние между железами, а также средний диаметр желез. Математическую обработку метрических данных проводили с использованием U-критерия Уитни–Манна–Вилкоксона.

Результаты. Морфологический анализ гастробиоптатов 1-й группы лиц с хроническим поверхностным гастритом (ХПГ), проведенный с использованием визуально-аналоговой системы, представлен в табл. 1.

Таблица 1. Распределение больных с хроническим поверхностным гастритом в зависимости от степени контаминации хеликобактером по Сиднейской системе

| Показатель | Степень контаминации <i>H. pylori</i> | Кол-во больных |
|---|---------------------------------------|----------------|
| Степень контаминации <i>H. pylori</i> | + | 5 |
| | ++ | 5 |
| | +++ | 0 |
| Степень инфильтрации полиморфными лейкоцитами | – | 2 |
| | + | 8 |
| | ++ | 0 |
| Степень инфильтрации моноцитами | + | 10 |
| | ++ | 0 |
| | +++ | 0 |

Гистологически в 1-й группе при слабой степени контаминации хеликобактеры выявлялись исключительно в поверхностном слое слизи. При умеренной степени обсеменения бактерии располагались как в слизи, так и примыкали к поверхности покровного эпителия гребней желудочных валиков. Рельеф слизистой оболочки желудка у больных ХПГ образуются желудочные ямки, между которыми располагаются желудочные ямки. Покровный и ямочный эпителий антрального отдела желудка при слабой степени контаминации (+) расположен на базальной мембране и представлен однослойным столбчатым эпителием. Ядро клеток – овальной формы и занимает базальную часть цитоплазмы. Эпителий собственных желез дифференцирован, ядро клеток чаще округлой формы, расположено в центральной части цитоплазмы glanduloцитов. *Lamina propria*, окружающая собственные железы, компактна, образована тонкими коллагеновыми и ретикулиновыми волокнами (рис. 1).

Высота покровного эпителия в антральном отделе составляет (20,3±0,3) мкм. Ширина желудочных ямок во всех наблюдениях практически одинакова.

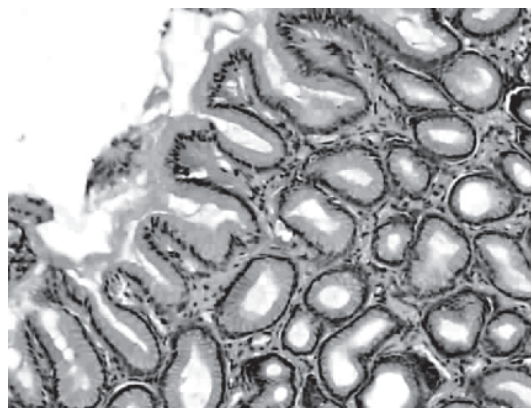


Рис. 1. Гастробиоптат больного хроническим поверхностным гастритом слабой степени контаминации *H. pylori*. Поверхностный, ямочный эпителий и glanduloциты собственных желез представлены однотипным, высоким столбчатым эпителием. Гастробиопсия антрального отдела. Окраска гематоксилин-эозином, ×160

Среднее расстояние между железами составляет (19,2±0,2) мкм. Наружный диаметр собственных желез в среднем не превышает (47,5±0,5) мкм.

При умеренной степени обсемененности (++) в участках контаминации покровный эпителий деформирован, ядра клеток дислоцированы и создают картину ложномногорядности. Границы эпителиоцитов в участках примыкания к ним бактерий смазаны. Собственная пластинка эпителия валиков и ямок разрыхлена, инфильтрирована моноцитами и нейтрофилами. Микроэрозии определялись в участках максимальной инфильтрации собственной пластинки лейкоцитами.

Результаты сравнительного анализа морфометрических данных слизистой оболочки больных с ХПГ различной степени контаминации *H. pylori* представлены в табл. 2.

Как видно из представленных данных, нарастание степени обсемененности *H. pylori* при ХПГ достоверно не влияет на изменение морфометрических параметров основных структурных компонентов слизистой оболочки желудка. Это позволяет использовать их в качестве относительного контроля при анализе морфологических и морфометрических изменений при хроническом атрофическом гастрите.

Морфологически общим для биоптатов 2-й и 3-й групп было то, что с нарастанием степени атрофии отмечалось прогрессирующее уменьшение количества желез в слизистой оболочке желудка. При слабой степени атрофии снижение числа собственных желез в слизистой оболочке желудка происходило за счет инфильтрации лейкоцитами собственной пластинки, которая раздвигает железы (рис. 2). При умеренной степени конта-

Таблица 2. Сравнительная морфометрическая характеристика состояния слизистой оболочки желудка у лиц с хроническим поверхностным гастритом различной степени контаминации *H. pylori*

| Степень контаминации <i>H. pylori</i> | Высота эпителия, мкм | Ширина ямок, мкм | Глубина ямок, мкм | Диаметр желез, мкм | Л между железами, мкм | Плотность желез на 1 мм ² среза |
|---------------------------------------|----------------------|------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|--|
| (+) | 20,30±0,36 | 50,00±0,48 | 105,30±0,61 | 47,50±0,49 | 19,2±0,2 | 126,0±1,1 |
| (++) | 20,2±0,3 | 50,0±1,0 | 104,2±2,0 | 46,9±0,7 | 18,9±0,4 | 126,2±1,0 |

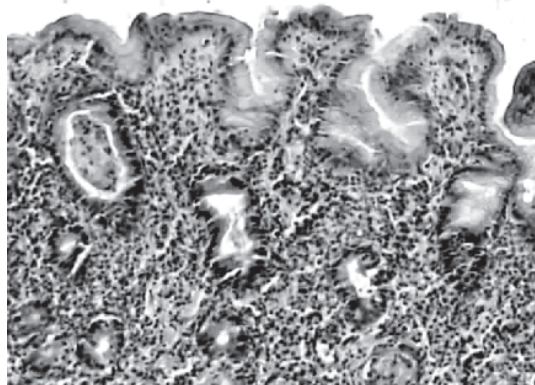


Рис. 2. Гастробиоптат больного активным хроническим атрофическим гастритом умеренной степени (++) . Атрофия покровного эпителия, укорочение ямок и массивная лейкоцитарная инфильтрация собственной пластинки и эпителия желез с формированием «крипт-абсцесов». Окраска гематоксилин-эозином, ×160

минации на первый план выходили атрофические и гиперпластические процессы. Необратимая утрата эпителия желез сопровождалась замещением их метаплазированным эпителием и фиброзной тканью. В строме желез наблюдалась выраженная гиперплазия гладкомышечных клеток с гиперпродукцией ретикулиновых и эластических волокон. Строма желез инфильтрирована небольшим числом лейкоцитов.

Морфометрически хронический атрофический гастрит слабой степени по сравнению с поверхностным характеризуется еще большей деформацией покровного и ямочного эпителия и его уплощением. В среднем высота эпителия составляет (14,7±0,4) мкм (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительная морфометрическая характеристика биопсий слизистой оболочки желудка при различных формах хронического атрофического гастрита ($M \pm t$)

| Хронический гастрит | Ширина ямки, мкм | Глубина ямки, мкм | Высота эпителия, мкм | Диаметр желез, мкм | Л между железами, мкм | Число желез на 1 мм ² среза |
|---------------------|------------------|-------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--|
| Поверхностный | 50,0±0,5 | 105,3±0,6 | 20,3±0,3 | 47,5±0,5 | 19,2±0,2 | 126,0±1,1 |
| Атрофический | | | | | | |
| 1-й ст. | 41,2±0,2 | 104±1,8 | 14,4±0,4* | 44,6±2,6 | 32,6±0,6* | 125,8±0,6 |
| 2-й ст. | 40,6±0,3* | 75,1±0,5* | 14,7±0,7* | 45,8±0,2 | 57,4±0,3* | 125,4±0,8 |
| 3-й ст. | 50,0±0,4 | 66,9±0,4* | 10,4±0,2* | 41,2±0,5* | 36,1±0,7* | 71,0±0,4* |

* $p < 0,05$.

Снижение высоты покровного и фовеолярного эпителия сопровождается некоторым уменьшением ширины желудочных ямок, которая составляет (41,2±0,4) мкм. Сужение ямок обусловлено лейкоцитарной инфильтрацией собственной пластинки и стромы желудочных валиков. Глубина ямок статистически не отличается от таковой в биоптатах 1-й группы и не превышает (104,0±8,8) мкм. Что касается наружного диаметра собственных желез слизистой оболочки желудка, то он остается неизменным – (44,6±2,6) мкм. Инфильтрация стромы собственных желез полиморфноядерными лейкоцитами значительно раздвигает их между собой и статистически достоверно увеличивает линейные расстояния между ними (32,6±0,6; $p < 0,05$). Однако общее число желез на единицу площади гистологического среза статистически не отличается от такового при ХПГ и составляет 125,0±7,5 на 1 мм² среза.

Для гастробиоптатов 3-й группы больных хроническим атрофическим гастритом умеренной (++) степени, наряду с массивной лейкоцитарной инфильтрацией собственной пластинки, эпителия и стромы желез, характерны еще более значительные изменения метрических параметров по сравнению с таковыми 1-й группы больных.

Глубина ямок в антральном отделе желудка достоверно снижена и составляет (75,1±5,0) мкм ($p < 0,05$). Массивная лейкоцитарная инфильтрация стромы слизистой оболочки желудка раздвигает собственные железы, что приводит к достоверному уве-

личению расстояния между ними, которое достигает $(57,4 \pm 0,3)$ мкм ($p < 0,05$). Создается впечатление, что у больных этой группы происходит уменьшение количества собственных желез. Однако общее число желез, рассчитанное на единицу площади гистологического среза, остается неизменным и составляет $122,4 \pm 5,4$ на 1 мм^2 среза.

У больных 4-й группы с выраженной степенью атрофии (+++) на первый план вышли атрофические и гиперпластические процессы (рис. 3). Обсемененность поверхности

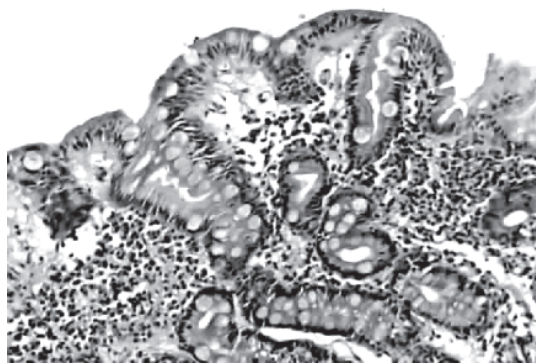


Рис. 3. Гастробиоптат больного хроническим атрофическим гастритом выраженной степени (+++) с неполной кишечной метаплазией. Среди обычного покровного и ямочного эпителия располагаются высокие призматические и бокаловидные клетки. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 160$

эпителиоцитов *H. pylori* в этих наблюдениях была слабой и средней (+, ++). Морфометрически высота ямочного и покровного эпителия снижается до $(10,4 \pm 0,2)$ мкм против $(20,3 \pm 0,3)$ мкм в 1-й группе (табл. 3). Эпителий собственных желез замещается молодыми, «незрелыми» glanduloцитами. В связи с атрофией фовеолярного эпителия желудочные ямки становятся короткими и извитыми. Размерные характеристики желудочных ямок составляют: ширина – $(50,0 \pm 0,4)$ мкм, глубина – $(66,9 \pm 0,4)$ мкм. В строме собственных желез воспалительный инфильтрат практически отсутствует. Собственные железы в слизистой оболочке расположены неравномерно, образуя в одних участках гнездовые скопления, в других – очаги депаренхимизации. Наружный диаметр собственных желез, несмотря на то, что они образованы «незрелым» эпителием, статистически достоверно не отличается от такового в предыдущей группе и составляет $(42,1 \pm 0,6)$ мкм ($p > 0,05$). Необратимая утрата соб-

ственных желез приводит к увеличению расстояния между железами [$(36,1 \pm 0,7)$ мкм] вследствие гиперплазии гладкомышечных клеток и гиперпродукции ими большого количества коллагеновых волокон. Абсолютное число желез на единицу площади гистологического среза почти в два раза ниже, чем при ХПГ, и составляет $71,4 \pm 0,6$ на 1 мм^2 среза ($p < 0,05$), что свидетельствует об истинной атрофии слизистой оболочки желудка.

Выводы

Проведенный сравнительный морфологический и морфометрический анализ исходного состояния эпителия желудка у больных хроническим поверхностным и атрофическим гастритом слабой, средней и выраженной степени, ассоциированным с *H. pylori*, позволил формализовать морфофункциональное состояние слизистой оболочки желудка. Для больных хроническим атрофическим гастритом слабой степени (+) характерно достоверное уменьшение высоты покровного и ямочного эпителия и увеличение расстояния между собственными железами по сравнению с этими показателями при хроническом поверхностном гастрите. У больных хроническим атрофическим гастритом умеренной степени (++) на фоне сниженной высоты покровного и фовеолярного эпителия достоверно уменьшается глубина желудочных ямок и отмечается трехкратное увеличение расстояний между собственными железами по сравнению с 1-й группой вследствие воспалительной инфильтрации стромы. Для хронического атрофического гастрита выраженной степени (+++) воспалительный компонент уходит на второй план. На первое место выходят метапластические и дистрофические изменения эпителия желез, а также гиперплазия клеточных элементов соединительнотканного матрикса стромы. Морфометрически для этой группы характерно еще большее снижение высоты glanduloцитов при неизменном диаметре желез и достоверное уменьшение числа желез на единицу площади гистологического среза.

Установленные размерные характеристики элементов поверхностного и ямочного эпителия слизистой оболочки желудка, а также гистоархитектоника собственных желез могут служить объективным критерием для оценки эффективности лечебных мероприятий и прогноза течения заболевания при анализе повторных гастробиопсий.

Литература

1. Бабак О.Я., Протас Ю.В. Хронический атрофический гастрит – точка отсчета начала канцерогенеза. Сучасна гастроентерологія 2005; 5: 9–15.

2. Kawaguchi H., Haruma K., Komoto K. et al. H. pylori infection is the major risk factor for atrophic gastritis. Am. J. Gastroenterol. 1996; 95: 959–962.
3. Kashimagi H. Ulcer and gastritis. J. Tradit. Clin. Med. 2004; 24: 252–255.
4. Оразиев Э.М., Нурбаев Ф.Э., Рахимова Г.Ш. Эффективность эрадикационной терапии у больных язвенной болезнью при различном режиме приема препаратов. Клини. медицина 2003; 6: 48–49.
5. Передерий В.Г., Ткач С.М., Марусевич Б.Н. и др. Эрадикация H. pylori как профилактическая стратегия при лечении рака желудка. Сучасна гастроентерологія 2005; 5: 4–9.
6. Wong B.C.Y., Lam S.K., Wong W.-M. et al. Eradication of H. pylori infection significantly slows down the progression of precancerous lesions in high risk population: a 5 year prospective randomized study. Gastroenterology 2001; 122 (Suppl.): A588.
7. Ruiz B., Garay J., Cjrrea P. et al. Morphometric evaluation of gastric antral atrophy: improvement after cure H. pylori infection. Scand. J. Gastroenterol. 2002; 16: 1449–56.
8. Аруин Л.И., Исаков В.А. Оценка обсемененности слизистой оболочки желудка Helicobacter pylori и активности хронического гастрита. Архив патол. 1995; 3: 75–76.
9. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада-Х, 1998. 483 с.

МОРФОЛОГІЧНА І МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ХРОНІЧНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З H. PYLORI

I.K. Kondakov, V.Yu. Galchinskaya, G.B. Shitova

Проаналізовані гастробіоптати 61 хворого з хронічним атрофічним гастритом слабкого, середнього і вираженого ступеня, асоційованим з H. pylori. Отримані морфологічні і розмірні характеристики елементів поверхневого і ямкового епітелію слизової оболонки шлунка, а також установлені особливості гістоархітектоніки власних залоз. Морфометричні дані можуть служити об'єктивним критерієм для оцінки ефективності лікувальних заходів і прогнозу перебігу захворювання при аналізі повторних гастробіопсій.

Ключові слова: хронічний атрофічний гастрит, H. pylori, морфометричні критерії оцінки.

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRICAL CHARACTERISTIC OF GASTRIC MUCOSA OF H. PYLORI-ASSOCIATED CHRONIC ATROPHICAL GASTRITIS AT DIFFERENT STAGES

I.K. Kondakov, V.Yu. Galchinskaya, A.B. Shitova

Gastric biopsies obtained from 61 patients with H. pylori-associated chronic atrophical gastritis of weak, moderate and expressed degree were analyzed. The morphological and dimensional characteristics of elements superficial and foveolar gastric mucosa epithelium were obtained and as well peculiarities of histoarchitectonic of own glands were established. Morphometric data may serve objective criterion for estimation the effectiveness of treatment and prognosis of disease development at analysis of recapitulative gastric biopsies.

Key words: chronic atrophical gastritis, H. pylori, morphometrical analysis.

Поступила 25.09.07

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ДУОДЕНАЛЬНОЙ ЯЗВЫ В ПОДРОСТКОВОМ ВОЗРАСТЕ

И.В. Сорокина, Л.А. Страшок, Н.И. Горголь*

Харьковский национальный медицинский университет

**Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Воспалительные изменения в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки при дуоденальной язве у девушек и юношей формируются по-разному. У юношей воспаление поддерживается высоким уровнем кортизола и пролактина, у девушек – трийодтиронина и пролактина. Пролактин и эстрадиол у всех подростков с дуоденальной язвой потенцировали пролиферативные процессы и синтез коллагена в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки.

Ключевые слова: *дуоденальная язва, подростки, гормоны, слизистая оболочка желудка и двенадцатиперстной кишки.*

Изменения гормонального фона при язвенной болезни изучаются на протяжении полувека. Многочисленные данные достаточно противоречивы и указывают как на протективное, так и на ulcerогенное действие кортикостероидных, половых, тиреоидных гормонов [1–3]. Результаты исследований не дают достаточных оснований, чтобы говорить о главенствующей роли гормональных нарушений в патогенезе язвенной болезни. Во-первых, данные, касающиеся содержания отдельных гормонов у больных язвенной болезнью, противоречивы, во-вторых, даже если признать существование гормональных нарушений при язвенной болезни, трудно ответить на вопрос, являются ли они первичными, то есть предшествующими, или же возникли вторично, на фоне течения болезни. Не всегда просто решить, играют ли выявленные нарушения в содержании гормонов патогенетическую роль или же они несут защитно-приспособительный характер [1–3].

Гормональное звено – неотъемлемая часть системной регуляции. Чрезвычайно значим возрастной аспект проблемы нейрогормональной регуляции. Фазе «роста» (от 15 до 25 лет) соответствует более высокий уровень и более широкий диапазон лабильности нейроэндокринной регуляции при разной степени компенсированности любых патологических состояний по сравнению с фазой «стационарного развития» (от 26 до 55 лет). В фазе «роста» и при компенсации действует «тироксинный вектор», в фазе «стационарного развития» и при декомпенсации – «кортизоловый вектор». По-видимому, изменением модальности гуморальной составляющей системной регуляции в зависимости от возраста и степени компенсации

измененной функции и объясняются столь противоречивые и неоднозначные изменения в гормональном статусе при язвенной болезни [4]. Работ, посвященных исследованию гормонального статуса при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, или дуоденальной язве, и его влияния на «locus morbi» в подростковом возрасте, нами не найдено.

Целью данного исследования было изучение роли гормонов у подростков с дуоденальной язвой и определение их влияния на характер повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СОДК).

Материал и методы. Обследовано 70 подростков (42 юноши и 28 девушки) 15–18 лет с дуоденальной язвой в стадии обострения заболевания. Диагноз верифицирован на основании клинико-анамнестического и эндоскопического обследования. Содержание гормонов щитовидной железы, кортизола, пролактина и половых стероидов определяли радиоизотопным методом при помощи стандартных наборов фирмы «Amersham». У 28 больных (18 юношей и 10 девушек) при ФЭГДС проведен забор гастробиоптатов и биоптатов из двенадцатиперстной кишки. Морфологические изменения оценивали отдельно в антральном и фундальном отделах желудка и в двенадцатиперстной кишке по стандартным методикам. Рибонуклеопротеиды выявляли окраской по методу Браше, кислые гликозамингликаны – окраской альциановым синим, нейтральные гликозамингликаны – PAS-реакцией. Гистологический диагноз устанавливали на основании модифицированной Сиднейской системы (1990). Количественную оценку состояния СОЖ и СОДК выполняли морфометрически с помощью компьютерно-

го цитоанализатора Olympus BX-41 (Япония), окуляра микрометра АМ9-2, окулярной линейки и сетки Г.Г. Автандилова. Иммуноморфологическое исследование проводили непрямым методом Кунса по методике Brosnan. Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител: ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α – Chemicon (USA), индекс апоптоза – CD95, коллаген I типа – Novocastra Lab. Ltd (Великобритания), коллаген III типа – ИМТЕК Ltd (Россия). Результаты иммуногистохимического исследования СОЖ и СОДК сравнивали с аналогичными показателями у подростков при хроническом гастродуодените. Полученные данные статистически обработали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни и коэффициента парной корреляции [5].

Результаты и их обсуждение. У всех подростков с дуоденальной язвой отмечался поверхностный или гипертрофический гастрит. Изменения, вызванные гастритом, обнаруживались одновременно в антральном и фундальном отделах желудка у 8 [(29 \pm 9) %] больных, а изолированно – в антральном отделе у 20 [(71 \pm 9) %] пациентов. Слабая активность антрального гастрита выявлена у 13 [(45 \pm 9) %] больных, умеренная – у 15 [(54 \pm 9) %]. Активность фундального гастрита у всех больных была слабой. Поверхностный гастрит при дуоденальной язве сопровождался выраженными дистрофическими изменениями в поверхностном эпителии, железистом аппарате, стромальном компоненте и нарушением микроциркуляции. Дистрофические и дегенеративные изменения эпителиального пласта были качественными, а не количественными. Высота эпителия СОЖ составляла (28,64 \pm 0,23) мкм при норме (30,07 \pm 0,42) мкм, то есть не отличалась от нормальных значений, но его функциональная активность была снижена, что проявлялось достоверным уменьшением толщины слоя слизи – (129,36 \pm 0,42) мкм при норме (149,0 \pm 6,6) мкм, $p < 0,01$. Качественные изменения эпителия СОЖ подтвер-

ждались снижением интенсивности окрашивания по Браше и при PAS-реакции, что свидетельствовало об уменьшении образования нейтральных гликозамингликанов и рибонуклеопротеидов и было следствием метаплазии желудочного эпителия. У 18 [(64 \pm 9) %] подростков в слизистой оболочке антрального отдела были обнаружены *H. pylori*, а в фундальном отделе они выявлялись в 5 [(18 \pm 7) %] случаях.

Дистрофические изменения эпителия сочетались с выраженной инфильтрацией собственной пластинки СОЖ лимфоцитами, плазмócитами, макрофагами, эозинофилами и нейтрофильными гранулоцитами, среди которых определялись клетки-продуценты ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α (табл. 1).

Степень инфильтрации клетками-продуцентами ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6 СОЖ при дуоденальной язве была достоверно выше, а количество клеток-продуцентов ФНО- α – достоверно ниже, чем при хроническом гастродуодените. Инфильтрация СОЖ клетками-продуцентами провоспалительных цитокинов закономерна и отражает степень напряжения защитных механизмов [6]. У подростков с дуоденальной язвой было выявлено незначительное присутствие клеток-продуцентов ФНО- α в СОЖ, а обычно их количество изменяется аналогично изменению количества клеток-продуцентов ИЛ-1 β . Эти цитокины вырабатываются одинаковыми пулами клеток. Но основными клетками-продуцентами ИЛ-1 β являются активированные макрофаги и CD4+Th2, а ФНО- α синтезируется макрофагами и CD4+Th1. В данном исследовании отмечено повышение продукции ИЛ-1 β и ИЛ-4, что косвенно свидетельствует о том, что лимфоциты, инфильтрирующие СОЖ, относятся к CD4+ Th2. Также кортизол, уровень которого был повышен у обследованных больных, способен блокировать рецепторы клеток-продуцентов ФНО- α , оставляя открытыми рецепторы к ИЛ-1 β [7]. Слабая плотность инфильтрации слизистой оболочки клетками-продуцентами ФНО- α способству-

Таблица 1. Относительное количество клеток-продуцентов цитокинов (в пересчете на 100 клеток) в воспалительном инфильтрате слизистой оболочки желудка (СОЖ) и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СОДК) у подростков с дуоденальной язвой и хроническим гастродуоденитом ($M \pm t$)

| Показатель | Дуоденальная язва (n=28) | | Хронический гастродуоденит (n=14) | |
|---------------|-------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|
| | СОЖ | СОДК | СОЖ | СОДК |
| ИЛ-1 β | 17,81 \pm 0,43* | 16,85 \pm 0,54 | 14,24 \pm 0,42* | 16,28 \pm 0,33 |
| ИЛ-4 | 11,77 \pm 0,41 [#] | 16,18 \pm 0,39* | 9,11 \pm 0,32 [#] | 13,21 \pm 0,22* |
| ИЛ-6 | 18,44 \pm 0,49 [#] | 15,11 \pm 0,33* | 13,52 \pm 0,31 [#] | 11,32 \pm 0,44* |
| ФНО- α | 1,71 \pm 0,08 [^] | 1,84 \pm 0,08 | 2,23 \pm 0,18 [^] | 1,51 \pm 0,22 |

* $p < 0,001$; [#] $p < 0,01$; [^] $p < 0,05$.

ет низкому уровню апоптоза и потенцирует пролиферативные процессы.

В перипиллорозной зоне у всех больных определялся поверхностный активный хронический дуоденит. Слабая степень активности выявлена у 16 [(57±9) %] пациентов, умеренная – у 12 [(42±9) %]. Воспалительный процесс в СОДК характеризовался умеренными дистрофическими изменениями и микроциркуляторными нарушениями, аналогичными таковым в СОЖ. На вершинах ворсинок выявлялись незначительные желудочные метаплазии с умеренной обсемененностью *H. pylori*. В составе клеточного инфильтрата обнаруживались клетки лимфоидного ряда, плазматические клетки, макрофаги, нейтрофильные гранулоциты, много эозинофилов, клеток-продуцентов ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6 и единичные клетки-продуценты ФНО-α (табл. 1).

Характер хронического воспаления и деструктивных повреждений слизистой оболочки гастроуденальной зоны во многом определяется взаимосвязью процессов некроза, апоптоза и пролиферации. Индекс апоптоза эпителиоцитов был достоверно выше у подростков с дуоденальной язвой в отличие от подростков с хроническим гастроуденитом (2,77±0,09 и 2,47±0,09, $p<0,01$ для СОЖ и 2,99±0,06 и 2,50±0,11, $p<0,01$ для СОДК). Этот показатель имел тенденцию к повышению в СОДК по сравнению с СОЖ. Относительно невысокие показатели апоптоза, по-видимому, можно объяснить высоким уровнем андрогенов и провоспалительных цитокинов – естественных ингибиторов этого процесса. А незначительная инвазия *H. pylori* и слабо выраженные явления метаплазии, возможно, были недостаточным стимулом для массового «суицида» клеточных элементов. В то же время невысокий уровень апоптоза приводит сначала к значительной пролиферативной активности клеток, затем к дисплазии и неоплазии, так как естественный механизм удаления клеток с измененным геномом не срабатывает.

Состояние стромального компонента СОЖ и СОДК было оценено по уровню свечения интерстициальных коллагенов I и III типов (табл. 2). При дуоденальной язве выявлено достоверное снижение в 1,5–2,0 раза содержания обоих коллагенов по сравнению с хроническим гастроуденитом. Преобладал молодой, незрелый коллаген III типа, выявлявшийся в виде свечения умеренной интенсивности очагового характера. Коллаген I типа определялся в виде очагового яркого свечения. Интерстициальные коллагены, входящие в состав стромально-сосудистого компонента пищеварительного тракта, играют

большую роль в обеспечении трофики эпителия желудочно-кишечного тракта. При повышенной активности фибробластов продуцируется интерстициальный коллаген I типа и формируется рубец, выходящий за границы язвы [8]. Это обуславливает «низкое качество заживления». В слизистой оболочке больных было выявлено преобладание коллагена III типа, что обеспечивало «удовлетворительное качество заживления», однако не приводило к восстановлению трофической и опорной функции и способствовало персистенции воспалительного и деструктивного процесса.

Таблица 2. Интенсивность свечения коллагена в собственной пластинке слизистой оболочки желудка (СОЖ) и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СОДК) у подростков с дуоденальной язвой и хроническим гастроуденитом ($M\pm m$)

| Коллаген | Дуоденальная язва (n=28) | Хронический гастроуденит (n=14) |
|----------|--------------------------|---------------------------------|
| В СОЖ | | |
| I типа | 10,18±0,35 | 18,51±0,55 |
| III типа | 12,89±0,59 | 26,54±1,01 |
| В СОДК | | |
| I типа | 9,24±0,48 | 12,92±0,52 |
| III типа | 12,64±0,44 | 19,90±0,88 |

Примечание. $p<0,001$.

Результаты исследования гормонов в сыворотке крови подростков с дуоденальной язвой представлены в табл. 3. Выявлено достоверное увеличение уровня трийодтиронина (T_3). Повышение концентрации наиболее биологически активной фракции тиреоидных гормонов определяло особенности течения метаболических и репаративных процессов в организме подростка. Выявлены отрицательные корреляционные связи между уровнем T_3 у юношей ($r=-0,42$; $p<0,05$) и степенью инфильтрации слизистой оболочки клетками-продуцентами ИЛ-1β, ФНО-α и содержанием коллагена I и III типов. У девушек, наоборот, определялись положительные корреляционные связи между уровнем T_3 и степенью инфильтрации слизистой оболочки клетками-продуцентами цитокинов ИЛ-1β, ФНО-α и содержанием коллагена I и III типов ($r=+0,53$; $p<0,05$). То есть T_3 потенцировал воспалительные реакции у девушек и снижал их у юношей.

У юношей с дуоденальной язвой отмечено значительное повышение уровня кортизола, у девушек его концентрация имела лишь тенденцию к увеличению. Кортизол в высоких концентрациях повышает секрецию провос-

Таблиця 3. Содержание гормонов в крови у подростков с дуоденальной язвой ($M \pm m$)

| Показатель | Контроль | | Дуоденальная язва | |
|------------------------|--------------|----------------|-------------------|------------------|
| | юноши (n=16) | девушки (n=17) | юноши (n=42) | девушки (n=28) |
| Трийодтиронин, нмоль/л | 0,91±0,22 | 0,27±0,11 | 2,27±0,34* | 1,96±0,26* |
| Тироксин, нмоль/л | 122,01±7,12 | 122,01±7,12 | 103,59±6,89 | 146,92±24,23 |
| Кортизол, нг/л | 667,56±90,02 | 591,34±68,12 | 1123,21±158,22*# | 626,38±86,95# |
| Пролактин, мкМЕ/л | 192,58±38,61 | 232,14±42,8 | 999,79±426,21* | 1351,82±410,06*# |
| Тестостерон, нг/л | 4,21±0,22 | 0,62±0,13 | 24,18±5,29* | 4,91±0,97* |
| Эстрадиол, нмоль/л | 0,46±0,11 | 0,83±0,21 | 0,76±0,18* | 1,15±0,22 |

* $p < 0,001$ по отношению к контрольной группе; # $p < 0,05$ между юношами и девушками.

палительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α), активирует синтез коллагена в фибробластах. Кортизол в физиологических дозах оказывает противовоспалительное действие, угнетает выработку ИЛ-1 β , ИЛ-6 и активность фибробластов. Адекватное изменение уровня этого гормона способствует оптимальному течению воспалительного процесса [1, 2, 6]. Анализ коэффициентов парной корреляции выявил положительные связи между уровнем кортизола у юношей с дуоденальной язвой и степенью инфильтрации клетками-продуцентами ИЛ-1 β , ИЛ-6, с индексом апоптоза и содержанием коллагена I и III типов в СОЖ и СОДК ($r = +0,45$; $p < 0,05$). Высокая активность воспалительного процесса у юношей с дуоденальной язвой сопровождалась повышением уровня кортизола. У девушек с дуоденальной язвой корреляционные связи между концентрацией кортизола, уровнем ИЛ-1 β и содержанием коллагена I и III типов в СОЖ и СОДК ($r = -0,53$; $p < 0,05$) имели отрицательный характер, что, возможно, связано с его противовоспалительным действием. По закону обратной связи высокий уровень кортизола в периферической крови блокирует выделение АКГГ, который принимает участие в формировании адаптивной гастроцитопротекции [6, 7]. Поэтому у юношей на фоне гиперкортизолемии создаются условия, способствующие формированию деструктивных и рубцовых поражений СОЖ и СОДК.

У всех обследованных подростков с дуоденальной язвой отмечалось достоверное повышение уровня пролактина. Пролактин способствует пролиферации лимфоидных клеток и эпителия желудка, угнетает процессы апоптоза, модулирует реакции клеточного иммунитета. Анализ коэффициентов парной корреляции выявил у всех больных положительную связь между уровнем пролактина и высотой эпителия желудка, количеством клеток-продуцентов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4, ФНО- α и содержанием коллагена I и III типов ($r = +0,45$; $p < 0,05$ у юношей и $r = +0,53$;

$p < 0,05$ у девушек). Таким образом, можно предположить, что этот гормон оказывает стимулирующее влияние на пролиферативные процессы в лимфоидной, эпителиальной и соединительной тканях СОЖ и СОДК.

У юношей с дуоденальной язвой между количеством клеток-продуцентов ИЛ-1 β , ИЛ-6 в СОЖ и СОДК и уровнем тестостерона выявлена отрицательная корреляционная связь ($r = -0,45$; $p < 0,05$). Тестостерон подавляет регенерацию, пролиферацию и апоптоз эпителия, что подтверждается наличием отрицательных корреляционных связей между содержанием тестостерона, индексом апоптоза, высотой эпителия, толщиной слизи и содержанием коллагена I и III типов в СОЖ и СОДК ($r = -0,45$; $p < 0,05$). Таким образом, повышение уровня тестостерона у юношей способствовало формированию деструктивных поражений СОЖ и СОДК из-за нарушения оптимального уровня регенерации и пролиферации.

У девушек дуоденальная язва сопровождалась гиперандрогенией, и достоверные положительные корреляционные связи были выявлены между уровнем тестостерона и высотой эпителия слизистой оболочки, а также между уровнем тестостерона и толщиной слизи ($r = +0,53$; $p < 0,05$), что можно объяснить анаболическими эффектами андрогенов.

Анализ эстрогенов при дуоденальной язве выявил парадоксальный эффект влияния этого гормона на СОЖ и СОДК в подростковом возрасте. Эстрогены регулируют рост и дифференцировку клеток железистого эпителия желудка, повышают слизеобразование [1, 2]. Однако в нашем исследовании выявлены отрицательные корреляционные связи между уровнем эстрадиола, высотой эпителия слизистой оболочки и толщиной слизи ($r = -0,45$; $p < 0,05$ у юношей и $r = -0,53$; $p < 0,05$ у девушек). Эстрогены потенцируют универсальную систему противомикробной защиты. Выявлены также отрицательные корреляционные связи между содержанием эстрадиола и количеством клеток-продуцентов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α ($r = -0,45$; $p < 0,05$ у юношей и

$r=-0,53$; $p<0,05$ у девушек). Такой необычный эффект, по-видимому, был обусловлен относительным дефицитом женских половых гормонов. Выявлены положительные корреляционные связи между содержанием эстрогенов и количеством коллагена в слизистой оболочке ($r=+0,45$; $p<0,05$ у юношей и $r=+0,53$; $p<0,05$ у девушек). Количество эстрогенов, по-видимому, было достаточным для обеспечения пролиферативной фазы воспалительного процесса. Активация пролиферации, как правило, сопряжена с явлениями апоптоза. У всех больных были выявлены положительные корреляционные связи между уровнем эстрогенов и индексом апоптоза в слизистой оболочке ($r=+0,45$; $p<0,05$ у юношей и $r=+0,53$; $p<0,05$ у девушек).

Выводы

Воспалительный ответ и процессы регенерации у юношей и девушек с дуоденальной язвой формировались по-разному. У юношей воспаление в слизистой оболочке

желудка и слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки при дуоденальной язве сопровождалось повышением уровня кортизола и пролактина, пролиферативные процессы и апоптоз активизировались при увеличении концентрации эстрадиола и пролактина. У девушек плотность инфильтрации клетками-продуцентами провоспалительных цитокинов возрастала при повышении уровня трийодтиронина и пролактина. Гиперплазия эпителиального и стромального компонентов слизистой оболочки желудка и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у девушек потенцировалась половыми стероидами и пролактином. Особенности гормонального профиля и их роль в проявлении воспалительных и деструктивных повреждений слизистой оболочки желудка и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при дуоденальной язве следует учитывать при выборе рациональной терапевтической тактики.

Литература

1. Дегтярева И.И. Заболевания органов пищеварения. К., 1999. 312 с.
2. Майкова Т.В. Вплив стану нейрогуморальної ланки регуляції на фактори резистентності слизової оболонки шлунково-дуоденальної зони у хворих з поєднаною патологією органів травлення: Гастроентерологія. Міжвід. зб., присвяч. 25-річчю кафедри гастроентерол. і терапії ДДМА. Вип. 35. Дніпропетровськ, 2004: 33–48.
3. Гайдичук В.С. Вміст в крові деяких гормонів та морфометричні особливості слизової оболонки шлунка при виразковій хворобі у хворих різного віку в динаміці лікування: Матер. симпозиуму «Актуальні питання реабілітації гастроентерологічних хворих», м. Чернівці, 17–18 квітня 1996 р. Чернівці, 1996: 68–72.
4. Бибииков Л.А., Ярилов С.В. Системная медицина (путь от проблем к решению). СПб.: НИИХ С.-ПбГУ, 2000. 154 с.
5. Лалач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.
6. Filaretova L., Podvigina T., Bobryshev P., Bagaeva T. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: the hidden gold in gastric mucosal homeostasis. *Inflammopharmacology* 2006; 14, 5–6: 207–213.
7. Tache Y. Corticotropin releasing factor receptor antagonists: potential future therapy in gastroenterology? *Gut*. 2004; 53: 919–921.
8. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада-Х, 1998. 483 с.

ГОРМОНАЛЬНИЙ СТАТУС ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ДУОДЕНАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ В ПІДЛІТКОВОМУ ВІЦІ

I.V. Sorokina, L.A. Strashok, N.I. Gorgol

Запальні зміни у слизовій оболонці шлунка та дванадцятипалої кишки у юнаків і дівчат з дуоденальною виразкою формуються по-різному. У юнаків запалення підтримується високим рівнем кортизолу та пролактину, у дівчат – трийодтироніну та пролактину. Пролактин і естрадіол у всіх підлітків з дуоденальною виразкою потенціювали проліферативні процеси та синтез колагену у слизовій оболонці шлунка та дванадцятипалої кишки.

Ключові слова: дуоденальна виразка, слизова оболонка шлунка та дванадцятипалої кишки, підлітки, гормони.

HORMONAL STATE AND IMMUNOLOGICAL FEATURES OF THE DUODENAL ULCER ELABORATION AT THE JUVENILE AGE

I.V. Sorokina, L.A. Strashok, N.I. Gorgol

Inflammatory changes in the mucous coat of stomach and duodenum for young women and young men differ. At young men the inflammatory process is supported by high level of cortisol and prolactin hormones and at young women – triiodothyronine and prolactin hormones. Prolactin and estradiol for all juveniles who have duodenal ulcer potentiated proliferous process and collagen synthesis in the mucous coat of stomach and duodenum.

Key words: duodenal ulcer, mucous coat of stomach and duodenum, juveniles, hormones.

Поступила 04.07.07

ЭТИОЛОГИЯ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ И МЯГКИХ ТКАНЕЙ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ИХ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

*А.Я. Цыганенко, Е.В. Гирич, О.А. Головина**

Харьковский национальный медицинский университет

**Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины, г. Харьков*

Изучена этиология гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей и определена чувствительность к антибиотикам основных возбудителей этой группы заболеваний. Установлено, что основными возбудителями являются *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *E. coli*. На основе установленной структуры возбудителей и их чувствительности к антибиотикам для эмпирической терапии названных заболеваний рекомендованы амикацин и нетилмицин.

Ключевые слова: *заболевания кожи и мягких тканей, штаммы микроорганизмов, антибиотикочувствительность.*

Гнойно-воспалительные заболевания кожи и мягких тканей относятся к числу часто встречающихся хирургических инфекций, приводящих к нетрудоспособности взрослого населения. Антибактериальная терапия, наряду с хирургическими способами санации инфекционного очага, является основным методом лечения данной патологии [1].

При гнойно-воспалительных заболеваниях кожи и мягких тканей антибактериальные препараты назначаются как системно, так и местно в виде комплексной или монотерапии. Успех антибактериальной терапии зависит от правильного выбора антибиотика, который возможен только при наличии информации о чувствительности предполагаемого возбудителя. Однако в большинстве случаев терапия начинается эмпирически, в связи с чем необходимо располагать локальными данными об антибиотикорезистентности [2].

Целью настоящей работы явились исследование структуры возбудителей, изучение их чувствительности к антибиотикам и выбор рациональной антибиотикотерапии гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей.

Материал и методы. В исследование были включены пациенты с первичными и вторичными гнойно-воспалительными заболеваниями кожи и мягких тканей, находившиеся на лечении в Институте общей и неотложной хирургии АМН Украины в 2006–2007 гг. Выделение и идентификация чистых культур микроорганизмов проводились в соответствии с общепринятыми методами [3]. Чувствительность выделенных клинических штаммов к антибиотикам изучали методом диффузии препарата в агар с исполь-

зованием индикаторных стандартных дисков в соответствии с методическими рекомендациями [4, 5]. Полученные результаты статистически обработали [6].

Результаты и их обсуждение. От 291 больного с гнойно-воспалительными заболеваниями кожи и мягких тканей было выделено 329 штаммов микроорганизмов. Исследования показали, что в выделенной от больных флоре незначительно преобладают грамположительные бактерии (51,9 %): *S. aureus* – 88 (26,7 %), *S. epidermidis* – 46 (14 %), *Enterococcus* – 21 (6,4 %), *S. saprophyticus* – 2 (0,6 %), *S. pneumoniae* – 2 (0,6 %), *S. pyogenes* – 4 (1,2 %), *S. viridans* – 8 (2,4 %). Среди них ведущую позицию занимает *S. aureus*.

Второе место принадлежит грамотрицательным микроорганизмам (48,9 %): *P. aeruginosa* – 75 (22,8 %), *E. coli* – 69 (21 %), *P. vulgaris* – 17 (5,16 %). Основными из них являются *P. aeruginosa* и *E. coli*. Микроорганизмы были выделены как в монокультуре, так и в ассоциациях.

Несмотря на многообразие антибактериальных препаратов различного химического строения и механизмов действия, выбор антибиотика для лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей остается сложной задачей для клиницистов. Трудности выбора определяются вынужденным эмпирическим подходом к антибиотикотерапии на первых этапах лечения и ростом резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [7].

Чувствительность наиболее часто встречающихся возбудителей к применяемым антибиотикам показана в таблице.

Из таблицы следует, что выделенные штаммы *S. aureus* наиболее чувствительны

Чувствительность возбудителей к антибиотикам

| Антибиотики | Абсолютное число штаммов | | | | | | | | |
|------------------|--------------------------|----|----|---------------|----|----|---------|---|----|
| | S. aureus | | | P. aeruginosa | | | E. coli | | |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Бензилпенициллин | 87 | 0 | 1 | 75 | 0 | 0 | 69 | 0 | 0 |
| Оксациллин | 50 | 8 | 30 | 74 | 0 | 1 | 67 | 0 | 2 |
| Амписульбин | 81 | 0 | 7 | 74 | 0 | 1 | 68 | 0 | 1 |
| Доксициклин | 29 | 3 | 56 | 57 | 3 | 15 | 52 | 5 | 12 |
| Левомецетин | 50 | 16 | 22 | 72 | 0 | 3 | 62 | 3 | 4 |
| Рифампицин | 58 | 2 | 28 | 72 | 0 | 3 | 66 | 0 | 3 |
| Гентамицин | 29 | 6 | 53 | 62 | 6 | 7 | 53 | 4 | 11 |
| Нетилмицин | 29 | 8 | 51 | 57 | 3 | 15 | 39 | 5 | 25 |
| Амикацин | 23 | 14 | 51 | 44 | 10 | 21 | 38 | 7 | 24 |
| Ванкомицин | 73 | 0 | 15 | 68 | 0 | 7 | 66 | 0 | 3 |
| Ципрофлоксацин | 39 | 8 | 41 | 57 | 13 | 5 | 48 | 8 | 13 |
| Офлоксацин | 37 | 7 | 44 | 64 | 1 | 10 | 47 | 7 | 15 |
| Авелокс | 51 | 0 | 37 | 63 | 1 | 11 | 57 | 2 | 10 |
| Лефлоцин | 43 | 3 | 42 | 65 | 0 | 10 | 55 | 3 | 11 |
| Цефалексин | 36 | 14 | 38 | 73 | 0 | 2 | 59 | 5 | 5 |
| Цефазолин | 52 | 0 | 36 | 73 | 0 | 2 | 64 | 1 | 4 |
| Цефутоксим | 43 | 8 | 37 | 71 | 0 | 4 | 60 | 2 | 7 |
| Цефотаксим | 34 | 20 | 34 | 69 | 4 | 2 | 58 | 2 | 9 |
| Цефтриаксон | 31 | 6 | 51 | 70 | 3 | 2 | 53 | 5 | 11 |
| Цефоперазон | 48 | 15 | 25 | 64 | 8 | 3 | 56 | 3 | 10 |
| Цефтазидим | 83 | 0 | 5 | 69 | 0 | 6 | 67 | 0 | 2 |
| Цефепим | 80 | 0 | 8 | 71 | 2 | 2 | 63 | 1 | 5 |
| Имипенем | 80 | 0 | 8 | 64 | 5 | 6 | 63 | 1 | 5 |
| Меропенем | 62 | 1 | 25 | 60 | 0 | 15 | 53 | 3 | 13 |

Примечание. 1 – устойчивые; 2 – умеренно чувствительные; 3 – чувствительные.

к следующим антибиотикам: доксициклину (63,6 %), гентамицину (60,2 %), амикацину (58 %), нетилмицину (58,0 %), цефтриаксону (58,0 %); штаммы *P. aeruginosa* – к амикацину (28,0 %), доксициклину (20,0 %), нетилмицину (20,0 %), меропенему (20,0 %); штаммы *E. coli* – к амикацину (34,8 %), нетилмицину (34,8 %), офлоксацину (21,7 %) и ципрофлоксацину (18,8 %).

Как видно из приведенных данных, только к двум антибиотикам – амикацину и нетилмицину – наблюдалась достаточно высокая чувствительность как штаммов *S. aureus*, так и штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli*. Таким образом, амикацин и нетилмицин можно рекомендовать в качестве препаратов выбора для эмпирической антибиотикотерапии гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей.

Литература

1. Файл Т. Диагностика и антимикробная терапия инфекций кожи и мягких тканей. Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия 2003; 2: 119–125.
2. Шотринский В.О., Бондарчук О.И., Сандер С.В. Перегляд підходів до лікування ранової інфекції. Клін. хірургія 2005; 11–12: 123.
3. Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

Выводы

1. В этиологии гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей ведущую роль играют следующие возбудители: *S. aureus* (26,7 %), *P. aeruginosa* (22,8 %), *E. coli* (21 %).

2. Выделенные штаммы *S. aureus* наиболее чувствительны к доксициклину, гентамицину, амикацину, нетилмицину и цефтриаксону; *P. aeruginosa* – к амикацину, доксициклину, нетилмицину, меропенему; *E. coli* – к амикацину, нетилмицину, офлоксацину и ципрофлоксацину.

3. С учетом уровня антибиотикочувствительности основных возбудителей в качестве препаратов выбора для эмпирической терапии гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей можно рекомендовать амикацин и нетилмицин.

4. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков. МЗ СССР. № 2675-83. М. 16 с.
5. Инструкция по применению дисков для определения чувствительности к антибиотикам. МЗ СССР. М., 1984. 3 с.
6. Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики. Пер. с англ. В.С. Занадвора; Под ред. В. Четыркина. М.: Финансы и статистика, 1982. 344 с.
7. Дудкевич Б., Лисецки П. Резистентность к антибиотикам отдельных больничных патогенов. Методы выявления. Лаб. диагностика 2001; 3: 15–21.

ЕТИОЛОГІЯ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ І М'ЯКИХ ТКАНИН І ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ ЇХ ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ

А.Я. Циганенко, О.В. Гіріч, О.О. Головіна

Вивчено етіологію гнійно-запальних захворювань шкіри і м'яких тканин і визначено чутливість до антибіотиків основних збудників цієї групи захворювань. Установлено, що головними збудниками є *S. aureus*, *P. aeruginosa* та *E. coli*. Базуючись на структурі збудників та чутливості їх до антибіотиків, для емпіричної терапії вказаних захворювань рекомендовано амікацин і нетилміцин.

Ключові слова: захворювання шкіри і м'яких тканин, штами мікроорганізмів, антибіотико-чутливість.

ETIOLOGY OF PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES OF THE SKIN AND SOFT TISSUES AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF THE MAIN CAUSATIVE AGENTS

A.Ya. Tsyganenko, E.V. Girich, O.A. Golovina

The etiology of purulent-inflammatory diseases of the skin and soft tissues was studied and antibiotic susceptibility of the main causative agents of this group of diseases was determined. Suggests that main causative agents are *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. Amykacin and netilmycin recommended for empiric therapy of diseases because of structure and antibiotic susceptibility causative agents of this group of diseases.

Key words: diseases of the skin and soft tissues, strains, antibiotic susceptibility.

Поступила 05.11.07

ВЫЯВЛЕНИЕ ГУМОРАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ЛОР-ПАТОЛОГИЕЙ

Е.А. Куликова, С.И. Кандзюба, И.И. Торяник*, Н.Г. Попова*,
Л.А. Панченко*, Н.В. Павленко***

*Харьковская медицинская академия последипломного образования
*ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова
АМН Украины», г. Харьков*

***Харьковский национальный медицинский университет*

Приведены результаты иммуноферментного обследования крови больных с воспалительной патологией ЛОР-органов на наличие специфических иммуноглобулинов М и G к вирусу простого герпеса. Установлена высокая частота гуморальных маркеров острой герпесвирусной инфекции у данного контингента больных (21,5 %) с преимущественным субклиническим течением герпесвирусной инфекции.

Ключевые слова: вирус простого герпеса, ЛОР-патология, иммуноглобулины М и G к ВПГ, иммуноферментный анализ.

Диагностируемые в оториноларингологии воспалительные заболевания верхних дыхательных путей составляют до 30 % в амбулаторной практике и более 50 % среди больных ЛОР-стационаров [1, 2]. Особое место среди этих заболеваний занимает хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ). Его лечение затруднено в связи с отсутствием единого взгляда на патогенез заболевания и недостаточной эффективностью противорецидивных мероприятий [1, 2]. По данным разных авторов, заболеваемость ХГЛ колеблется от 2,4 до 10,4 % на амбулаторном ЛОР-приеме [3, 4]. Общепризнано, что факторов, ведущих к формированию и обострению ХГЛ, много, среди них наиболее значимыми считаются вредные условия производства, табакокурение, хронические заболевания дыхательных путей различного генеза, эндокринные расстройства, иммунодефицитные состояния и др. Давно установлена провоцирующая роль респираторных вирусов в периодических обострениях хронического ларингита. Все эти факторы способствуют стойкому нарушению функции гортани – голосообразовательной, дыхательной, защитной [1, 4]. В то же время в развитии ХГЛ почти неизвестна роль других широко распространенных вирусов, относящихся к семейству Herpesviridae. По данным ВОЗ, к 18 годам жизни ими инфицировано более 90 % жителей земного шара [5]. Накапливается все больше данных об их этиологической роли в заболеваемости многих органов и систем организма, что связано с тропностью герпесвирусов к эпителиальным, нервным клеткам и клеткам иммунной системы организма.

Важным биологическим свойством герпесвирусов является их способность к латенции и персистенции в организме хозяина на протяжении всей жизни [6–9]. До настоящего времени мало изучены механизмы, посредством которых герпесвирусы удаются избежать элиминации из организма инфицированного хозяина [8]. С указанными процессами связаны особенности герпесвирусной инфекции (ГВИ), которая в преобладающем большинстве случаев характеризуется асимптомным латентным течением с тенденцией к частым рецидивам заболевания [10–13].

Кроме перечисленных особенностей герпесвирусных патогенов, важное значение в последнее время приобретает вопрос о нарушении процесса апоптоза вирусинфицированных клеток. Это подтверждает участие герпесвирусов в процессе трансформации клеток в опухолевые [11].

Затронутые вопросы актуальны и при хронических процессах, вызванных вирусом простого герпеса (ВПГ) в ЛОР-органах. Однако до настоящего времени лишь в единичных работах имеются данные, касающиеся диагностики, клиники и лечения персистирующей ГВИ у больных с ЛОР-патологией [12].

Целью настоящей работы было определение частоты выявления гуморальных маркеров острой и хронической ВПГ-инфекции у больных с ЛОР-патологией.

Материал и методы. На наличие гуморальных маркеров ВПГ обследовано 65 больных с воспалительными заболеваниями ЛОР-органов в возрасте от 18 до 70 лет. Из них 53 находились на стационарном лечении в ГКБ № 30 г. Харькова (клиника ЛОР-кафедры

ХМАПО) и 12 обратились в амбулаторию клиники в период с 2006 по 2007 гг. У 34 больных установлен диагноз обострение хронического ларингита, у 13 – острый ларингит, у 4 – острый фарингит, у 6 – обострение хронического фарингита, у 6 – острый и обостренный хронический гнойный риносинусит, у 2 – острое клиническое проявление орофациального герпеса. В контрольную группу вошли 22 практически здоровых человека с нормальным ЛОР-статусом (10 мужчин и 10 женщин) аналогичного возраста. Для установления клинического диагноза всем больным и лицам контрольной группы провели общепринятый инструментальный осмотр ЛОР-органов, а также общеклиническое обследование, бактериологическое обследование глотки, по показаниям рентгенологическое обследование придаточных пазух носа и органов грудной клетки и исследование крови серологическими методами. Для выявления маркеров ВПГ была осуществлена серологическая детекция с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Использованы диагностические тест-системы Векто-ВПГ-IgM и Векто-ВПГ-IgG (Россия). Интерпретацию результатов ИФА осуществляли с учетом совокупности данных анамнеза, наличия или отсутствия клинической картины ГВИ у больных с ЛОР-патологией.

Результаты и их обсуждение. Среди обследованных на ВПГ-инфекцию больных с воспалительной ЛОР-патологией верхних дыхательных путей было 35 (53,8 %) мужчин и 30 (46,2 %) женщин. Средний возраст

больных составил 45,7 лет. Большинство больных (47 чел.; 73,4 %) имели заболевание гортани (13 – острый ларингит и 34 – обострение хронического ларингита). У 10 больных был диагностирован фарингит (у 4 – острый и у 6 – обострение хронического).

Кроме больных с поражением гортани и глотки, под нашим наблюдением находилось также 4 человека с проявлением острого и 2 – обостренного хронического гнойного риносинусита. Двум больным при обращении за медицинской помощью был поставлен диагноз орофациальный герпес.

Таким образом, из 65 больных с ЛОР-патологией только у двух на момент обращения к врачу имелись выраженные клинические проявления острой ГВИ в виде пузырьковых высыпаний на коже лица и слизистой оболочке губ. Ни у одного из наблюдаемых лиц контрольной группы (22 чел.) проявлений ГВИ в момент проведения обследований не было. При выяснении анамнеза более половины из них (59,1 %) отмечали в прошлом герпетические высыпания на слизистой оболочке губ. Это расценивалось нами как показатель высокой инфицированности населения вирусом герпеса.

Результаты серологического обследования крови на ВПГ-инфекцию больных с ЛОР-патологией и практически здоровых лиц контрольной группы представлены в таблице.

Как видно из таблицы, у большинства обследованных с ЛОР-патологией (66,2 %) были выявлены IgG к ВПГ, что подтверждало перенесение ВПГ-инфекции в явной или

Выявление специфических иммуноглобулинов M и G к вирусу простого герпеса (ВПГ) в крови у больных с ЛОР-патологией и практически здоровых лиц

| Диагноз заболевания | Всего обследовано | Число больных с выявленными IgM и IgG к ВПГ | В том числе выявлены специфические антитела классов | | | |
|----------------------------|-------------------|---|---|------|---------|------|
| | | | IgM | | IgG | |
| | | | абс. ч. | % | абс. ч. | % |
| Контрольная группа | 22 | 13 | 0 | 0 | 13 | 59,1 |
| Ларингит | | | | | | |
| острый | 13 | 11 | 2 | 18,2 | 9 | 81,8 |
| хронический | 34 | 29 | 6 | 20,7 | 23 | 79,3 |
| Фарингит | | | | | | |
| острый | 4 | 4 | 3 | – | 1 | – |
| хронический | 6 | 6 | 1 | – | 5 | – |
| Риносинусит | | | | | | |
| острый | 4 | 3 | 1 | – | 2 | – |
| хронический | 2 | 2 | 0 | – | 2 | – |
| Орофациальный герпес | 2 | 2 | 1 | – | 1 | – |
| Итого больных, абс. ч. (%) | 65 | 57 (87,7) | 14 | 21,5 | 43 | 66,2 |

субклинической форме в прошлом. ГВИ на основании диагностически значимых показателей уровня IgM в крови была установлена у 14 из 65 больных (21,5 %). Однако манифестные проявления заболевания в виде герпетического поражения кожи лица и слизистой были отмечены при клиническом обследовании только у двух больных с острым фарингитом и острым ларингитом и у двух больных с диагнозом орофациального герпеса. Следовательно, у 10 из 14 больных с содержанием специфических IgM в крови имела субклиническая форма ГВИ.

Анализ материалов иммуноферментного исследования крови больных с ЛОР-патологией позволил выделить двух больных, у которых ВПГ-инфекция развилась на фоне высоких показателей специфических IgG.

Так, у больного Ф., 70 лет (и.б. № 1234), поступившего на лечение с диагнозом обострение хронического ларингита, содержание IgM в крови составило 0,420 опт. ед. при уровне IgG, равном 0,652 опт. ед. (в контроле 0,301 опт. ед.). У больного отсутствовали клинические проявления ВПГ-инфекции, что послужило основанием для постановки клинического диагноза: обострение хронического ларингита, асимптоматическая форма персистирующей ГВИ. Больному назначено комплексное противовоспалительное лечение с включением антигерпетических средств: ацикловир 200 мг 5 раз в сутки per os – 5 дней, виферон в свечах 1 млн ед. 2 раза в день per rectum 10 дней.

Больная Ш., 23 года (амбул. карта № 8342) обратилась на амбулаторный прием, где был установлен диагноз: обострение хронического фарингита, Herpes labialis. Страдает герпетической инфекцией в течение нескольких лет, отмечает частые рецидивы после переохлаждения, ОРВИ. При лабораторном исследовании крови выявлен IgM (0,410 опт. ед.) при контроле, равном 0,301 опт. ед., на фоне высокого уровня IgG (0,825 опт. ед.). У больной подтвержден рецидив персистирующей ВПГ-инфекции с поражением слизистых оболочек губ и мягкого неба.

Обнаруженный факт возникновения рецидива ВПГ-инфекции на фоне высокого уровня в крови больных IgG подтверждает данные о том, что не всегда секреторные антитела обеспечивают защитный эффект. В этом плане можно считать правомерным

предположение П.В. Антонова и В.А. Цинзерлинга о возможности накопления в организме мутантных вирусов с измененными протективными эпитопами на поверхности. Такие вирусы становятся недоступными для вируснейтрализующего действия антител, и поэтому возможен рецидив заболевания [13].

У 59,1 % обследованных практически здоровых лиц были выявлены только IgG (таблица). При этом уровень обнаруженных IgG не превышал таковой контрольных образцов, входивших в используемую диагностическую тест-систему. Результаты исследований подтверждают общеизвестную убиквитарность ВПГ и широкую инфицированность населения [5]. Однако острые формы ГВИ были выявлены нами только у ЛОР-больных.

Таким образом, использование ИФА с детекцией в крови уровня специфических антигерпетических IgM и IgG позволяет подтвердить этиологию заболеваний, а также выявить случаи асимптоматической ГВИ, что важно для своевременного включения в комплекс терапии больных с воспалительной ЛОР-патологией антигерпетических препаратов.

Выводы

1. При иммуноферментном исследовании крови больных с воспалительной патологией ЛОР-органов у 14 (21,5 %) из 65 выявлены IgM к вирусу простого герпеса, что явилось основанием для установления острой фазы герпесвирусной инфекции. Клинические проявления герпесвирусной инфекции в виде пузырьковых высыпаний отсутствовали у 10 больных, и лишь у четырех человек заболевание сопровождалось герпетическими высыпаниями на коже или слизистых губ.

2. У двух больных с обострением хронического фарингита и хронического ларингита рецидив герпесвирусной инфекции выявлен на фоне высоких показателей уровня IgG в крови, не обеспечивших защитный эффект.

3. Высокий уровень инфицированности вирусом простого герпеса населения диктует необходимость более тщательного сбора анамнеза в отношении перенесенной герпесвирусной инфекции в прошлом и проведения более широкого скрининга на вирус простого герпеса с целью включения (при показаниях) антигерпетических препаратов в протоколы лечения больных с ЛОР-патологией.

Литература

1. Чумаков Ф.И., Рогачикова Г.А. О распространенности и некоторых особенностях хронического гиперпластического ларингита. Вестн. оториноларингологии 2002; 2: 31–33.
2. Гарюк Г.И., Куликова Е.А., Николаенко А.Н. Застосування препарату Ербісол в комплексному лікуванні хворих на хронічний ларингіт з супутнім аутоімунним тиреоїдитом: Метод. рекомендації. Харків, 2006. 19 с.

3. *Иванченко Г.Ф., Демченко Е.В.* Современное направление в исследовании и лечении больных хроническим гиперпластическим ларингитом: Матер. X съезда оториноларингологов Украины. Судак, 2005: 178–179.
4. *Куликова Е.А., Иркиенко Е.М.* Коррекция голосообразовательной функции у больных хроническим ларингитом, сочетающегося с аутоиммунным тиреоидитом: Матер. X з'їзду отоларингологів України. Судак, 2005: 159.
5. Диагностика герпесвирусной инфекции человека: Меморандум совещания ВОЗ. Бюл. ВОЗ. 1991; 3: 11–18.
6. *Баринский И.Ф., Шубладзе А.К., Каспаров А.А., Гребенюк В.Н.* Герпес. (Этиология, диагностика, лечение). М., 1985. 272 с.
7. *Исаков В.А., Борисова В.В., Исаков Д.В.* Герпес. Патогенез и лабораторная диагностика. СПб.: Лань, 1999. 192 с.
8. *Sandstrom E., Whitley R. J.* Genital and orofacial Herpes simplex virus infections – clinical implications of latency. Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 6th Annual meeting. 1998: 1–36.
9. *Corey L.* Asymptomatic shedding of HSV-2 from the oropharynx. Herpes 2006; 13. Suppl. 2: 50 A.
10. *Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И.* Болезни герпесвирусной группы. Элиста: АПП «Джангар», 2005. 64 с.
11. *Редькин Ю.В., Одокиенко А.Ю.* Биологические особенности вируса простого герпеса и возможности фармакотерапии. Успехи соврем. биологии 2006; 1: 87–96.
12. *Боечко С.К., Лоцицкая В.И.* Патология ЛОР-органов при рецидивирующем простом герпесе: Матер. X съезда оториноларингологов Украины. Судак, 2005: 446–447.
13. *Антонов П.В., Цинзерлинг В.А.* Современное состояние проблемы хронических и медленных нейроинфекций. Архив патол. 2001; 1, 63: 47–51.

ВИЯВЛЕННЯ ГУМОРАЛЬНИХ МАРКЕРІВ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ХВОРИХ З ЛОР-ПАТОЛОГІЄЮ
О.О. Кулікова, С.І. Кандзуба, І.І. Торяник, Н.Г. Попова, Л.О. Панченко, Н.В. Павленко

Наведені результати імуноферментного обстеження крові хворих з запальною патологією ЛОР-органів на наявність специфічних імуноглобулінів М та G до вірусу простого герпесу. Встановлена висока частота гуморальних маркерів гострої герпесвірусної інфекції у даного контингенту хворих (21,5 %) з переважно субклінічним перебігом герпесвірусної інфекції.

Ключові слова: вірус простого герпесу, ЛОР-патологія, імуноглобуліни М та G до ВПГ, імуноферментний аналіз.

DETECTION OF HUMORAL MARKERS HERPESVIRUS INFECTION AT PATIENTS WITH OTORHINO-LARYNGOLOGIC PATHOLOGY

Е.А. Kulikova, S.I. Kandzuba, I.I. Torianyk, N.G. Popova, L.A. Panchenko, N.V. Pavlenko

The results of the immune-enzyme investigations of blood in patients with pathology of otorhinolaryngologic organs on presence of specific immunoglobulins M and G are presented. It was established that high frequency of the acute HSV humoral markers are in patients (21,5 %) with primary subclinical course of HSV infection.

Key words: herpes simplex virus, immunoglobulin G and M to HSV, otorhinolaryngologic pathology, immune-enzyme analysis.

Поступила 09.08.07

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К КУЛЬТИВИРОВАНИЮ КЛЕТОК ЛИНИЙ L929 И НЕР-2, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ВЫДЕЛЕНИЯ ХЛАМИДИЙ

С.К. Джораева

ГУ «Институт дерматологии и венерологии АМН Украины», г. Харьков

Описаны методические подходы к культивированию клеточных линий L929 и Нер-2. Приведена сравнительная характеристика использования раствора версен-трипсиновой смеси и раствора альбуцида. Установлена целесообразность использования последнего в качестве агента для открепления клеток от поверхности культурального флакона. **Ключевые слова:** культура клеток L929, культура клеток Нер-2, культивирование, раствор альбуцида, трипсин-версеновая смесь.

Проблема хламидийных инфекций признается одной из приоритетных в практическом здравоохранении. Доказана роль хламидий в патогенезе заболеваний мочеполовой системы, дыхательного тракта, опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой системы [1]. И хотя лабораторная служба располагает большим количеством методов выявления возбудителя – бактериоскопических, молекулярно-биологических, иммунофлюоресцентных, серологических, – культуральная диагностика остается «золотым стандартом» благодаря выделению только живых форм микроорганизма, и это свойство выгодно отличает ее от других методов [2, 3]. Существуют два метода выделения хламидий: классический, более ранний, предложенный T'ang et al. [4] и основанный на использовании развивающихся куриных эмбрионов, и метод диагностического выделения хламидий на перевиваемой клеточной культуре McCoу, предложенный Gordon et al. [5].

Хламидии в качестве хозяев могут использовать клетки эпителия, гладкомышечные клетки, клетки соединительной, эмбриональной ткани. Разнообразие клеточных линий обусловлено тропизмом, который проявляют разные виды хламидий в выборе клетки-хозяина. Системы клеточного культивирования способствуют существенному раскрытию механизмов взаимодействия между клеткой-хозяином и возбудителем [2, 6]. В культуральной практике чаще всего используются фибробластоподобные и эпителиоподобные клетки. Общей чертой обоих типов клеток является их способность хорошо прирастать на обычных культуральных подложках: стекле, некоторых

видах пластика. Эпителиоподобные клетки образуют пласты прочно связанных по боковой поверхности клеток. Фибробластоподобные клетки не способны к образованию таких пластов и, в отличие от эпителиоподобных, легко разрывают межклеточные контакты при встряхивании культурального флакона [7].

Большое значение при культивировании клеток придается выбору ростовой среды, количеству эмбриональной сыворотки в ней и агентам, используемым для снятия клеток с поверхности культурального флакона. Это обусловлено тем, что у клеток различных линий разные требования к составу ростовых сред: количеству необходимых аминокислот, неорганических веществ, а также к рН, концентрации эмбриональной сыворотки; они по-разному взаимодействуют с веществами, используемыми для их открепления от поверхности культурального флакона [8]. Для снятия клеток с поверхности культурального флакона традиционно используют 0,2%-ный раствор версена, 0,25%-ный раствор трипсина или их комбинацию в соотношении 3 : 1. Однако, по данным некоторых российских исследователей и по нашим собственным наблюдениям, к числу наиболее вредных для клеток процедур в процессе их пассирования следует отнести пересев с использованием протеолитических ферментов и хелатирующих агентов. Так, обработка живых клеток при пересеве растворами коллагеназы, трипсина, химопсина или версена вызывает деформацию ядер, перераспределение гетерохроматина, вакуолизацию цитоплазмы, накопление в ней фаголизисом, увеличение выростов клеточной мембраны.

При этом ферменты обнаруживаются даже в ядре клетки. Ультраструктура клеток после обработки названными агентами частично восстанавливается только через 24 часа [9].

Поэтому целью данного исследования явилось изучение возможности применения 3%-ного раствора альбумида в качестве открепляющего агента наряду с традиционно используемой смесью 0,2%-ного раствора версена и 0,25%-ного раствора трипсина.

Материал и методы. Для диагностического выделения хламидий использовали применяемые в институте клеточные культуры линий L929 и Нер-2. Эпителиоподобная клеточная линия Нер-2 была получена Fjelde в 1952 г. из карциномы гортани человека и длительно поддерживалась в культуре в строго постоянных условиях. Фибробластоподобная клеточная линия L929 получена Earle в 1940 г. из ткани взрослого самца мыши линии СЗН путем трансформации метилхолантеном фибробластов кожи мыши *in vitro* [8]. Клеточные линии L929 и Нер-2 пассировали по стандартной методике: на среду 199 вносили эмбриональную телячью сыворотку – 3–5 % в зависимости от типа клеточной линии, гентамицин – 100 мкг/мл, амфотерицин В – 2,5 мкг/мл. После формирования монослоя культуральные флаконы разделили на две группы.

В контрольной группе культуральных флаконов после образования монослоя ростовую среду удаляли и во флакон добавляли смесь 0,2%-ного раствора версена и 0,25%-ного раствора трипсина в соотношении 3 : 1 и инкубировали 5–12 мин в зависимости от клеточной культуры при 35 °С. После этого версен-трипсиновую смесь аккуратно удаляли, клетки ресуспендировали в ростовой среде и вносили в свежую питательную среду из расчета $(2,0-2,5) \times 10^5$ клеток/мл, затем культуральные флаконы помещали в термостат при 35 °С [10].

В исследуемой группе флаконов линии L929 после образования монослоя ростовую среду удаляли, клетки обрабатывали 3%-ным раствором альбумида (20 % сульфатил натрия на основе среды 199, рН 7,6–7,8) [11]. После 3–5-минутной экспозиции при комнатной температуре альбумид аккуратно, не повреждая монослоя, удаляли, клетки ресуспендировали в ростовой среде и вносили в свежую питательную среду из расчета $(2,0-2,5) \times 10^5$ клеток/мл, затем помещали в термостат при 35 °С.

В исследуемой группе флаконов линии Нер-2 после образования монослоя клетки обрабатывали 3%-ным раствором альбумида (сульфатил натрия на основе среды 199, рН 7,6–7,8) в течение 4–6 мин, который затем

удаляли и вносили версен-трипсиновую смесь в соотношении 3 : 1 еще на 4–5 мин при 35 °С. После этого смесь удаляли, клетки ресуспендировали в свежей среде, вносили в ростовую среду из расчета $(2,0-2,5) \times 10^5$ клеток/мл и помещали в термостат при температуре 35 °С. Применение только 3%-ного раствора альбумида для клеток линии Нер-2 оказалось невозможным, так как для полного открепления клеток от культурального флакона необходимо более 15 мин, а после столь длительной экспозиции количество жизнеспособных клеток резко снижалось.

Состояние клеточного монослоя оценивали путем определения митотического индекса, времени формирования монослоя, длительности сохраняемости культуры без смены ростовой среды и морфологических изменений в препаратах, окрашенных по методу Мая–Грюнвальда–Гимзы.

Результаты и их обсуждение. Состояние клеточной культуры, используемой для диагностического выделения, имеет решающее значение. Полноценная популяция может быть получена только от генерации, состоящей из жизнеспособных клеток, без признаков дегенерации и без нарушения их клеточной структуры. Поэтому просмотр и оценка качества монослоя имеют решающее значение при выборе культур для пересева.

При хорошем состоянии клеточной культуры клетки имеют четкие границы с выраженными морфологическими признаками, типичными для данной ткани. Наличие в поле зрения большого числа крупных округленных клеточных элементов, нарушение морфологической характеристики данной ткани, появление клеток с вакуолями, включениями и другими признаками цитопатологии делает данную генерацию непригодной для пассажа [8, 12].

Обработка клеточной линии Нер-2 3%-ным раствором альбумида в течение 5–7 мин при комнатной температуре позволила нам сократить время контакта клеток с версен-трипсиновой смесью в 2 раза: с 10–12 до 4–5 мин, а клеточной линии L929 – исключить использование данной смеси для снятия клеток с поверхности культурального флакона. Открепление клеток от поверхности флакона происходит в результате отмывания и связывания ионов кальция и магния, отвечающих за прикрепление клеток к его поверхности. Кроме того, раствор альбумида обладает бактерицидным и бактериостатическими свойствами, оптимальными для клеток рН (7,6–7,8).

Сравнительная характеристика клеточных культур, которые пассировали на протяжении 12 пассажей по стандартной мето-

дике и по методике, предложенной нами, приведена в таблице.

Таким образом, была установлена целесообразность использования раствора альбуцида

Сравнительная характеристика перевиваемых клеточных культур, пассированных с помощью альбуцида (А) и версен-трипсиновой смеси (ВТС)

| Показатель | L929 | | Нер-2 | |
|--|-----------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| | А | ВТС | А | ВТС |
| Время, необходимое для отслаивания монослоя клеток от стекла, мин | 5–7* | 3–5 [#] | 10–12 | 4–5 |
| Время, необходимое для формирования клеточного монослоя при посевной дозе (2,0–2,5)×10 ⁵ клеток/мл, ч | 48 | 24 | 48 | 36 |
| Митотический индекс культур (на 1000 клеток) | 29,6±0,1* | 54,7±2,6* | 16,8±0,3 [#] | 17,5±0,1 [#] |
| Сохранимость клеток без смены среды, сут | 7–8 | 6–8 | 6–7 | 6 |

* p<0,02; # p<0,05.

Из таблицы видно, что культивирование клеток линий L929 и Нер-2 с применением альбуцида оказалось достаточно эффективным методом, не уступающим общепринятому методу с использованием версен-трипсиновой смеси. Митотический индекс клеток линии L929, культивированных с использованием альбуцида, был в 1,8 раза выше культивированных с использованием трипсиновой смеси. Клетки обеих линий раньше формировали сплошной монослой, после снятия их раствором альбуцида снизилось количество клеток с морфологическими «дефектами»: вакуолизированной цитоплазмой, всевозможными выростами клеточной мембраны, деформированными ядрами.

цида в качестве агента для открепления клеток от поверхности культурального флакона, ибо он не проявляет выраженного цитотоксического действия в отношении клеток. Использование раствора альбуцида позволило полностью исключить использование трипсин-версеновой смеси для открепления клеток от поверхности культурального флакона для линии L929, а для линии Нер-2 – сократить время контакта клеток с трипсин-версеновой смесью практически в 2 раза. Необходимо продолжить исследования по оптимизации условий культивирования клеточных линий с целью их дальнейшего применения для изучения взаимодействия возбудителя и клетки-хозяина.

Литература

1. Мавров И.И. Половые болезни. Харьков: Факт, 2002. 800 с.
2. Black C.M. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. Clin. Microbiol. Rev. 1997; 10, 1: 160–184.
3. Boman J., Hammerschlag M.R. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. Clin. Microbiol. Rev. 2002; 15, 1: 1–20.
4. T'ang F.F., Chang H.L., Huang Y.T., Wang K.C. Studies on the aetiology of trachoma with special reference to isolation of the virus chick embryo. Chinese Med. J. 1957; 75: 429–447.
5. Gordon F.B., Quan A.L. Isolation of trachoma agent in cell culture. Proceedings of Society of Experimental Biology (N. Y.). 1965; 118: 354–359.
6. Rassmussen S.J., Jimms O.P., Beatty P.R., Stephens R.S. Cytotoxic-T-lymphocyte – mediated cytotoxicity of L Cell persistently infected with Chlamydia spp. Infect. and Immun. 1996; 64, 6: 1944–49.
7. Васильев Ю.М., Гельфанд И.М. Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой. М.: Наука, 1981. 220 с
8. Никольский Н.Н., Вахтин Ю.Б., Игнатова Т.Н. и др. Биология клетки в культуре. Л.: Наука, 1984. 280 с.
9. Культивирование клеток животных и человека: Матер. III Всесоюзн. совещания (13–15 февраля 1990 г., г. Пущино). Пущино, 1990: 12–15.
10. Шаткин А.А., Мавров И.И. Урогенитальные хламидиозы. К.: Здоров'я, 1983. 200 с.
11. Газирова Г.Р. Подготовка тканей и клеток для посева промыванием раствором альбуцида. Лаб. дело 1981; 8: 505–508.
12. Голубев Д.Б., Соминина А.А., Медведева М.Н. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии. Л.: Медицина, 1976. 224 с.
13. Пат. 25661 України. Спосіб пасирування клітинної культури L929. І.І. Мавров, С.К. Джораєва, В.В. Кутова, В.В. Гончаренко, О.В. Щоголева. Опубл. 10.08.2007 р. Бюл. № 12.

**ДЕЯКІ МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИН ЛІНІЙ L929 ТА HEP-2,
ЯКІ ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ДІАГНОСТИЧНОГО ВИДІЛЕННЯ ХЛАМІДІЙ****С.К. Джораєва**

Описані методичні підходи до культивування клітинних ліній L929 та Hep-2. Наведено порівняльну характеристику використання розчину версен-трипсинової суміші та розчину альбуциду. Встановлено доцільність використання останнього в якості агента для відкріплення клітин від поверхні культурального флакона.

Ключові слова: *культура клітин L929, культура клітин Hep-2, культивування, розчин альбуциду, трипсин-версенова суміш.*

**THE METHOD'S PECULIARITY FOR CULTIVATION CELL'S LINES L929 AND HEP-2, WHICH USED
FOR DIAGNOSIS ISOLATION CHLAMYDIA****S.K. Dzhoraeva**

It was described the methods peculiarity for cultivation cell's lines L929 and Hep-2. The comparative characteristic solutions versen-trypsin and albucide which use for diagnosis isolation chlamydia is given.

Key words: *cell culture L929, cell culture Hep-2, cultivation, albucide, versen-trypsin.*

Поступила 16.10.07

КОМПЛЕКСНЕ ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОЛЬОВАНОГО ШТАМУ *S. TRACHOMATIS* З УРАХУВАННЯМ ЙОГО БІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ

В.В. Гончаренко

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

Розглянуто біологічні особливості штаму *S. trachomatis*, який був виділений із цервікального каналу хворої з запаленням сечостатевого органу неясної етіології.

Ключові слова: штаму *S. trachomatis*, курячі ембріони, що розвиваються, перещеплювані клітинні лінії.

Однією з важливих проблем, які постали останнім часом перед медициною в Україні, є здійснення мікробіологічного моніторингу і прогнозування домінуючих видів актуальних збудників, що циркулюють на території країни. Рішення проблеми неможливе без детальної ідентифікації ізолюваних мікроорганізмів із подальшим забезпеченням сталості біологічних властивостей ізолятів точного виділення [1].

Серед актуальних інфекційних агентів особливо вирізняються облігатні внутрішньоклітинні патогени з унікальним циклом розвитку – хламідії. Серйозність проблеми не викликає сумніву, оскільки в Україні в останні роки різко збільшилася кількість вперше зареєстрованих випадків хламідіозу [2]. На фоні високої частоти виявлення хламідій, непатогномонічності хламідійної інфекції, схильності до персистентного існування в організмі особливої значущості набувають діагностичні методи, спрямовані на встановлення етіологічного фактора захворювання і тісно пов'язані з виділенням патогенного агента та подальшим вивченням його біологічних властивостей. Важко переоцінити значення виділення чистих культур цього мікроорганізму. Фундаментальні зміни, які відбулися в таксономії хламідій, значною мірою зумовлені ізоляцією та глибоким вивченням біологічних особливостей нових агентів, виділених від різних хазяїв, на основі яких розроблені нові принципи видової ідентифікації [3]. Для первинного виділення лабораторних штамів споріднених хламідійних мікроорганізмів необхідно використовувати різноманітні лінії прищеплених клітинних культур, а для серійного культивування ізолятів доцільно застосовувати модель «in ovo» з використанням 6–7-денних курячих ембріонів, що розвиваються [4].

Складовими частинами ідентифікації виду хламідій при поглибленому вивченні їх біологічних особливостей є дослідження морфологічних, тинкторіальних, антигенних, патогенних, адаптаційних властивостей, визначення типу цитоплазматичних включень, наявності в них родоспецифічного антигену і глікогену, визначення умов культивування, довгострокового зберігання та забезпечення життєздатності зі збереженням сталості біологічних властивостей, електронно-мікроскопічне виявлення ультраструктурної будови та циклу розвитку, встановлення біохімічних показників та експериментальне моделювання інфекції [5].

Метою роботи було вивчення біологічних особливостей об'єкта досліджень, яким служив лабораторний ізолят хламідій з авторської колекції співробітників хламідійної лабораторії ІДВ АМН України, первинно виділений із зразка цервікального каналу у системі «in ovo».

Матеріал і методи. Визначення видової належності хламідій базувалося на використанні мікроскопічних, культуральних, електронно-мікроскопічних методів із залученням експериментальних досліджень за вивченням патогенності на дрібних лабораторних тваринах та частковим виявленням біохімічних показників. Джерелом первинного матеріалу, з якого виділено лабораторну культуру передбачувано хламідійної природи, був зскріблений матеріал цервікального каналу хворої С., 47 років, яка протягом трьох років страждала періодично рецидивуючим запаленням сечостатевого органу неясної етіології внаслідок внесення збудника у поживне середовище з доданими антибіотиками для деконтамінації супутньої бактеріальної мікрофлори. Після контакту з антибактеріальними речовинами протягом 1,5 год початковий матеріал інокульовано у

жовткові мішки 6–7-денних курячих ембріонів по 0,3 мл. Лінію інфікованих культур L929 вивчали у світловому мікроскопі та за допомогою люмінесцентного методу.

Результати та їх обговорення. Ознаки адаптації патогенного агента до жовткових мішків курячих ембріонів спостерігались при первинному зараженні. Чітка адаптація за показниками термінів специфічної летальності ембріонів і накопичення елементарних і ретикулярних тілець мікроорганізмів настала починаючи з першого і в усіх наступних пасажах, що дозволило використовувати модель «in ovo» для серійного культивування штаму. При розтині свіжозагиблених курячих ембріонів відзначалося характерне потоншення жовткової оболонки, різко виражена гіперемія шкірних покривів ембріону і шкірні геморагії. Протягом більш 10 серійних пасажів мікроорганізм накопичувався у межах 10^6 – 10^7 ELD/0,5 мл. У процесі серійного культивування було встановлено, що відсутність летальності заражених курячих ембріонів не виключає наявності мікроорганізму у мазках-відбитках, що спостерігалось при використанні найвищих розведень інфекційного матеріалу.

Використаний штаму, позначений як UGc *S. trachomatis*, більше 15 років серійно культивується в епітеліальних клітинах жовткової оболонки курячих ембріонів, що розвиваються, без помітних змін своїх біологічних особливостей та зберігається між пасажами у рідкому азоті при -196°C .

Для отримання інформації про цикл розвитку збудника була використана лінія клітин L929 (фібробласти миші). Для первинного зараження культури клітин використовувалися 10% -ві зависі, виготовлені на середовищі 199 із жовткових оболонок свіжозагиблених курячих ембріонів, заражених штамом UGc, котрим інфікували 24-годинну культуру клітин L929. При зазначених умовах зараження до 90 % клітин моношару містили в цитоплазмі ранні форми патогенного агента. Через 48 год визначалися цитоплазматичні включення, які містили як ретикулярні, так і дрібні елементарні тільця, що свідчило про несинхронне розмноження мікроорганізму в цитоплазматичних включеннях, у яких були присутні вказані тільця різного ступеня зрілості. У розвинених включеннях через 72 год визначалися переважно елементарні тільця. Внаслідок адаптації штаму вдається розмножувати до 15 пасажів, у культивованих клітинах. У перші години інфекції в клітинах виявлено антигени мікроорганізму. Вміст цитоплазматичних включень в уражених клітинах був різним у різні терміни розвитку інфекції: частинки мікро-

організму були розташовані в інфікованих клітинах усередині цитоплазматичних вакуолей, обмежених трьохшаровою мембраною товщиною 60А. Принципових відмін ультраструктурних характеристик вивченого мікроорганізму від інших штамів не знайдено. Штаму утворює цитоплазматичні включення з характерною для представників роду хламідій динамікою нуклеїнових кислот, дрібних розмірів, правильної округлої форми, морфологічна структура яких неущільнено розташована. За цими параметрами включення можна віднести до першого типу. Вивчений штаму містить глікоген у включеннях на ранніх етапах свого розвитку, що характерно для представників виду *S. trachomatis*. Глікоген виявлявся при забарвленні розчином Люголя, при якому полісахаридний компонент набував коричневого кольору.

Штаму хламідій має антигенні властивості, які визначалися в РСЖ, РНГА та РНІФ, спільні для роду хламідій, і виражені алергенні властивості. При імунізації кролів і свиней очищеним препаратом елементарних тілець хламідій штаму UGc з ад'ювантом Фрейнда, який вводився внутрішньошкірно з інтервалом в 14 днів (чотириразово) вироблялися антитіла проти антигенів хламідій, які визначалися непрямим імуофлюоресцентним методом у титрах 1 : 512 – 1 : 2048.

Для ідентифікації патогенного агента потрібна інформація про його чутливість до сульфаніламідних препаратів у зв'язку з диференційованими відношеннями різних штамів до дії цих препаратів. Спроби проводили на курячих ембріонах при одномоментній інюкуляції у жовткові мішки суміші патогенного агента і етазолу натрію. Ефективність препарату визначали по середніх термінах загибелі курячих ембріонів або середніх термінах їх виживання. Етазол натрію затримував терміни загибелі курячих ембріонів, знижував рівень накопичення хламідій у жовткових мішках. Із 6 заражених ембріонів загинув лише один з мінімальним накопиченням збудника. Наступне пасивування цього зразка на курячих ембріонах не привело до відновлення наявних характеристик збудника і свідчило про відсутність інфекції. Визначена чутливість штаму до інгібітора метаболізму фолієвої кислоти – етазолу натрію, що свідчить про здатність мікроорганізму до синтезу фолієвої кислоти.

Згідно з літературними даними, білі миші є високочутливими до респіраторної інфекції, яка виникає при інтраназальному зараженні і викликає різний ступінь проявів патології. За цими ознаками штаму розподіляються на слабковірулентні та високовірулентні [6, 7].

Інтраназальне зараження безпородних білих мишей проведено на двох групах тварин (по 10 у кожній групі) масою 6–8 г. Матеріал від тварин 1-ї групи, інфікований дослідним штамом, містив 10^5 – 10^6 ELD/0,5 мл. Після зараження явних ознак захворювання не спостерігалось, окрім незначної відокремленості. Інокуляція інфекційного агента не призвела до загибелі тварин. Матеріал від тварин другої групи, інфікований штамом, містив 10^2 – 10^3 ELD/0,5 мл. Перші ознаки захворювання відзначалися на 3–4-ту добу (відокремленість, настовбурченість, ознаки розладу дихання і прогресуючої адинамії). Загибель 50 % тварин відбулась на 8–9-ту добу. При розтині мишей, як живих, так і загиблих, відзначались вогнищеві та дрібнокрапчасті геморагії легеневої тканини, різниця поміж цими двома групами була у ступені ураження тканин. У мазках-відбитках виявлені елементарні та ретикулярні мікроорганізми. Отже, штам UGc можна умовно віднести до штамів зі слабким ступенем вірулентності до білих мишей.

Патогенність досліджуваного штаму вивчали шляхом внутрішньочеревного зараження мишей. При внутрішньочеревному зараженні безпородних білих мишей матеріалом, який містив 10^3 ELD/0,5 мл, перші ознаки захворювання відзначалися на 3-тю добу (відокремленість, настовбурченість, помірна адинамія), але загибелі тварин не відбувалося. При розтині мишей відзначалися ознаки ураження та невелике збільшення селезінки, печінки, слабка гіперемія, крапчасті осередки некрозу в печінці. При люмінесцентній мікроскопії знайдено антиген хламідій.

Отже, в результаті вивчення спектра патогенності штаму UGc *S. trachomatis* визначений високий ступінь патогенності для курячих ембріонів при зараженні у жовтковий мішок і середній ступінь патогенності для білих мишей при внутрішньочеревному зараженні.

Вивчення біохімічних показників штаму* показало, що за умов введення патогенного агента мишам лінії СБА масою 10–12 г при внутрішньочеревному зараженні з наступним розтином тварин і оцінкою інтенсивності тканинного дихання у гомогенатах печінки при використанні субстрату дихання малату дихальний ланцюг ($СД_{\text{диф}}$) функціонував активніше, зростали інтенсивність фосфорилування та ступінь спряженості мітохондрій інфікованих тварин. Якщо в якості субстрату дихання застосовувався сукцинат, відзначалася стимуляція дихальних процесів. Отримані дані дозволили зробити висновок про регуляторний вплив збудника на ланки дихального ланцюга.

Таким чином, штам, виділений від хворої з цервікальною патологією, має морфологічні ознаки, характерні для хламідій. Виявлення в інфікованій культурі клітин у серійно пасованому ізоляті типового для хламідій циклу розвитку, характерних цитоплазматичних включень, які містять специфічний антиген і глікоген, чутливість штаму до дії сульфаніламідних препаратів, здатність патогенного агента серійно культивуватися у курячих ембріонах, що розвиваються, з викликанням специфічної летальності та типових уражень, а також результати електронно-мікроскопічного вивчення ультраструктури мікроорганізму дозволили віднести штам до хламідій виду *Chlamydia trachomatis*.

* Виконано молодшим науковим співробітником інституту О.В. Щоголевою.

Література

1. Сельнікова О.П., Поліщук О.І., Колтукова Н.В. Музей патогенних для людини мікроорганізмів: Принципи формування та перспективи розвитку. Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях. Роботи співробітників Музею патогенних для людини мікроорганізмів. Вип. 1. К., 2000: 4–17.
2. Маєров І.І. Актуальные медико-социальные проблемы хламидийной инфекции. Дерматол. и венерол. 2001; 1 (11): 37–41.
3. Everett K.D., Bush R.M., Andersen A.A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Intern. J. Systematic Bacteriology 1999; 49: 416.
4. Кутова В.В., Гончаренко В.В., Джорасва С.К. та ін. Збудники хламідіозів: особливості методологічних заходів при ізоляції та ідентифікації штамів мікроорганізму. Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях. Роботи співробітників Музею патогенних для людини мікроорганізмів. Вип. 3. К., 2004: 80–84.
5. Шаткин А.А., Маєров І.І. Урогенитальные хламидиозы. К.: Здоров'я, 1983. 200 с.
6. Moazed S., 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.
7. Hough A.J., Rank R.G. Induction of arthritis in C57B1/6 mice by chlamydial antigen. Effect of prior immunization or infection. Amer. J. Pathol. 1988; 130 (1): 163–172.

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ИЗОЛИРОВАННОГО ШТАММА C. TRACHOMATIS С УЧЕТОМ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ***V.V. Гончаренко***

Рассмотрены биологические особенности штамма *C. trachomatis*, выделенного из цервикального канала больной с воспалительным процессом урогенитального тракта неясной этиологии.

Ключевые слова: *штамм C. trachomatis, развивающиеся куриные эмбрионы, перевиваемые клеточные линии.*

COMPLEX STUDY OF ISOLATED STRAIN C. TRACHOMATIS WITH CONSIDERATION OF ITS BIOLOGICAL PECULIARITIES***V.V. Goncharenko***

It is described the biological peculiarities of *C. trachomatis* strain, which was isolated from the cervix of sick women with unclear ethyology urogenital tract inflammation.

Key words: *C. trachomatis strain, chicken's embryos, cultivated cell's lines.*

Поступила 16.10.07

ВЛИЯНИЕ ПОРОГОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КРИОЗАЩИТНОГО РАСТВОРА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК КУЛЬТУР ЧЕЛОВЕКА В ПРОЦЕССЕ ИХ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

Т.М. Гурина, А.Л. Кирилук, Т.Ф. Петренко, Е.И. Гончарук
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Изучали влияние пороговой концентрации растворов диметилсульфоксида на среде 199 и среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота на жизнеспособность клеток культур человека в процессе их криоконсервирования: клеток диплоидной культуры человека и клеток культуры человека. Установлено, что пороговая концентрация для этих растворов составляет около 5 %. Жизнеспособность изучаемых клеток при криоконсервировании с применением в качестве криозащитной среды раствора диметилсульфоксида на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки является достоверно более высокой, чем при использовании раствора без добавления эмбриональной сыворотки для всех используемых концентраций криопротектора. При превышении пороговой концентрации жизнеспособность клеток достоверно увеличивалась.

Ключевые слова: диметилсульфоксид, пороговая концентрация, эмбриональная сыворотка, криопротектор.

Низкотемпературное консервирование клеток, тканей и органов позволяет сохранять их биологические свойства длительное время и обеспечивает возможность создания низкотемпературных банков биологического материала, используемого для решения научных и практических задач в медицине и биологии.

Важным этапом при разработке технологий криоконсервирования биологических объектов является выбор криозащитной среды и концентрации криопротекторного вещества в ней, обеспечивающих надлежащую защиту клеток от действия повреждающих факторов криоконсервирования. Практически все известные криопротекторы в той или иной степени оказывают токсическое действие на клетки [1]. При этом с ростом концентрации криопротектора его токсическое действие увеличивается и возникает необходимость отмывать клетки от криопротектора после отогрева, что, в свою очередь, приводит к еще большей гибели клеток. Потому и важно подобрать концентрацию криопротектора, оптимальную с точки зрения снижения токсического действия и обеспечения достаточной защитной функции [2].

От исходной концентрации криопротекторного вещества в замороженном биологическом объекте зависят текущая и конечная структура замороженного образца и конфигурация межкристаллических жидких прослоек, в которых находятся замораживаемые клетки. Ранее было установлено, что при малых концентрациях криопротектора

межкристаллические прослойки являются замкнутыми включениями, а при увеличении концентрации криопротектора образуются односвязные жидкие межкристаллические прослойки [3]. В результате такого качественного изменения морфологии кристаллов с увеличением исходной концентрации криопротектора значительно уменьшается действие механического повреждения клеток вследствие термоупругих напряжений, максимальный вклад которых в повреждение клеток отмечен при образовании замкнутых включений, и увеличивается сохранность биологических объектов. Концентрации криопротекторов, при которых происходит указанное изменение структуры льда в образце, названы нами пороговыми концентрациями [3].

Целью данной работы был анализ влияния пороговых концентраций криозащитных растворов на жизнеспособность клеток культур человека в процессе их криоконсервирования: клеток диплоидной культуры человека (КДКЧ) и клеток культуры человека (ККЧ).

Материал и методы. С помощью метода пластической деформации [3] были определены пороговые концентрации водного раствора диметилсульфоксида (ДМСО), раствора ДМСО на среде 199 (ГУП ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН), а также раствора ДМСО на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Нуслопе). Для названных растворов, содержащих ДМСО в концентрациях 3, 5, 7 и 10 %, по-

строены экспериментальные кривые деформация – напряжение, по которым определен предел текучести σ_T замороженных образцов в зависимости от исходной концентрации криопротектора в образце и определены соответствующие пороговые концентрации [4, 5].

Для изучения влияния пороговой концентрации криозащитного раствора на жизнеспособность клеток в процессе их криоконсервирования были выбраны КДКЧ [6] и ККЧ от взрослых доноров. Клетки культивировали на среде 199 с добавлением 5 % эмбриональной сыворотки. Для криоконсервирования клетки переводили в суспензионное состояние, обрабатывая монослой смесью раствора Версена с трипсином (ГУП ИПВЭ). Одну группу клеток ресуспендировали в среде 199, вторую – в среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки. Готовили 6-, 10-, 14- и 20%-ные концентрации ДМСО на среде 199 и такие же концентрации на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки. К суспензии клеток в среде 199 и в среде 199 с 10 % эмбриональной сыворотки добавляли медленно, по каплям равное количество растворов ДМСО на соответствующей среде, доводя конечную концентрацию ДМСО до 3, 5, 7 и 10 %. Подготовленные таким образом суспензии клеток разливали по 1 мл в криопробирки производства фирмы «Nunc» (Германия). Количество клеток в образце составляло $5 \cdot 10^5$. Эквилибрация клеток в криозащитной среде до начала охлаждения составляла 15 мин. Замораживание проводили на программном аппарате «Cryoson» (Германия) со скоростью 1 град/мин до -70°C с последующим погружением в жидкий азот. Такой режим был выбран как один из наиболее применяемых для замораживания перевиваемых клеточных культур [7]. После этого культуры отогревали на водяной бане при 41°C вплоть до исчезновения твердой фазы, что определяли визуально. Размороженные образцы переносили в центрифужные пробирки, отмывали от криопротектора, после чего добавляли среду 199 с 5 % эмбриональной сыворотки. Жизнеспособность клеток оценивали по окрашиванию витальным красителем – трипановым синим [8]. Контролем служили не подвергавшиеся замораживанию клетки в среде 199 для первой группы образцов и клетки в среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки для второй группы образцов. Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым методикам [9]. Доверительный интервал составлял 0,95.

Результаты и их обсуждение. Зависимость пределов текучести замороженных образцов водного раствора ДМСО, раствора

ДМСО на среде 199, а также раствора ДМСО на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки в зависимости от концентрации криопротектора в диапазоне от 0 до 10 % показаны на рис. 1. Этот диапазон концентраций соответствует наиболее часто используемому в криобиологической практике. Резкое изменение значений пределов текучести образцов в зависимости от исходной концентрации криопротектора в замороженном образце (точки А на рис. 1) дает возможность определить пороговую концентрацию соответствующих растворов [4, 5].

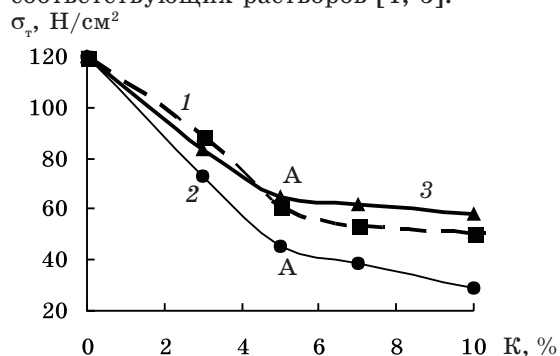


Рис. 1. Зависимость предела текучести (σ_T) замороженных растворов от концентрации (К) ДМСО: 1 – водный раствор ДМСО; 2 – ДМСО на среде 199; 3 – ДМСО на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки

Как видно из рис. 1, пороговая концентрация для растворов ДМСО практически не изменяется при использовании в качестве растворителя дистиллированной воды, чистой среды 199 и среды 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки. Во всех случаях она составляет около 5 %. При переходе к этой концентрации ДМСО и более высоким исходным концентрациям, по-видимому, происходит почти скачкообразное изменение структуры образца: большая часть замкнутых включений переходит в сквозные прослойки, что значительно снижает термоупругие напряжения, возникающие внутри образца, и, следовательно, повышается жизнеспособность криоконсервируемого материала. Кроме того, даже при кратковременном культивировании одним из главных условий сохранения жизнеспособности клеток является поддержание в определенных пределах концентрации водородных ионов и осмотического давления [10]. Эту функцию выполняет смесь солей, входящих в состав ростовой среды. В связи с этим в экспериментах по замораживанию клеток использовали растворы ДМСО, приготовленные на ростовой среде 199 и на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки. Водные растворы ДМСО в экспериментах с клеточными культурами не применяли.

Показатели жизнеспособности КДКЧ и ККЧ после замораживания и отогрева ($n=6$) представлены на рис. 2.

чем в аналогичной среде без добавления сыворотки. Для таких же условий замораживания жизнеспособность ККЧ составляла $(5,6 \pm$

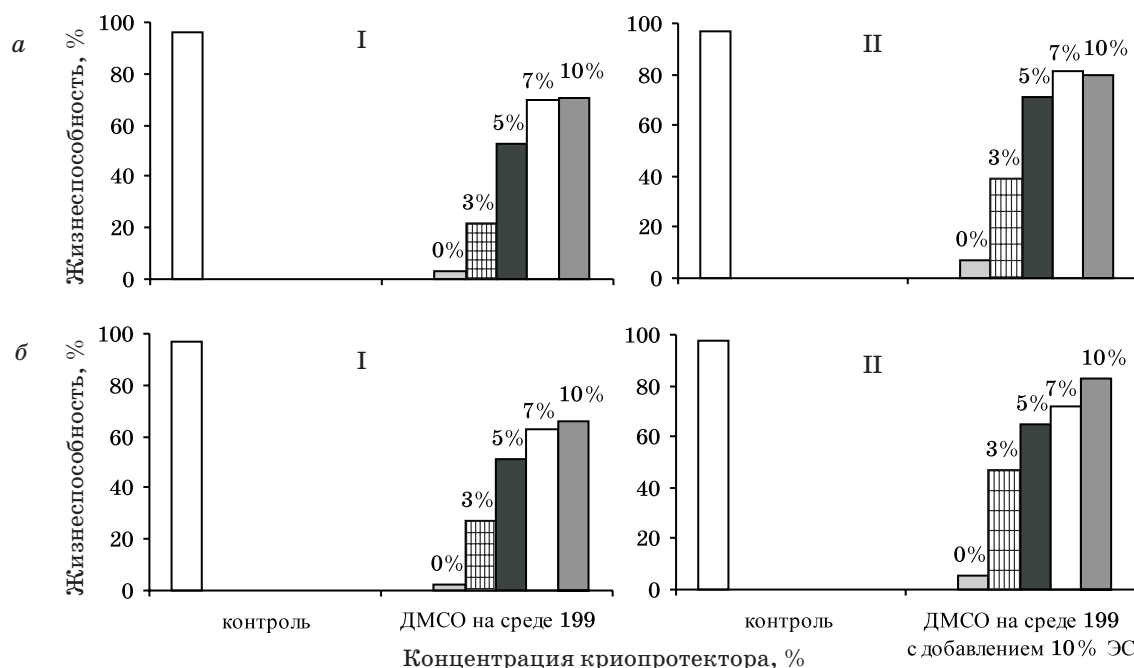


Рис. 2. Жизнеспособность КДКЧ (а) и ККЧ (б) после замораживания и отогрева в зависимости от исходной концентрации ДМСО в растворе на среде 199 (I) и на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки (II)

При криоконсервировании культур клеток со средой 199 без криопротектора жизнеспособность КДКЧ составляла $(3,0 \pm 0,7) \%$, а ККЧ – $(2,00 \pm 0,64) \%$. Замораживание КДКЧ в среде 199 с 3 % ДМСО обеспечивало $(21,6 \pm 1,4) \%$ жизнеспособных клеток, а ККЧ – $(27,0 \pm 2,0) \%$. Использование 5%-ной концентрации ДМСО позволило увеличить количество жизнеспособных КДКЧ в 2,5 раза по сравнению с использованием 3%-ной концентрации ДМСО, а ККЧ – в 2 раза. Жизнеспособность КДКЧ, замороженных в среде 199, содержащей ДМСО в концентрациях 7 и 10 %, то есть превышающих пороговую, составляла $(69,7 \pm 1,7)$ и $(70,3 \pm 3,0) \%$ соответственно, а жизнеспособность ККЧ, замороженных в среде 199 с теми же концентрациями, составляла $(63,0 \pm 3,0)$ и $(65,0 \pm 3,0) \%$ соответственно. Жизнеспособность КДКЧ и ККЧ, замороженных под защитой 7- и 10%-ных растворов ДМСО на среде 199, между собой достоверно не различалась.

Добавление в среду замораживания 10 % эмбриональной сыворотки позволило увеличить количество жизнеспособных клеток при всех концентрациях ДМСО. После замораживания культур клеток в среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки без криопротектора жизнеспособность КДКЧ составляла $(7,00 \pm 1,32) \%$, что в 2 раза выше,

1,0) %, что в 2,8 раза выше, чем в среде без добавления сыворотки. Жизнеспособность КДКЧ после замораживания с растворами ДМСО на среде 199 и с концентрацией криопротектора 3, 5, 7 и 10 % была в 1,8; 1,3; 1,2 и 1,1, а ККЧ в 2,0; 1,3; 1,13 и 1,26 раза выше, чем при замораживании в среде без добавления сыворотки и при тех же концентрациях ДМСО. Использование для замораживания 5%-ного раствора ДМСО на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки позволило увеличить жизнеспособность КДКЧ в 2 раза по сравнению с 3%-ным раствором ДМСО и аналогичным растворителем, а жизнеспособность ККЧ – в 1,5 раза. Жизнеспособность КДКЧ, замороженных под защитой 7 и 10 % ДМСО на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки, достоверно не отличалась, что исключает необходимость увеличения исходной концентрации криопротектора в криозащитном растворе. В то же время жизнеспособность ККЧ при использовании 5-, 7- и 10%-ного ДМСО с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки увеличивалась с повышением концентрации ДМСО.

Выводы

Методом пластической деформации установлено, что пороговая концентрация для растворов диметилсульфоксида на дистил-

лированной воде, среде 199 и среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки практически не изменяется и составляет около 5 %. Значительное влияние пороговой концентрации диметилсульфоксида в криозащитном растворе на указанных средах с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки при замораживании было продемонстрировано на клетках диплоидной культуры человека и клетках культуры человека. Установлено, что при превышении пороговой концентрации жизнеспособность этих клеток достоверно увеличивается.

При криоконсервировании клеток диплоидной культуры человека и клеток культу-

ры человека с применением в качестве криозащитной среды раствора диметилсульфоксида на среде 199 с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки жизнеспособность была достоверно более высокой, чем при использовании раствора диметилсульфоксида на среде 199 без добавления 10 % эмбриональной сыворотки для всех используемых концентраций криопротектора.

При разработке режимов криоконсервирования рекомендуется определять пороговую концентрацию криопротектора в криозащитных растворах для снижения в них количества криопротектора без потери качества криоконсервируемого материала.

Литература

1. Пушкарь Н.С., Шраго М.И., Белоус А.М., Калугин Ю.В. Криопротекторы. К.: Наук. думка, 1978. 204 с.
2. Гордиенко Е.А., Пушкарь Н.С. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. К.: Наук. думка, 1994. 140 с.
3. Осецкий А.И., Кирилюк А.Л. Экспериментальное определение пороговых концентраций криопротекторных веществ, обеспечивающих ингибирование механических повреждений криоконсервируемых биообъектов. Пробл. криобиологии 2005; 15, 3: 245–247.
4. Осецкий А.И., Кирилюк А.Л., Гурина Т.М., Высеканцев И.П. Применение метода пластической деформации для определения пороговых концентраций криопротекторных веществ при криоконсервировании *Saccharomyces cerevisiae*. Пробл. криобиологии 2007; 17, 1: 71–78.
5. Пат. України № 26502 МПК (2006). Спосіб дослідження розчинів криопротекторів при заморожуванні. О.І. Осецький, Г.Л. Кирилюк, Т.М. Гурина. Опубл. 25.09.2007. Бюл. № 15.
6. Пат. України № 6521. Препарат «Культура диплоїдних клітин людини» для клітинної терапії. О.І. Гончарук, Т.П. Петренко, Н.О. Волкова, В.І. Грищенко. Опубл. 16.05.2005. Бюл. № 5.
7. Дьяконов Л.П., Поздняков А.А., Папков Г.Е., Гололобова М.Т. Методические указания по консервированию культур клеток животного происхождения в жидком азоте. М., 1978. 9 с.
8. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков. М.: Мир, 1983. 264 с.
9. Лапин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1989. 239 с.
10. Методы культивирования клеток. Сб. научн. трудов. Л.: Наука, 1988. 313 с.

ВПЛИВ ПОРОГОВОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ КРИОЗАХИСНОГО РОЗЧИНУ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН КУЛЬТУР ЛЮДИНИ В ПРОЦЕСІ ЇХ КРИОКОНСЕРВУВАННЯ

Т.М. Гурина, Г.Л. Кирилюк, Т.П. Петренко, О.І. Гончарук

Вивчали вплив порогової концентрації розчинів диметилсульфоксиду на середовищі 199 і середовищі 199 з додаванням 10 % ембріональної сироватки великої рогатої худоби на життєздатність клітин культур людини в процесі їх криоконсервування: клітин диплоїдної культури людини та клітин культури людини. Встановлено, що порогова концентрація для цих розчинів становить близько 5 %. Життєздатність клітин при криоконсервуванні із застосуванням у якості криозахисного середовища розчину з додаванням ембріональної сироватки є вірогідно більш високою, ніж при використанні розчину диметилсульфоксиду на середовищі 199 без додавання 10 % ембріональної сироватки для всіх використовуваних концентрацій криопротектора. При перевищенні порогової концентрації життєздатність клітин вірогідно збільшувалася.

Ключові слова: диметилсульфоксид, порогова концентрація, ембріональна сироватка, криопротектор.

INFLUENCE OF THRESHOLD CONCENTRATION OF THE CRYOPROTECTIVE SOLUTION ON VIABILITY OF HUMAN CULTURE CELLS DURING THEIR CRYOPRESERVATION

T.M. Gurina, A.L. Kyryliuk, T.F. Petrenko, E.I. Goncharuk

The question of influence threshold concentration of dimethyl sulfoxide (DMSO) with 199 medium and those with adding cattle embryonic serum (ES) on viability of human culture cells during their cryopreservation: cells of diploid human cultures (CDHC) and human fibroblast cells (HFC). It has been found, that threshold concentration for these solutions makes about 5 %. Viability of cells during cryopreservation using as cryoprotective medium of DMSO solution with 199 medium adding 10 % ES is statistically and significantly higher than when using with no 10 % ES for all the studied concentrations of cryoprotectant. When exceeding the threshold concentration the viability cells increased for certain.

Key words: dimethyl sulfoxide, threshold concentration, embryonic serum, cryoprotectant.

Поступила 22.11.07

ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО СПОЛУКИ 4-(АДАМАНТИЛ-1)-1-(1-АМІНОБУТИЛ) БЕНЗОЛ У БАКТЕРІЙ І ГРИБІВ

Н.О. Вринчану

ДУ «Інститут фармакології та токсикології» АМН України, м. Київ

В умовах *in vitro* досліджено формування резистентності бактерій і грибів до похідного адамантану та вплив останнього на чутливість мікроорганізмів до офіційних антимікробних засобів. Встановлено, що практично не формується стійкість до цієї речовини (після 25 пасажів) у *S. albicans*, *S. aureus* і рееструється у *E. coli* (мінімальна пригнічуюча концентрація зростає у 4 рази). Мікроорганізми, культивовані в присутності адамантанвмісної сполуки, практично не змінюють чутливості до цефтазидиму та флуконазолу. Значна стійкість *S. albicans* рееструється до тербінафіну (активність знижується у 8,3 рази).

Ключові слова: антибактеріальна активність, антигрибкова активність, похідне адамантану, резистентність.

Мікроорганізми в процесі своєї життєдіяльності, контактуючи з інгібуючими агентами, здатні виробляти різноманітні механізми протидії [1–5]. Завдяки передачі генетичної інформації (хромосомної та плазмідної) бактерії та гриби можуть змінювати чутливість не тільки до пошкоджуючої дії факторів, але і до антимікробних засобів, передаючи стійкість представникам інших видів [6]. Поява стійких штамів знижує активність антибактеріальних засобів, що, у свою чергу, зменшує ефективність терапії інфекційних захворювань.

У скринінгових дослідженнях серед похідних адамантану нами була виявлена сполука 4-(1-адамантил)-1-(1-амінобутил) бензол (шифр АМ-166) з широким спектром антимікробної активності [7–9].

Для встановлення реальних перспектив застосування в медичній практиці препаратів, розроблених на основі сполуки АМ-166, необхідно вирішити питання: формується чи ні резистентність мікроорганізмів до цієї речовини.

Метою даного дослідження було встановлення можливості розвитку стійкості у бактерій і грибів до сполуки АМ-166 та її впливу на чутливість мікроорганізмів до хіміотерапевтичних засобів.

Матеріал і методи. Формування резистентності до речовини 4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил) бензол вивчали по відношенню до еталонних тест-штамів мікроорганізмів *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 та *S. albicans* NCTC 885/653. Бактерії вирощували на соєво-казеїновому середовищі, гриби – на густому Sabouraud dextrose agar протягом 24 год при 35 °С.

Формування резистентності мікроорганізмів до сполуки АМ-166 досліджували, вирощуючи бактерії та гриби на поживних середовищах, які містили субінгібуючі концентрації (0,5 МПК) АМ-166. Інгібуючу активність адамантанвмісної речовини та офіційних антибактеріальних і антифунгальних препаратів визначали двома методами: методом серійних розведень у рідких поживних середовищах із встановленням мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) і методом дифузії в агар згідно [10–12]. МПК визначали на поживному середовищі Мюллера–Хінтона (для росту бактерій) та середовищі RPMI-1640 (для грибів), встановлення антимікробної дії методом дифузії в агар – на м'ясо-пептонному агарі та щільному середовищі Сабуро. Використовували культури, що виділені з однієї мікробної колонії. Після кожного з п'яти пасажів перевіряли морфологічні, біохімічні та культуральні характеристики мікроорганізмів і визначали чутливість мікроорганізмів як до сполуки, так і до досліджуваних антибактеріальних та антифунгальних препаратів. У присутності субінгібуючих концентрацій сполуки АМ-166 було проведено 25 пасажів.

Щільність інокуляту при визначенні МПК складала для бактерій $5 \cdot 10^5$ КУО/мл, для грибів – 10^6 грибних елементів на 1 мл поживного середовища.

Результати та їх обговорення. Дані про формування стійкості мікроорганізмів до сполуки АМ-166 наведені на рис. 1.

Дані рис. 1 свідчать про повільну зміну чутливості мікроорганізмів до сполуки АМ-166. Так, протягом 20 пасажів *S. albicans* в присутності субінгібуючих концент-

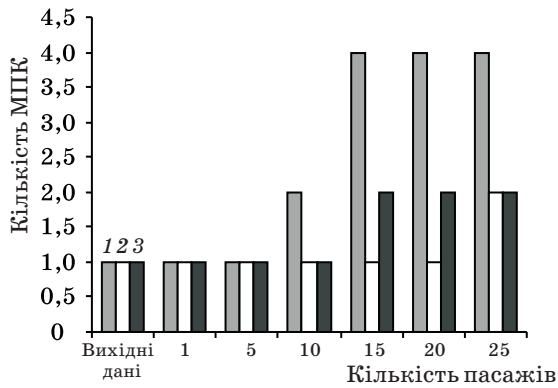


Рис. 1. Чутливість мікроорганізмів до АМ-166 в залежності від кількості пасажів: 1 – *E. coli*; 2 – *C. albicans*; 3 – *S. aureus*

рацій АМ-166 змін в чутливості цього тест-гриба до адамантанвмісної речовини не виявлено (МПК= 0,62 мкг/мл). Деяке зниження активності сполуки (МПК=1,25 мкг/мл) по відношенню до *C. albicans* зареєстровано тільки після 25-го пасажу. Незначна зміна активності сполуки відносно *S. aureus* зареєстрована після 15-го пасажу (МПК=1,25 мкг/мл), а 25-разове культивування *S. aureus* в поживному середовищі з субінгібуючою концентрацією АМ-166 не призвело до подальшого зниження її пригнічуючої дії.

Чутливість *E. coli* до сполуки АМ-166 після 10 пасажів знизилась у 2 рази, а через 15 пасажів – у 4 рази (МПК=5,0 мкг/мл) у порівнянні з вихідними даними.

Отже, експерименти довели, що після 25 пасажів з субінгібуючими концентраціями АМ-166 (0,5 МПК) резистентність (за рівнем кінцевого МПК) до цієї речовини практично не формується у *C. albicans* і *S. aureus* та реєструється після 15 пасажів у *E. coli*. Наступні 10 пасажів не супроводжуються подальшим зростанням рівня МПК.

Оскільки при застосуванні антимікробних препаратів можливе формування перехресної резистентності, у подальших експериментах досліджували чутливість тест-мікроорганізмів, вирощених у присутності субінгібуючої концентрації сполуки АМ-166, до офіційних антибактеріальних і антифунгальних засобів.

Дослідження формування стійкості методом серійних розведень проводили по відношенню до β -лактамного антибіотика ампіциліну/сульбактаму (ампісульбіну-КМП), цефалоспорино III покоління цефотаксиму (цефотаксим БХФЗ), антифунгальних засобів – флуконазолу (дифлюкану, фірма «PFIZER») і тербінафіну (мікотеру-КМП), які широко застосовуються в клінічній практиці.

Дослідження чутливості *S. aureus*, культивованого в присутності субінгібуючих кон-

центрацій сполуки АМ-166, до ампісульбіну-КМП свідчать (рис. 2), що з 5-го по 15-й пасаж МПК цього препарату підвищувалась у 2 рази, а після 20-го – в 3,8 рази.

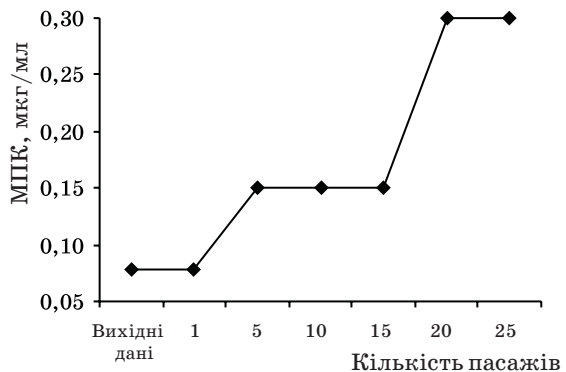


Рис. 2. Чутливість *S. aureus* до ампіциліну/сульбактаму в залежності від кількості пасажів зі сполукою АМ-166

Чутливість *E. coli* до цефотаксиму протягом 25 пасажів не змінювалася (МПК= 0,078 мкг/мл).

Чутливість дріжджоподібного гриба *C. albicans* (рис. 3) до флуконазолу протягом всього періоду досліду також не змінювалася. Поступове зниження активності тербінафіну по відношенню до *C. albicans* зареєстровано при його культивуванні в поживному середовищі, яке містило 0,5 МПК сполуки АМ-166. Так, через 5 пасажів активність препарату знизилась у 2 рази, на кінець експерименту – в 8,3 рази (МПК=5,0 мкг/мл).

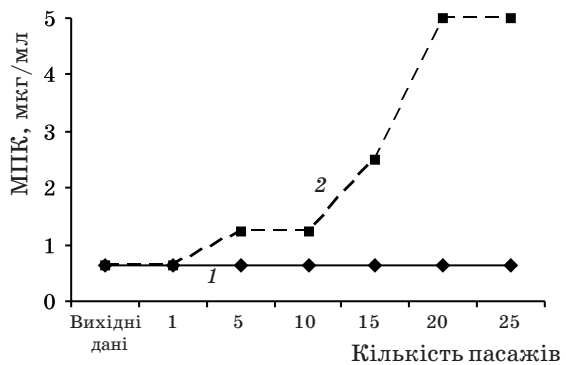


Рис. 3. Чутливість *C. albicans* до флуконазолу (1) і тербінафіну (2) в залежності від кількості пасажів зі сполукою АМ-166

Отже, результати нашого експерименту свідчать, що резистентність грампозитивної бактерії *S. aureus* та дріжджоподібного гриба *C. albicans* до сполуки АМ-166 практично не формується. Резистентність до цієї сполуки виникає у грамотрицативного представника – *E. coli*, але цей процес має повільний характер (після 10 пасажів МПК підвищується лише вдвічі і тільки після 15 пасажів – у

4 рази). Крім того, одержані дані свідчать про можливість сумісного застосування сполуки АМ-166 разом з цефотаксимом і флуконазолом, оскільки чутливість мікроорганізмів до

цих засобів практично не зменшується, а також про недоцільність її використання з тербінафіном у разі інфекції, зумовленої *C. albicans* (значне збільшення рівня МПК).

Література

1. Дехнич А.В., Эйдельштейн И.А., Нарезкина А.Д. и др. Эпидемиология резистентности нозокомальных штаммов *Staphylococcus aureus* в России: результаты многоцентрового исследования. *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия* 2002; 4, 4: 325–336.
2. Страчунский Л.С. Антибактериальная терапия: сегодня и завтра. *Мед. вестник* 1997; 8: 6–7.
3. Livermore D.M. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 1995; 8, 4: 557–584.
4. Power P., Galleni M., Ayala J., Gutkind G. Biochemical and molecular characterization of three new variants of AmpC β -Lactamases from *Morganella morganii*. *Antimicrob. Agents and Chemotherapy* 2006; 50, 3: 962–967.
5. Grkovic S., Brown M., Skurray R. Regulation of bacterial drug export systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002; 66, 4: 671–701.
6. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. М., 2002. 375 с.
7. Врынчану Н.А. Ингибирующее действие нового производного аминоадамантиана по отношению к дерматомицетам. *Пробл. екології та медицини* 2003; 7, 1–2: 10–12.
8. Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н., Нагорная С.С. Новое производное адамантана – ингибитор грибов рода *Candida*. *Пробл. мед. микологии* 2004; 6, 2: 10–12.
9. Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н. Терапевтическая эффективность 4-(адамантил-1)-1-(1-аминобутил) бензола при экспериментальной грибковой патологии. *Антибиотики и химиотерапия* 2006; 11–12: 3–5.
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Метод. указания. *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия* 2004; 6, 4: 306–359.
11. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. М.О. Биргера. М.: Медицина, 1982: 125–126.
12. Методы общей бактериологии. Под ред. Ф. Герхардта. М.: Мир, 1983: 263.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К СОЕДИНЕНИЮ 4-(АДАМАНТИЛ-1)-1-(1-АМИНОБУТИЛ) БЕНЗОЛ У БАКТЕРИЙ И ГРИБОВ

Н.А. Врынчану

В условиях *in vitro* изучено формирование резистентности бактерий и грибов к производному адамантана, а также влияние последнего на чувствительность микроорганизмов к официальному антимикробным средствам. Установлено, что практически не формируется устойчивость к этому соединению (после 25 пассажей) у *C. albicans*, *S. aureus* и регистрируется у *E. coli* (минимальная угнетающая концентрация увеличивается в 4 раза). Микроорганизмы, культивированные в присутствии адамантансодержащего вещества, практически не изменяют чувствительности к цефтазидиму и флуконазолу. Значительная устойчивость *C. albicans* регистрируется к тербинафину (активность снижается в 8,3 раза).

Ключевые слова: антибактериальная активность, антигрибковая активность, производное адамантана, резистентность.

THE RESISTANCE FORMATION OF BACTERIA AND FUNGUS TO THE SUBSTANCE 4-(ADAMANTLY-1)-1-(1-AMINOBUTYL) BENZENE

N.A. Vrynchanu

The resistance formation of bacteria and fungi to the adamantane derivative and its influence on the sensitivity of microorganisms to officinal antimicrobial remedies were researched *in vitro*. In this assay was determined, that *C. albicans* and *S. aureus* almost do not possess a resistance to this substance (after 25 passage) and *E. coli* form resistance (4 MIC). Microorganisms, which were grown with adamantane containing substance, almost do not change their sensitivity to ceftazidime and fluconazole. Considerable resistance of *C. albicans* to terbinafin (activity was reduced in 8.3 times) was observed.

Key words: antibacterial activity, antifungal activity, adamantane derivative, resistance.

Поступила 09.01.08

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ КОРЕНЕВИЦА СКОРЦОНЕРИ ЯК АДАПТОГЕНА

В.І. Жуков, Т.В. Горбач, Є.А. Міронов, В.Н. Зовський*,
Л.В. Яковлева*, Н.С. Чорна*, В.М. Колодязний**

*Харківський національний медичний університет
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Досліджували як можливий імуномодулятор кореневище скорцонери з комплексним складом полісахаридів, а також безпечність вживання кореневища в їжу і вплив його на мікро- і макроелементний вміст органів тварин. Виявили, що вживання кореневища не справляє токсичного впливу на організм щурів, збільшує вміст цинку, міді і магнію в органах, підвищує активність мієлопероксидази і знижує в периферичній крові рівень еозинофілів. Такі дані опосередковано вказують на зміцнення імунітету.

Ключові слова: *кореневище скорцонери, лейкоцитарний індекс інтоксикації, мієлопероксидаза, мікро- і макроелементи.*

Розповсюдженість захворювань, пов'язаних з дефіцитом біогенних елементів, обумовлює актуальність досліджень, направлених на пошук дешевих продуктів харчування – джерела мінеральних елементів. Мінеральні речовини мають життєво важливе значення в регуляції обміну речовин людини, їх надходження дозволяє запобігати розвитку ендемічних захворювань і створює основу для підтримування здоров'я. Біологічне значення мінеральних компонентів в обміні речовин визначається тим, що вони є структурними компонентами, їхні функції різноманітні, вони підтримують кислотно-лужну рівновагу в організмі та сольовий склад різних клітин і формених елементів крові, регулюють реакції внутрішньоклітинного обміну речовин і водно-сольового обміну. Препарати, які мають у своєму складі мінеральні речовини, підвищують адаптаційні можливості організму. На наш погляд, викликає інтерес вивчення складу мінералів у коренеплодах скорцонери – рослини, яка містить багато вітамінів і антиоксидантів [1].

Рід скорцонера (*Scorzonera L.*) – козелець, нараховує близько 170 видів. Приблизно 80 видів зустрічається на Кавказі у дикому вигляді. Найбільш широко використовуються види, які мають найбільшу харчову та лікарську цінність: козелець приємний, козелець іспанський, козелець роздільнолистий, козелець м'який [2]. Підземні корені рослини мають унікальний склад біологічно-активних речовин, вітамінів і мінералів. Основну масу сухої речовини кореневища скорцонери складають вуглеводи, головним чином водорозчинні цукри і оліго- та полісахариди, серед яких клітковина, пектинові речовини і інулін. Останній становить

від 8 до 10 % від маси кореня і є цінним компонентом в харчуванні хворих на діабет. Крім того, інулін, виводячи з організму ряд метаболітів, регулює концентрацію шкідливих речовин в організмі і проявляє захисні функції [3]. Вуглеводи є джерелом енергії для ефекторної функції клітин імунної системи в процесі імунної відповіді. Як приклад можна привести ехінацею, у якій саме водорозчинним полісахаридним комплексом обумовлена імуномодулююча дія: інтенсивна поліклональна імунна відповідь зі збільшенням активності макрофагів, клітинна відповідь і продукція імуноглобулінів основних класів [4]. За даними літератури, водорозчинний полісахаридний комплекс із скорцонери проявляє високу антибактеріальну активність, що може бути важливим доповненням до імуномодулюючих властивостей [5].

Наукових праць з вивчення даної рослини обмаль, тому метою нашого дослідження стало вивчення безпечності вживання кореневища скорцонери при додаванні в їжу тварин і можливості використання його як адаптогена.

Матеріал і методи. Для оцінки безпечності вживання кореневища скорцонери групі з 20 щурів-самців масою 200–210 г протягом 30 днів щоденно в їжу примішували подрібнені корені з розрахунку 150 г/кг маси щурів.

Контролем служили 20 щурів-самців, яких утримували в стандартних умовах віварію. По закінченні терміну вживання в їжу коренів щурів знеживлювали методом декапітації під ефірним наркозом відповідно до вимог етики роботи з лабораторними тваринами [6]. Для оцінки можливої токсичності рослини в сироватці крові тварин дослідної і контрольної груп визначали вміст молекул

середньої маси скринінг-методом [7], лейкоцитарний індекс інтоксикації [8], кількість формених елементів крові підраховували уніфікованим методом в камері Горяєва [9]. Для оцінки можливого впливу фармакологічно активних речовин кореневища скорцонери на фагоцитарну активність нейтрофілів визначали активність мієлопероксидази методом Грехема-Кіолля [10].

Відомо, що дефіцит деяких хімічних елементів в організмі людини призводить до різних захворювань. В даному експерименті методом атомно-адсорбційної спектроскопії вивчали вплив кореневища скорцонери на вміст Zn, Mg, Cu, K, Na, Ca в тканинах селезінки, печінки, нирок і серця щурів [11].

Результати та їх обговорення. При інтоксикації різноманітного генезу в біологічних рідинах відбувається значне накопичення молекул середньої маси. Визначення у дослідних тварин показників інтоксикації показало, що достовірних змін у рівні молекул середньої маси і лейкоцитарного індексу інтоксикації в сироватці крові не спостерігалося, що свідчить про відсутність токсичної дії кореневища скорцонери на організм щурів при його вживанні. Вагоме збільшення мієлопероксидазної активності у щурів дослідної групи в порівнянні з контрольною свідчить про підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів під впливом скорцонери. Результати експерименту наведені в табл. 1.

Таблиця 1. Вміст молекул середньої маси (МСМ), лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) і активність мієлопероксидази у експериментальних тварин (n=20)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|-------------------------|------------------|----------------|
| ЛІІ | 0,74±0,03 | 0,78±0,02 |
| МСМ, у. о. | 0,096±0,003 | 0,098±0,002 |
| Мієлопероксидаза, у. о. | 2,69±0,01 | 5,72±0,13* |

Примітка. Тут і в табл. 2 і 3. * Зміни достовірні по відношенню до контрольної групи.

Аналіз клінічної картини крові показав, що однонаправлені достовірні зміни є тільки в кількості паличкоядерних нейтрофілів і еозинофілів у дослідній групі, що і забезпечило незмінність лейкоцитарного індексу інтоксикації. Звичайно суттєвого порушення в імунному захисті не відбувається, якщо спостерігається зниження кількості паличкоядерних нейтрофілів при незмінній загальній кількості нейтрофілів.

Інтерес викликає факт зниження рівня еозинофілів у периферичній крові, оскільки це може бути опосередкованим показником

активності гуморальної ланки імунної системи (табл. 2). Таке передбачення вимагає подальших досліджень впливу скорцонери на імунну систему.

Дослідження показало, що вміст K, Na, Ca в печінці, нирках, селезінці і серці тварин дослідної групи не відрізняється від такого у тварин контрольної групи (табл. 3).

Вміст Zn, Cu, Mg у всіх вивчених тканинах тварин дослідної групи достовірно підвищився. Отже, кореневище скорцонери є джерелом мінералів Zn, Cu, Mg, які легко засвоюються. Враховуючи, що дані метали входять до складу багатьох ферментів, можна припустити, що застосування скорцонери приводить до активації метаболічних процесів у тканинах. Так, в організмі людини нараховують від 100 до 200 різних металопротеїнів, що містять цинк. Цинк також є активатором імунної системи. Це пов'язано з тим, що один з головних системно діючих біорегуляторів, які виділяються тимусом у кров, – тимулін містить цинк у своїй структурі. Без цинку тимулін не виявляє біологічної активності. Дефіцит цинку в харчуванні призводить до вираженого імунодефіциту, тому підвищення його рівня в організмі тварин можна розглядати як показник активації імунітету.

Мідь є коферментом дофамін-β-гідроксилази, яка бере участь у синтезі нейромедіаторів. Мідь входить до складу окисно-відновних ферментів (галактофераза, аміноксидаза, кверцитиназа, оксидаза аскорбінової кислоти, церулоплазмін, супероксиддисмутаза, цитохромоксидаза тощо). Для еритропоезу і гранулопоезу мідь необхідна, тому що стимулює дозрівання ретикулоцитів шляхом активації цитохромоксидази.

Важливим кофактором деяких аденілатциклаз, фосфатаз і фосфорилаз є магній. Магній входить до складу більше 300 ферментів (ферменти гліколізу, синтезу ДНК, РНК, білків). При синтезі ацетил-КоА, фосфохолінів та холінфосфатидів потрібен магній. Магній активує майже всі ферменти циклу Кребса. Магній потрібен для активації АТФаз м'язів, ацетилхолінестерази, дегідрогенази α-кетокислот. Іони магнію мають властивість утворювати комплекси, тому магній приймає участь у «зшивках» окремих субодиниць білків, формуванні третинних і четвертинних структур білків і нуклеїнових кислот.

Отже, проведені досліді показали, що вживання тваринами в їжу кореневища скорцонери не викликає токсичних проявів, приводить до значного збільшення мієлопероксидазної активності в нейтрофілах, що свідчить про підвищення неспецифічного імунного за-

Таблиця 2. Клінічна картина крові експериментальних тварин при вживанні кореневища скорцонеру ($n=20$)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Еритроцити, $\times 10^{12}/л$ | 7,65 \pm 0,51 | 7,66 \pm 0,43 |
| Гемоглобін, г/л | 107,80 \pm 2,67 | 108,50 \pm 2,11 |
| Тромбоцити, $\times 10^3/л$ | 0,028 \pm 0,002 | 0,027 \pm 0,010 |
| Лейкоцити, $\times 10^9/л$ | 9,60 \pm 0,57 | 9,37 \pm 0,48 |
| Нейтрофіли, % | | |
| паличкоядерні | 1,80 \pm 0,11 | 1,40 \pm 0,09* |
| сегментоядерні | 32,31 \pm 2,07 | 30,00 \pm 1,35 |
| Лімфоцити, % | 63,15 \pm 3,02 | 65,71 \pm 2,15 |
| Моноцити, % | 0,90 \pm 0,03 | 1,10 \pm 0,09 |
| Еозинофіли, % | 1,85 \pm 0,08 | 1,60 \pm 0,04* |

Таблиця 3. Вплив вживання скорцонеру на вміст мінералів в органах щурів ($n=20$)

| Орган | Мінерали, мг/100 г | | | | | |
|-----------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------|------------------|--------------------|
| | K | Na | Ca | Mg | Zn | Cu |
| Печінка | | | | | | |
| контроль | 129,9 \pm 10,2 | 101,70 \pm 8,64 | 1,61 \pm 0,11 | 1,48 \pm 0,12 | 2,11 \pm 0,11 | 0,304 \pm 0,134 |
| дослід | 131,8 \pm 11,5 | 108,0 \pm 10,0 | 1,63 \pm 0,10 | 1,56 \pm 0,07* | 2,35 \pm 0,06* | 0,355 \pm 0,120* |
| Селезінка | | | | | | |
| контроль | 135,4 \pm 11,2 | 124,50 \pm 10,02 | 2,68 \pm 0,22 | 2,640 \pm 0,046 | 2,37 \pm 0,14 | 2,229 \pm 0,076 |
| дослід | 135,20 \pm 10,43 | 133,8 \pm 9,3 | 2,66 \pm 0,19 | 2,910 \pm 0,028* | 2,85 \pm 0,17* | 0,286 \pm 0,040* |
| Серце | | | | | | |
| контроль | 169,2 \pm 12,0 | 102,0 \pm 8,5 | 2,92 \pm 0,22 | 1,51 \pm 0,02 | 1,39 \pm 0,04 | 0,420 \pm 0,030 |
| дослід | 172,0 \pm 10,7 | 103,0 \pm 9,6 | 2,78 \pm 0,24 | 1,73 \pm 0,04* | 1,76 \pm 0,02* | 0,520 \pm 0,0* |
| Нирки | | | | | | |
| контроль | 154,3 \pm 13,8 | 102,9 \pm 10,0 | 1,83 \pm 0,12 | 1,89 \pm 0,13 | 2,33 \pm 0,08 | 0,287 \pm 0,090 |
| дослід | 144,5 \pm 14,1 | 110,2 \pm 10,8 | 1,79 \pm 0,16 | 2,88 \pm 0,12* | 3,09 \pm 0,16* | 0,356 \pm 0,050* |

хисту, та знижує рівень еозинофілів у периферичній крові, що вказує на стимуляцію гуморального імунного захисту у здорових щурів. Кореневище скорцонеру є джерелом мікроелементів магнію, цинку, міді.

Висновки

Вживання кореневища скорцонеру в їжу не викликає токсичних проявів.

Споживання тваринами скорцонеру призводить до значного збільшення мієлопероксидазної активності в нейтрофілах, що свідчить про підвищення їхньої фагоцитарної активності; до підвищення вмісту в тканинах цинку, міді та магнію і, як результат, до підвищення активності клітинної і гуморальної ланки імунітету.

Література

1. Жуков В.И., Горбач Г.В., Миронов С.А. та ін. Вивчення хімічного складу і антиоксидантних властивостей кореневища скорцонеру. Експерим. і клініч. медицина 2007; 4: 70–72.
2. Vulsteke G., Callewaert D., Seynnaeve M., Calus A. Onderzoek. Schorseneer. Wortelen, 1995. 76 p.
3. Маршалкин М.Ф., Орбинская В.Н. Пищевые волокна скорцонеры и овсяного корня и их лечебно-профилактическое использование. Рац. питание, пищевые добавки и биостимуляторы 2004; 1: 71–74.
4. Коваль Е., Лакиза Т., Олейник О. Применение эхинацеи-ратиофарм в клинике: анализ литературных данных и собственного опыта. Ліки України 2003; 11: 27–30.
5. Горчакова Н. Препараты эхинацеи: минуле, сучасне, майбутнє... Ліки України 2002; 6: 2–3.
6. Gassman T.A. Moderne Methoden der Pflangenanalyse (Ed. V. Peach, M.V. Tracey). Springer Verlag, Berlin, 1965: 476.

7. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Т. 1. Минск: Беларусь, 2000: 344–351.
8. Кальф-Калиф Я.Я. Про лейкоцитарний індекс інтоксикації і можливість його застосування для клінічних потреб педіатрії. Педіатр., акуш., гінекол. 1990; 3: 43–52.
9. Зупанець І.А., Москаленко В.Ф., Місюрова С.В. та ін. Клінічні лабораторні методи дослідження. Харків: Золоті сторінки, 2001. 177 с.
10. Методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. проф. В.В. Мельникова. М.: Медицина, 1987: 129.
11. Брицке М.Э. Атомно-абсорбционный спектрохимический анализ. М.: Химия, 1982. 280 с.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРНЕВИЩА СКОРЦОНЕРЫ В КАЧЕСТВЕ АДАПТОГЕНА

В.И. Жуков, Т.В. Горбач, Е.А. Миронов, В.Н. Зовский, Л.В. Яковлева, Н.С. Чорна

Изучали как возможный иммуномодулятор корневище скорцонеры с комплексным составом полисахаридов, а также безопасность употребления его в пищу и влияние на микро- и макроэлементное содержание органов животных. Выявили, что употребление корневища не оказывает токсического воздействия на организм крыс, увеличивает содержание цинка, меди и магния в органах, повышает активность миелопероксидазы и снижает в периферической крови уровень эозинофилов. Имеющиеся данные опосредованно указывают на укрепление иммунитета.

Ключевые слова: корневище скорцонеры, лейкоцитарный индекс интоксикации, миелопероксидаза, микро- и макроэлементы.

THE PERSPECTIVES OF APPLICATION OF SKORCONERYS RHIZOMES AS AN ADAPTOGEN

V.I. Zhukov, T.V. Gorbach, E.A. Mironov, V.N. Zovsky, L.V. Yakovleva, N.S. Chorna

In work used skorconerys rhizome with complex content of polysaccharides as a possible immunomodulator are studied as well as safety usage as food and influence its on the micro- and macroelements content in the organs animals. Elucidate the usage rhizome is found out not to cause render toxic influence on the organism of rats, but it raises the activity the immunity.

Key words: rhizome skorconery, leukocytic index intoxication, myeloperoxidas, micro- and macroelements.

Поступила 05.09.07

СТАБИЛИЗАЦИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

О.Е. Струс

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Экспериментально обосновано применение суммы антиоксидантов для увеличения потребительской ценности каротина со значительным увеличением срока его сохранности в результате снижения уровня деструктивного разрушения. Полученные данные открывают широкие возможности для применения каротина в лечебно-профилактических продуктах длительного хранения.

Ключевые слова: антиоксиданты, окислительная деструкция, микрогрибы.

В биологических системах антиоксидантами называются вещества, способные ингибировать процессы свободнорадикального окисления. Для живых клеток наибольшую опасность представляет цепное окисление полиненасыщенных жирных кислот, или перекисное окисление липидов (ПОЛ) [1]. При реакциях ПОЛ образуется большое количество липидных гидроперекисей, которые обладают высокой реакционной способностью и оказывают мощное повреждающее действие на клетку. В последнее время свободные радикалы и реакции с их участием считаются причиной повышения скорости старения организма, возникновения раковых заболеваний и т. д. [2]. Установлено, что повреждение кожи, обусловленное свободными радикалами, является ключевым фактором, от которого зависят многие неблагоприятные изменения в коже, в том числе и ускоренное старение [3].

Защита организма от этих и многих других заболеваний – основная функция антиоксидантной системы. Антиоксиданты предотвращают процессы ПОЛ и не дают свободным радикалам накапливаться в организме. Истощение антиоксидантной системы на фоне свободнорадикальных процессов и ПОЛ формируют структурно-метаболическое состояние, называемое окислительным стрессом. Известно, что в естественных условиях обитания человека чаще всего окислительный стресс вызывается ультрафиолетовым излучением, которое не только индуцирует свободнорадикальное окисление, но и нарушает активность ферментных антиоксидантов кожи. Пищевые добавки и косметические средства с антиоксидантами могут предотвращать окислительный стресс и замедлять процессы старения [3]. Антиоксидантные добавки вводятся в рецептуру косметических средств не только для защиты кожи, но и для предотвращения перекисного окисления масел, содержащих полиненасыщен-

ные жирные кислоты и служащих основами для косметической продукции [4]. При этом, измеряя скорость разрушения антиоксиданта в косметическом препарате, можно оценить интенсивность протекающих в нем окислительных процессов. Это позволяет при необходимости вносить изменения в рецептуру, увеличивая долю мононенасыщенных (более устойчивых к окислению) масел, подбирая условия хранения или исключая вещества, которые способствуют быстрому окислению (например, фотокатализаторы). В качестве антиоксидантов сегодня наиболее часто применяют витамин Е или его изомеры, например тролокс-С. Каротиноиды – красные и оранжевые растительные пигменты – относятся к жирорастворимым антиоксидантам. Наиболее известен бета-каротин, который является предшественником витамина А. Все каротиноиды в той или иной степени являются ловушками синглетного кислорода. Каротиноиды содержатся в красных и оранжевых фруктах и овощах, а также в их масляных экстрактах и некоторых маслах. Наиболее богаты каротиноидами масло облепихи, шиповника, пальмовое масло. Кроме того, каротиноиды получают биосинтетическим путем из биомассы мукорового микрогриба *Blakeslea trispora* [5].

Введение в масляный раствор каротина микробиологического (из биомассы гриба *Blakeslea trispora*) витамина Е, играющего роль не только биологически активной добавки, но и стабилизатора окислительных процессов, не только продлевает сроки его хранения, но и способствует сохранению биологической активности. Эффективность действия антиоксидантов оценивали по содержанию каротиноидов и скорости окисления каротина с использованием кумольной модели [6].

Материал и методы. Сумма каротиноидов определялась спектрофотометрическим

методом с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве антиоксидантов использовали бутилокситолуол (БОТ), бутилоксианизол (БОА) и α -токоферол. Образцы окисляли с использованием реакции инициированного окисления кумола (РИОК) при 60 °С. Реакцию окисления кумола проводили при скорости инициирования $w_i=6,8 \cdot 10^{-8}$ моль/(л·с) и температуре 60 °С. Инициатор – азо-бис-изо-бутиронитрил (АИБН). Скорость инициирования рассчитывали по формуле, приведенной в работе [7].

С помощью модельной реакции окисления кумола при скорости инициирования $6,8 \cdot 10^{-8}$ моль/(л·с) можно определять константы скорости ингибирования в пределах 102–105 моль/(л·с). Витамин Е имеет константу ингибирования (K_7), на порядок превышающую K_7 для БОТ [7]. Это означает, что радикалы, образующиеся из стабилизаторов, взаимодействуют только с кумилперекисными радикалами и не реагируют друг с другом.

Результаты и их обсуждение. Стабилизация каротина смесью фенольных антиоксидантов может быть обусловлена подавлением реакции продолжения цепи с участием радикалов токоферолов вследствие их взаимодействия с фенольным пространственно затрудненным 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенолом (БОТ). Несмотря на высокую антирадикальную активность токоферолов, их эффективность определяется степенью участия радикалов токоферолов в побочных реакциях. В этом случае можно ожидать эффекта от прибавления только таких же активных ингибиторов в соизмеримых концентрациях или активных синергистов.

Для стабилизации каротина было взято молярное соотношение БОТ и α -токоферола (1 : 10) при суммарной концентрации $(2,5-4,0) \cdot 10^{-4}$ моль/л (0,02 %).

О стабилизирующем эффекте смеси антиоксидантов (БОТ+ α -токоферол) судили по содержанию каротиноидов как визуально, так и с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Влияние каждого из антиоксидантов на сохранность каротина и совместное их действие на продолжительность индукционного периода окисления каротина показано на рис. 1. Судя по кинетическим кривым, более интенсивное стабилизирующее действие на каротиновую систему оказывала группа антиоксидантов: α -токоферол + БОТ. Время окисления, характеризующееся кинетической кривой, увеличивалось по сравнению с использованием одного антиоксиданта почти в 2 раза. $w_i=0,3+1 \cdot 10^6$ моль/(л·с), $t=60$ °С,

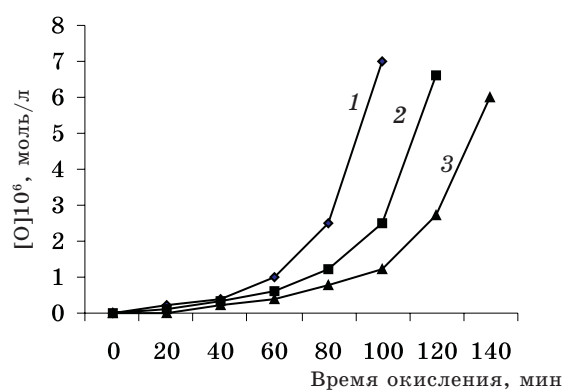


Рис. 1 Кинетические кривые инициированного окисления β -каротина в подсолнечном масле (1), с α -токоферолом (2) и α -токоферолом + БОТ (3)

АИБН – $9,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, α -токоферол – $4,6 \cdot 10^3$ моль/л; БОТ – $5,4 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Значительно различались и кинетические кривые расходования каротиноидов (рис. 2).

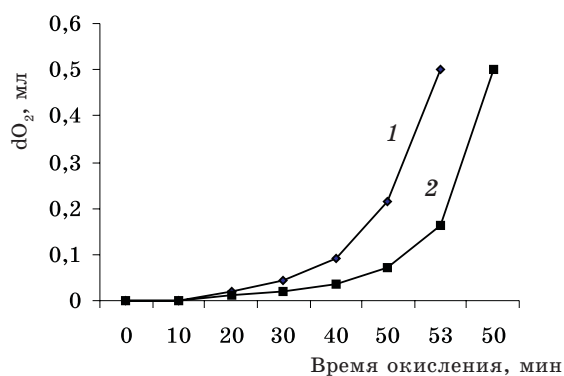


Рис. 2. Кинетические кривые поглощения кислорода в присутствии α -токоферола + БОТ (1), γ -токоферола + БОТ (2)

Введение в масляную систему жирорастворимых витаминов и суммы антиоксидантов (α -токоферол + БОТ) приводило к значительному торможению окисления каротина микробиологического кислородом воздуха.

На рис. 3 приведены кинетические кривые поглощения кислорода в присутствии антиоксидантов в РИОК (объем смеси – 10 мл, 60 °С, 1 год хранения).

Эффект синергизма α -токоферола с БОТ в отношении стабилизации каротина прослеживается на рис. 3. Наибольший эффект отмечается при соотношении антиоксидантов 10 : 1, после чего совместное стабилизирующее действие α -токоферола и БОТ падает. Видимо, наблюдаемый синергизм отмечается в данной системе до определенной концентрации α -токоферола, в результате дальнейшего увеличения его концентрации снижается антиокислительное действие в отношении каротина. Эффективность торможения α -токоферолом, БОТ или их смесями процессов

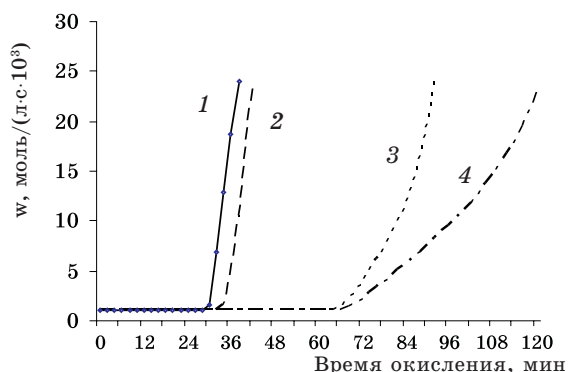


Рис. 3. Кинетические кривые поглощения O_2 в присутствии АО в РИОК: 1 – контроль; 2 – БОА; 3 – БОТ; 4 – α -токоферол + БОТ

окисления каротина зависит от концентрации всех компонентов реакционной системы.

Литература

1. Окислительный стресс и антиоксиданты: организм, кожа, косметика. Под ред. А. Петрухиной. Сб. статей. М.: Косметика и медицина, 2006. 286 с.
2. Furukawa R.D., Brown W.R., Shivji G.M., Ramsay C.A. Assessment by mouse model of the ultraviolet a protective effect of topical sunscreens. J. Amer. Acad. Dermatol. 1989; 20: 1031–37.
3. Браун М.У., Хамилтон Л.Дж., Лонг С.П. Каково значение антиоксидантов в средствах защиты от солнца. Косметика. Междунар. отрасл. журн. 2003; 6: 26–35.
4. Кричковская Л.В., Донченко Г.В., Чернышов С.И., Никитченко Ю.В. Природные антиоксиданты: биохимические, биологические, медицинские аспекты. Харьков: Модель вселенной, 2003. 375 с.
5. Кричковская Л.В., Кунщикова И.С., Мартеновский В.П., Донченко Г.В. Биотехнология каротина: селекция, синтез, биохимия. Харьков: Модель вселенной, 2003. 278 с.
6. Кричковская Л.В. Выбор синергитических пар антиоксидантов в защите каротина от окисления в жирах. Вестн. ХГПУ. Вып. 23. Харьков, 1998: 191–193.
7. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. М.: Высш. шк., 1988. 243 с.

СТАБІЛІЗАЦІЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ СІРОВИНИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАСОБІВ

О.Є. Струс

Експериментально обґрунтовано використання суми антиоксидантів для збільшення споживчої цінності каротину із значним збільшенням терміну його збереження за рахунок зниження рівня деструктивного руйнування. Отримані дані відкривають широкі можливості для застосування каротину в лікувально-профілактичних продуктах тривалого збереження.

Ключові слова: антиоксиданти, окисна деструкція, мікрогриби.

STABILIZATION OF BIOTECHNOLOGICAL RAW MATERIALS AIMED PRODUCTION OF TREATMENT-PROPHYLACTIC AGENTS

O.E. Strus

The application antioxidants combination aimed for increasing of carotene consumption value with substantial increase of its preserving time due to reducing of destructive decomposing level is experimentally substantiated. The data obtained creates wide possibilities for carotene application in long-term saving products aimed for medical and preventive purposes.

Key words: antioxidants, oxidative destruction, microfungi.

Поступила 16.10.07

ТЕХНОЛОГИИ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ ПРИ ВЫБОРЕ ОПТИМАЛЬНОЙ СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

О.В. Зайцева, Н.В. Жукова, А.В. Арсеньев**, М.Н. Нессонова**,
Э.Н. Солошенко, И.В. Шуба, Н.А. Гордиенко, Е.Г. Татузян*

Харьковский национальный медицинский университет

**Кожно-венерологический диспансер № 2, г. Харьков*

***Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

Разработана высокоточная нейросетевая модель прогнозирования исхода лечения больных псориазом. Выявлены критериально значимые показатели (индекс тяжести заболевания, активность аспарагиновой аминотрансферазы, уровни креатинина, железа, магния в крови), существенно влияющие на течение и эффективность лечения больных псориазом. В модели достигнута высокая общая точность и максимальное соотношение чувствительности и специфичности.

Ключевые слова: псориаз, нейронные сети, прогнозирование, точность прогноза.

Выбор оптимальной стратегии лечения с учетом индивидуальности больного является второй важнейшей задачей медицины после диагностики, решение которой на интуитивном уровне даже высококвалифицированным специалистом может быть не всегда точным. В настоящее время в таком случае врачи все чаще используют разработки высоких информационных технологий – методы экспертных оценок, математические модели, а также отдельные лабораторные маркеры тяжести патологического процесса [1–4]. При этом принятие решения о назначении лечения опирается на математическую модель соответствующей болезни и формализованные методы, позволяющие с учетом параметров, характеризующих индивидуальность и клиническую картину данного больного, выбрать наиболее эффективную процедуру лечения.

Псориаз, как системный патологический процесс, по-прежнему является одной из актуальных проблем биологии и медицины. При наличии большого количества научных работ, раскрывающих этиологию и патогенез псориаза, не существует единого мнения относительно структурно-метаболических механизмов формирования этой патологии, не разработаны модели прогнозирования особенностей течения заболевания, что, безусловно, необходимо для повышения эффективности принимаемых решений в лечении больного.

Для идентификации больных с высоким риском осложнений при псориазе классическим методом является многомерный дискриминантный анализ. Однако в последнее время для дифференцированной оценки тяжести и прогноза развития конкретного патологического процесса, согласно клиниче-

ским данным, все большую распространенность получают методы, основанные на построении нейронных сетевых моделей [5–8].

Целью данной работы явилось построение нейросетевой модели прогнозирования характера течения псориаза, инвариантной относительно конкретной лечебно-тактической ситуации и позволяющей выявить значимые клинико-биохимические показатели, существенно влияющие на течение и эффективность лечения псориаза.

Материал и методы. Выбор архитектуры нейронной сети (НС), ее обучение и проверка полученной модели проводились с использованием пакета STATISTICA NEURAL NETWORKS (нейронно-сетевой пакет фирмы STATSOFT), представляющий его реализацию всего набора нейросетевых методов анализа. НС – это нелинейные системы, которые гораздо лучше классифицируют данные, чем обычно используемые линейные системы, значительно повышают чувствительность метода, не снижая его специфичности.

С использованием технологий НС проведен анализ результатов лечения 67 больных псориазом. При госпитализации в соответствии с индексом тяжести заболевания были выделены 18 пациентов с легким течением болезни, 33 – со средней степенью тяжести и 16 – с тяжелым течением. Для каждого больного в базу данных вносили 20 клинико-биохимических показателей, характеризующих его статус в момент поступления. Исследовали следующие показатели сыворотки крови: активность аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ), гамма-глутаматтранспептидазы (γ -ГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), креатинфосфоки-

назы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), сердечной фракции креатинфосфокиназы (СФ КФК), содержание билирубина, глюкозы, мочевины, белка, холестерина, альбумина, креатинина, триацилглицеридов (ТАГ), ионов кальция (Ca^{2+}), магния (Mg^{2+}), железа (Fe^{2+}), фосфора (P^{5+}). Совокупность данных обследования являлась примером для предъявления НС. С целью решения задачи классификации была построена многослойная сеть прямого распространения сигнала типа многослойного персептрона.

Программа оперировала с 20 входными переменными – клинико-биохимическими показателями больных при поступлении, и одной выходной переменной – возможный исход лечения, в котором выделяли три категории: 1 – затяжное течение болезни с рецидивами, уменьшение продолжительности ремиссии, 2 – продолжительная ремиссия, 3 – длительная ремиссия. Имеющийся набор данных разбивали на так называемые обучающую, контрольную и тестовую выборки. Процесс обучения проходил как подгонка модели, реализуемой сетью, к обучающим данным. Для обучения НС применили алгоритм обратного распространения ошибки,

который является стандартным для обучения НС типа многослойного персептрона [2]. В результате оставляли сеть с наименьшей ошибкой. Далее построенную модель проверили на тестовой выборке на адекватность и убрали эффект переобучения. Число переменных уменьшили методом сжатия данных с потерями с помощью четырехслойной автоассоциативной НС с нелинейными передаточными функциями [9].

Результаты и их обсуждение. С целью выбора адекватных методов исследования был проведен первичный анализ входных данных методами описательной статистики [10]. Критерий нормальности Шапиро–Вилка показал, что лишь 2/3 входных переменных принадлежат генеральной совокупности, распределенной по нормальному закону. Для описания их центральных тенденций использовали среднее \pm ошибка среднего, а для оставшейся 1/3 вариант определяли медиану, разброс оценивали верхним (75% -ный перцентиль) и нижним (25% -ный перцентиль) квантилями. Вычисленные центральные тенденции и разброс приведены в таблице. Переменные, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, отмечены*.

Центральные тенденции по индексу тяжести заболевания

| Показатель | Среднее [±] ошибка среднего | | | Медиана ^{верхний квантиль} _{нижний квантиль} | | |
|---------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---|----------------------------|-----------------------------|
| | индекс тяжести заболевания | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| АсАТ | 20,13 ^{±5,62} | 9,00 ^{±2,30} | 17,00 ^{±4,82} | 13,00 17,50 ^{20,00} | 2,00 5,50 ^{18,00} | 2,5 20,0 ^{26,5} |
| АЛАТ* | 10,9 ^{±2,77} | 8,07 ^{±2,27} | 4,46 ^{±0,94} | 4,00 9,30 ^{18,00} | 3,00 5,00 ^{9,00} | 3,00 3,50 ^{6,50} |
| Билирубин* | 10,72 ^{±1,57} | 8,74 ^{±1,58} | 13,98 ^{±3,15} | 7,69 9,22 ^{12,69} | 6,58 7,41 ^{8,78} | 6,5 13,41 ^{17,7} |
| γ -ГТ* | 57,13 ^{±32,61} | 32,57 ^{±5,36} | 38,94 ^{±10,68} | 23,00 29,00 ^{33,50} | 16,0 26,0 ^{51,0} | 21,5 33,0 ^{39,5} |
| ЩФ | 137,88 ^{±13,82} | 159,21 ^{±14,65} | 181,88 ^{±12,98} | 112,0 132,5 ^{156,0} | 111,0 160,0 ^{0,0} | 152 185 ²¹⁷ |
| Глюкоза* | 4,23 ^{±0,204} | 4,68 ^{±0,66} | 4,26 ^{±0,42} | 3,90 4,16 ^{4,68} | 3,67 4,05 ^{4,67} | 3,57 3,75 ^{5,24} |
| КФК* | 121,75 ^{±19,59} | 61,00 ^{±5,68} | 181,88 ^{±55,64} | 90,5 109,0 ^{151,0} | 50,0 58,5 ^{72,0} | 98,0 107,5 ^{245,0} |
| ЛДГ* | 196,13 ^{±23,92} | 189,93 ^{±21,34} | 241,88 ^{±59,18} | 152,0 165,5 ^{249,0} | 137 186 ²³⁰ | 140 199,5 ^{289,5} |
| Ca^{2+} * | 3,56 ^{±0,84} | 2,92 ^{±0,88} | 3,79 ^{±0,89} | 3,35 4,45 ^{4,90} | 2,80 3,60 ^{4,30} | 2,95 4,15 ^{4,85} |
| Мочевина | 3,39 ^{±0,12} | 3,60 ^{±0,20} | 3,30 ^{±0,36} | 3,10 3,40 ^{3,60} | 3,00 3,45 ^{4,30} | 2,65 3,00 ^{4,15} |
| Креатинин | 77,38 ^{±6,53} | 65,79 ^{±6,96} | 68,75 ^{±11,04} | 66,00 80,50 ^{88,50} | 47 55,00 ⁹⁰ | 52,5 55,0 ^{80,0} |
| СФ КФК | 21,31 ^{±2,71} | 14,64 ^{±2,36} | 29,46 ^{±4,49} | 15,70 18,95 ^{26,45} | 8,4 12,20 ^{21,9} | 19,45 29,00 ^{36,5} |
| Белок* | 78,61 ^{±1,78} | 82,51 ^{±6,01} | 90,63 ^{±3,02} | 74,35 79,35 ^{81,20} | 80,9 84,05 ^{96,7} | 86,65 90,65 ^{96,5} |
| Mg^{2+} | 0,75 ^{±0,07} | 0,64 ^{±0,10} | 0,64 ^{±0,09} | 0,62 0,73 ^{0,93} | 0,29 0,67 ^{0,88} | 0,53 0,67 ^{0,84} |
| P^{5+} | 1,15 ^{±0,11} | 1,23 ^{±0,08} | 1,13 ^{±0,09} | 0,88 1,11 ^{1,42} | 1,01 1,23 ^{1,39} | 0,92 1,06 ^{1,32} |
| ХС | 4,96 ^{±0,23} | 5,41 ^{±0,42} | 5,25 ^{±0,38} | 4,80 4,95 ^{5,45} | 3,90 4,95 ^{6,80} | 4,30 5,25 ^{6,00} |
| ТАГ* | 1,15 ^{±0,12} | 1,75 ^{±0,24} | 1,72 ^{±0,40} | 0,86 1,05 ^{1,48} | 1,03 1,43 ^{2,16} | 0,97 1,19 ^{2,36} |
| Альбумин | 45,76 ^{±0,79} | 50,47 ^{±1,98} | 52,70 ^{±2,79} | 44,25 46,00 ^{47,45} | 47,7 50,50 ^{52,3} | 48,55 55,9 ^{58,25} |
| Fe^{2+} | 20,46 ^{±3,39} | 22,49 ^{±2,23} | 28,39 ^{±4,91} | 13,00 18,75 ^{25,35} | 17,1 20,05 ^{27,5} | 20,15 27,4 ^{35,95} |

При поиске оптимальной архитектуры классифицирующей НС были разработаны несколько ее вариантов с разным числом нейронов в скрытом слое. По результатам проведенных экспериментов выбрали сеть с 5 входами, 10 элементами промежуточного слоя и одним выходом. Схема разработанной нами НС показана на рис. 1.

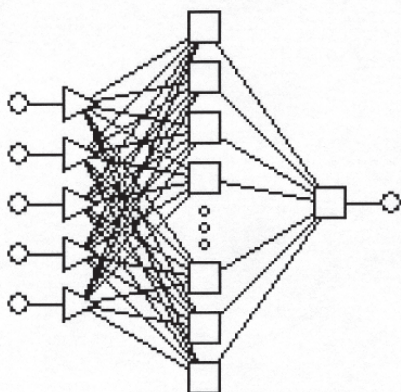


Рис. 1. Архитектура трехслойного перцептрона

После обучения сети качество ее работы оценивалось по нескольким показателям – среднеквадратичной ошибке, S.D. ratio (отношению стандартного отклонения ошибки прогноза к стандартному отклонению исходных данных) и доле объясненной дисперсии модели. В результате как самая эффективная была выбрана модель с параметрами: общая точность 93,0 %, специфичность 95,5 % и чувствительность 91,5 %. Так, на выборке из 67 случаев для 18 пациентов с легким течением болезни правильно спрогнозировано 16 исходов, для 16 больных с тяжелым течением – 15 исходов.

Нейросетевое моделирование показало, что в качестве входных переменных наиболее целесообразно использовать индекс тяжести, активность АсАТ, уровни креатинина, ионов железа Fe^{2+} , магния Mg^{2+} в крови, то есть величины именно этих показателей обеспечивают прогноз той или иной категории исхода лечения. Анализ весов переменных модели свидетельствовал о наибольшей значимости индекса тяжести, активности АсАТ и содержания креатинина в крови. Иллюстрацией этому служат результаты анализа чувствительности построенной НС (рис. 2).

Таким образом, можно предполагать, что данные клинико-биохимические показатели выступают в качестве критерияльно значимых при выборе оптимальной стратегии лечения псориаза.

Безусловно, в первую очередь на исход лечения влияет степень тяжести заболевания.

В ходе проведенных исследований выявлена интересная взаимосвязь между показателями степени тяжести и исходом лечения (рис. 3).

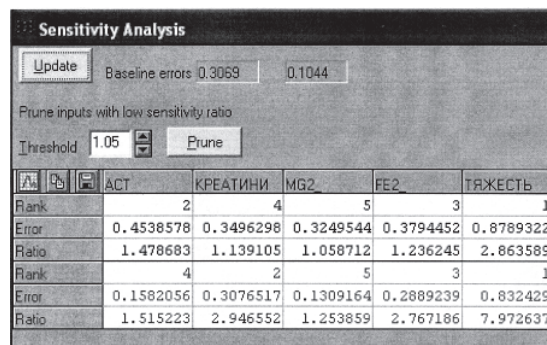
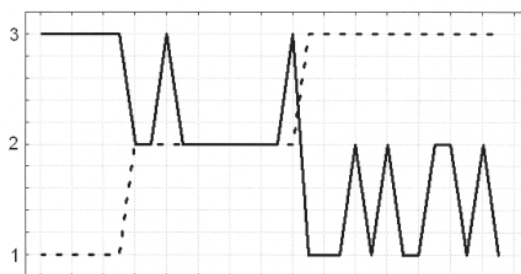


Рис. 2. Анализ чувствительности нейросетевой модели



Наблюдения

Рис. 3. Связь между степенью тяжести состояния пациента (—) и исходом лечения (---)

В данной ситуации, по нашему мнению, важным является не только решение конкретной практической задачи, но и разработка принципиально нового подхода к математическому анализу и систематизации клинических показателей. Метод НС формирует новый перспективный подход к математической обработке данных по комплексной диагностике функционального статуса больного.

Выводы

1. Метод нейронной сети может эффективно использоваться для прогнозирования исхода лечения больных псориазом.

2. Разработанная высокоточная нейросетевая модель позволила выделить критерияльно значимые показатели – индекс тяжести заболевания, активность аспарагиновой аминотрансферазы, содержание креатинина, железа, магния в крови, определяющие выбор оптимальной стратегии лечения больных псориазом.

3. В используемой модели достигнуты существенная общая точность (93,0 %) и максимальное соотношение чувствительности (91,5 %) и специфичности (95,5 %).

Литература

1. Дюк В., Эммануэль В. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. СПб.: Питер, 2003. 528 с.
2. Черноруцкий И.Г. Методы принятия решений. СПб.: БХВ-Петербург, 2005. 416 с.
3. Kats M., Kestelman V., Davidenko A. Intelligent technology of complex systems study as a methodological background for development of high medical technologies. Scientific Israel-Technological Advantages, ISSUES 2004; 1-2, 6: 55-62.
4. Knaus W.A., Draper E.A., Wagner D.P., Zimmerman J.E. APACHE II: A severity of disease classification system. Crit. Care Med. 1985; 13: 818-829.
5. Каллан Р. Основные концепции нейронных сетей. М.: Изд. Дом «Вильямс», 2001. 287 с.
6. Осовский С. Нейронные сети для обработки информации. М.: Финансы и статистика, 2002. 344 с.
7. Назаренко Г.И., Сидоренко В.И., Лебедев Д.С. Прогнозирование характера течения острого панкреатита методом нейронных сетей. Вестн. хирургии 2005; 164, 1: 50-54.
8. Люгер Дж.Ф. Искусственный интеллект. Стратегии и методы решения сложных проблем. 4-е изд. Пер. с англ. М.: Изд. Дом «Вильямс», 2003. 864 с.
9. Филаретов Г.Ф., Джордан Б. Применение автоассоциативных нейронных сетей для сжатия информации. XXX Междунар. конф. «Информационные технологии в науке, образовании, телекоммуникации, бизнесе». М., 2003: 8-11.
10. Ким Дж.-О., Мьюллер Ч.У., Клекка У.Р. и др. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. 215 с.

ТЕХНОЛОГІЇ НЕЙРОННИХ МЕРЕЖ ПРИ ВИБОРІ ОПТИМАЛЬНОЇ СТРАТЕГІЇ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ

О.В. Зайцева, Н.В. Жукова, О.В. Арсеньев, М.М. Нессонова, Е.М. Солошенко, І.В. Шуба, Н.О. Гордієнко, Є.Г. Татузян

Розроблена високоточна нейросетєва модель прогнозування результату лікування хворих на псоріаз. Виявлені критеріально значущі показники (індекс важкості захворювання, активність аспарагінової амінотрансферази, рівень креатиніну, заліза, магнію в крові), що суттєво впливають на хід і ефективність лікування хворих на псоріаз. У моделі досягнуто високу загальну точність і максимальне співвідношення чутливості та специфічності.

Ключові слова: псоріаз, нейронні мережі, прогнозування, точність прогнозу.

NEURAL NETWORKS TECHNOLOGIES IN SELECTION OF THE OPTIMAL STRATEGY OF PSORIASIS PATIENTS TREATMENT

O.V. Zaytseva, N.V. Zhukova, A.V. Arsenyev, M.N. Nessonova, E.N. Soloshenko, I.V. Shuba, N.A. Gordienko, E.G. Tatusian

For prognosis psoriasis patients treatment outcome the highly precise neural network model was developed. There were revealed criterion significant indices (severity of disease index, concentrations of AST, creatinin, iron, magnesium) which influence on the severity and efficiency of the psoriasis patients treatment. High total precision and maximum correlation of the sensitivity and specificity were achieved in model.

Key words: psoriasis, neural networks, prognoses, prognosis for precision.

Поступила 03.10.07

ТЕРАПІЯ

КЛІНІКО-ГЕМОДИНАМІЧНІ І МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ
У ХВОРИХ НА ЕСЕНЦІАЛЬНУ АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ
З ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ В ДИНАМІЦІ МОНО-
ТА КОМБІНОВАНОЇ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ТЕРАПІЇ

Д.К. Милославський, І.О. Снігурська, О.М. Щенявська

ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої АМН України», м. Харків

Під час багатофакторного вивчення показників у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю встановлені особливості впливу моно- і комбінованої терапії на рівні артеріального тиску, параметри добового профілю, морфофункціональні характеристики серця, ліпідно-вуглеводний гомеостаз, рівні лептину. Виявлені значні переваги комбінованої терапії щодо впливу на патогенетичні чинники у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю і метаболічна нейтральність монотерапії бета-адреноблокатором.

Ключові слова: есенціальна артеріальна гіпертензія, інсулінорезистентність, ліпідно-вуглеводний гомеостаз, метаболічна нейтральність.

Останнім часом увагу дослідників привертають варіанти перебігу есенціальної артеріальної гіпертензії (ЕАГ), що асоціюються з низкою метаболічних порушень та інсулінорезистентністю (ІР) [1–9]. Розвиток, прогресування, формування ускладнень захворювання перш за все корелюють з гемодинамічним фактором – масою міокарда лівого шлуночка (ММЛШ), що відображує ступінь ураження серця при цій хворобі [10]. Накопичено чимало фактів щодо формування гіпертрофії лівого шлуночка (ЛШ) та її змін у динаміці антигіпертензивної терапії при ЕАГ [11], однак мало літературних джерел щодо особливостей геометрії ЛШ, характеру ремоделювання серця і судин у осіб з наявністю або відсутністю ІР в динаміці сучасної диференційованої антигіпертензивної терапії [12, 13]. Існують суперечливі дані про вплив інгібіторів АПФ, тіазидоподібних діуретиків і бета-адреноблокаторів на метаболічні показники (параметри вуглеводного, ліпідного та пуринового обміну, інсуліноглюкозний гомеостаз) [14–16]. Вплив препаратів першого ряду на рівні лептинемії вивчений мало [17, 18].

Метою даного дослідження було вивчення особливостей гемодинамічного профілю, структурних характеристик ЛШ, напрямку ремоделювання серця та судин, змін метаболічних показників у осіб на ЕАГ з наявністю або відсутністю ІР у динаміці моно- та комбінованого антигіпертензивного лікування.

Матеріал і методи. В умовах спеціалізованого відділення гіпертензій та захворювань нирок Інституту терапії обстежено 64 хворих на ЕАГ. Із них 44 особи з наявністю ІР мали м'яку та помірну форму захворювання. Групу співставлення склали 20 хворих на ЕАГ без проявів ІР. З обстеження були виключені хворі на цукровий діабет. Контрольну групу становили 15 практично здорових осіб. Середній вік в групі хворих на ЕАГ з ІР становив (49 ± 6) років, в групі без ІР – (44 ± 5) років і контролю – (43 ± 8) років. В групі з ІР було 30 чоловіків і 14 жінок, в групі співставлення – 9 та 11, контролю – 7 та 8 відповідно. Тривалість гіпертензії серед осіб з ІР складала $(7,7 \pm 0,7)$ років, без ІР – $(7,9 \pm 0,9)$ років.

Серед обстежених хворих на ЕАГ з ІР ішемічна хвороба серця зареєстрована у 30 (67,4 %), стабільна стенокардія напруги II ФК – у 19 (40 %), 29 осіб (64,4 %) мали ознаки серцевої недостатності (СН) I–IIA ст. Серед хворих на ЕАГ без ІР ішемічну хворобу серця діагностовано у 9 хворих (56 %), стабільну стенокардію напруги II ФК – у 6 пацієнтів (38 %), СН I–IIA ст. – у 9 (56 %). Порушення ритму та провідності спостерігалося у 38 % хворих на ЕАГ з ІР і у 27 % без ІР.

Хворим проводили загальноприйняте клінічне обстеження, спеціальні антропометричні виміри, оцінювали ступінь ожиріння за індексом маси тіла (ІМТ). Параметри внутрішньосерцевої гемодинаміки та структурно-

функціональний стан міокарда оцінювали ехокардіографічним методом за стандартною методикою на апараті «Aloka SSD 280 LS» (Японія) [19]. ММЛШ, виразність гіпертрофії, тип ремоделювання ЛШ та індекс ММЛШ розраховували за загальноприйнятими критеріями [20].

Вимірювання комплексу інтима-медіа (КІМ) і визначення параметрів трансмітрального кровотоку – максимальної швидкості кровотоку у фазу швидкого наповнення ЛШ (Е), передсердної систоли (А) та їх співвідношення (Е/А) проводили доплерокардіографічно на апараті Logic-5 «General Electric» (США).

Добове моніторування артеріального тиску (АТ) проводили з використанням системи АВМР Meditech (Угорщина) з якісною та кількісною обробкою отриманих даних. Виділяли хворих з нормальним зниженням АТ вночі (добовий індекс (ДІ) від 10 до 20 %) – тип «dipper», з недостатнім зниженням АТ вночі (ДІ від 0 до 10 %) – тип «non-dipper», зі стійким підвищенням АТ вночі (ДІ < 0 %, тобто з негативними значеннями) – тип «night-peakers» і з надмірним зниженням АТ у нічні години (ДІ > 20 %) – тип «over-dipper». Типи «non-dipper» і «night-peakers» оцінювались як нічна гіпертензія. При співвідношенні ДІ систолічного АТ (САТ) до ДІ діастолічного АТ (ДАТ) менш ніж 0,7 реєстрували край несприятливий диспропорційний профіль АТ [21].

Вміст загального холестерину (ЗХС) і тригліцеридів у сироватці крові визначали ферментативним методом на апараті «Huma-reader» (США). Вміст ХС ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) досліджували тим же методом після преципітації інших класів ліпопротеїнів. Глюкозу крові (зразки венозної крові) натще і в умовах перорального глюкозотолерантного тесту визначали фотометричним методом на апараті «Humalyzer» (США). Рівні інсуліну та лептину вимірювали за допомогою імуноферментних наборів ELISA фірми DRG (США). Коефіцієнти ІР розраховували за допомогою алгоритму НОМА (Homeostatic Model Assessment) [22].

Вивчали ефективність використання у хворих на ЕАГ препаратів першого ряду, таких як інгібітор ангіотензинперетворюючого ферменту (ІАПФ) – периндоприл (препарат «Престаріум» фірми «Servier», Франція) в добовій дозі 8 мг в комбінації з тiazидоподібним діуретиком з вазодилатуючими властивостями – індапамідом (препарат «Арифонретард» фірми «Servier», Франція) в добовій дозі 1,5 мг та бета-адреноблокатором з НО-вивільнюючими здібностями – небівололом (препарат «Небілет» фірми «Berlin-Chemie»,

Німеччина) в добовій дозі 10 мг в якості монотерапії. Препарати призначали 1 раз на добу вранці протягом 12 тижнів. За цільові рівні АТ вважали нижчі ніж 140 та 90 мм рт. ст.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Серед пацієнтів переважали хворі з ожирінням І ст. – 46,7 %, ожиріння ІІ ст. спостерігалось у 22,3 %, а надлишкова маса тіла (НМТ) – у 31,0 % пацієнтів. Найбільша частота ІР (98,5 %) спостерігалась при ожирінні ІІ ст., при ожирінні І ст. частота ІР складала 71,6 %, при відсутності ожиріння у хворих на ЕАГ ІР реєструвалась у 53,4 % пацієнтів. За індексом НОМА, який є критерієм ІР, хворі на ЕАГ розподілилися на осіб з ІР < 3,0 = 24 та хворих з ІР > 3,0 = 37 відповідно. Хворі з надлишковою масою тіла (НМТ) і ожирінням мали вірогідно вищий НОМА-ІР (6,1±0,5), ніж усі хворі на ЕАГ (4,4±0,3). У них же частіше зустрічалась концентрична гіпертрофія ЛШ (47 % проти 31 % у хворих на ЕАГ) і більша ММЛШ: (279±21) г проти (225±19) г. Особи зі значною тривалістю захворювання (> 10 років) мали вірогідно вищий НОМА-ІР (4,8±0,2), ніж особи з гіпертонічним стажем (< 10 років) – (3,1±0,1; p<0,05), і більшу ММЛШ: (231±23) та (205±18) г, p<0,05. Аналогічна ситуація спостерігалась в залежності від форми ЕАГ: при м'якій – НОМА ІР – (3,2±0,2) ум. од., при помірній – (4,7±0,2) ум. од. (p<0,05), при цьому ММЛШ становила (208±16) та (229±26) г відповідно (p<0,05).

При аналізі вихідного стану загальноклінічних показників гемодинаміки у хворих з групи ЕАГ та ЕАГ з проявами ІР вірогідних розбіжностей в показниках САТ і ДАТ не встановлено: у хворих на ЕАГ – (175±4) та (95±9) мм рт. ст., в групі з ІР – (169±9) та (99±5) мм рт. ст. відповідно. Однак хворі на ЕАГ з ІР характеризувалися значно вищою ЧСС – (89±4) проти (76±3) с⁻¹ у хворих на ЕАГ (p<0,05), що слід пов'язувати з активацією ренін-ангіотензинової і симпатoadренолової систем, приєднанням гіперінсулінемії.

При аналізі типів гемодинаміки у хворих на ЕАГ було виявлено гіперкінетичний тип кровообігу у 51 %, еукінетичний тип зустрічався у 37 %, 12 % хворих мали гіпокінетичний тип. У 53 % пацієнтів на ЕАГ з ІР домінував гіпокінетичний тип, еукінетичний тип гемодинаміки був зареєстрований у 41 % хворих на ЕАГ з ІР.

В залежності від напрямку морфофункціональної перебудови серця хворі розподілилися на осіб з концентричною гіпертрофією (44,4 %), ексцентричною гіпертрофією (37,1 %) і нормальною геометрією серця

(18,5 %). Хворі з концентричною гіпертрофією мали вірогідно вищі ММЛШ – (275±16) г, НОМА-IR – 6,2±0,7, ніж особи з ексцентричною гіпертрофією – (234±12) г і 4,0±0,5 і нормальною геометрією серця – (175±9) г і 3,6±0,4 відповідно (p<0,05). Аналогічні зміни спостерігалися і відносно рівней лептину і інсуліну: (26,1±3,7) нг/мл та (19,3±1,8) мкМО/мл відповідно проти (10,9±1,9) нг/мл та (15,8±1,3) мкМО/мл у хворих з ексцентричною гіпертрофією та (9,6±1,1) нг/мл і (13,9±0,9) мкМО/мл у хворих з нормальною геометрією серця (p<0,05).

За даними ультразвукового дослідження, у хворих на ЕАГ з ІР були достовірно більші значення товщини задньої стінки лівого шлуночка (ТЗСЛШ) на 21,6 % (p<0,01), міжшлуночкової перетинки (ТМШП) на 26,7 % (p<0,01) та діаметра лівого передсердя на 12,1 % (p<0,05) у порівнянні з групою хворих на ЕАГ без ІР. Хворі на ЕАГ і ожиріння мали вірогідно більші кінцево-сistolічний та кінцево-діастолічний розміри (КСР, КДР) у порівнянні з групою хворих на ЕАГ (p<0,05). Фракція викиду (ФВ), яка характеризує насосну функцію міокарда, у хворих зі сполученням ЕАГ та ІР була вірогідно нижчою, ніж у хворих без ІР (p<0,05).

За даними добового моніторування АТ, у обстежених хворих на ЕАГ з ІР виявлені несприятливі типи добового профілю АТ: «dipper» – у 31 %, «non-dipper» – у 47 %, «night-reakers» – у 14 %, «over-dipper» – у 8 % хворих. У 45 % хворих на ЕАГ з ІР, крім зазначеного, реєструвався вкрай несприятливий диспропорційний профіль.

Аналіз результатів добового моніторування АТ у хворих на ЕАГ з ІР виявив поєднання низки несприятливих показників добового профілю АТ у вигляді високого САТ і ДАТ протягом доби, порушень добового ритму АТ з відсутністю належного зниження вночі («non-dipper»), збільшеної варіабельності САТ і ДАТ, більш високих показників навантаження тиском – індекси часу (ІЧ), високої швидкості ранкового приросту АТ, що дозволяє віднести таких хворих до групи підвищеного ризику розвитку серцево-судинних ускладнень.

При дослідженні трансмітрального кровотоку у хворих на ЕАГ з ІР встановлено ранне та більш виразне порушення діастолічної функції ЛШ: показник відношення Е/А в групі хворих на ЕАГ без ІР склав 1,18±0,09, в групі осіб на ЕАГ з ІР – 0,89±0,07 (p<0,01).

Потовщення КІМ у осіб, хворих на ЕАГ з ІР, становило (0,870±0,038) мм проти (0,770±0,031) мм у осіб з ЕАГ без ІР і відмічалось в 34,4 % випадків, тобто у кожного третього хворого, та мало прямий кореляцій-

ний зв'язок з рівнем ХС ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) ($r=+0,36$; p<0,05).

При аналізі вихідного стану ліпідного обміну встановлено, що у 84,9 % хворих на ЕАГ з ІР поєднувалися гіпертригліцеридемія, низький рівень ХС ЛПВЩ і підвищений рівень ХС ЛПНЩ. У той же час 12,7 % хворих на ЕАГ з ІР мали нормальний рівень ХС ЛПВЩ, 8,7 % – високий рівень цього показника, а 29,8 % хворих мали ознаки гіперхолестеринемії. Отримані дані свідчать, що хворі на ЕАГ з ІР є гетерогенною групою та мають поліморфні порушення ліпідного спектра.

Виявлено, що у хворих на ЕАГ з ознаками ІР (індекс НОМА >3) рівень лептину був статистично достовірно вищий – (15,57±1,24) нг/мл, ніж у хворих, що мали нормальну чутливість тканин до інсуліну (індекс НОМА <3) – (5,06±1,83) нг/мл (p<0,001). При аналізі вмісту лептину у хворих на ЕАГ з наявністю ІР в залежності від ІМТ виявлено, що він був достовірно вищий – (15,59±1,27) нг/мл, ніж у хворих, що мали НМТ – (7,90±2,41) нг/мл (p<0,01).

Отже, хворі на ЕАГ з ІР характеризуються коротким гіпертензивним анамнезом, більш високими цифрами САТ, ДАТ і ЧСС, переважно гіпокінетичною циркуляцією, ранньою несприятливою морфофункціональною перебудовою серця і судин, «нічною» гіпертензією поліморфними порушеннями ліпідного спектра, вірогідно вищими рівнями лептину, ніж хворі на ЕАГ без ІР.

Курсове призначення комбінації периндоприлу та індапаміду дозволило досягти цільових рівнів АТ у 73 % пацієнтів на ЕАГ з ІР проти 79 % без ІР, а монотерапія небівололом – у 67 та 71 % хворих відповідно.

У динаміці комбінованої терапії периндоприлом з індапамідом і монотерапії кардіоселективним бета-адреноблокатором небівололом у хворих відзначалося поліпшення самопочуття, зменшилися скарги на головний біль, запаморочення, серцебиття, загальну слабкість, підвищену стомлюваність, дискомфорт і біль в ділянці серця. Препарати добре переносилися хворими. Тільки у двох хворих був відмічений сухий кашель при призначенні периндоприлу, та три хворих відмічали головний біль при призначенні небівололу. Але це не вимагало ні відміни препарату, ні зменшення його дози.

Після 12-тижневої терапії периндоприлом з індапамідом у хворих на ЕАГ з ІР зареєстровано зниження САТ від (168,9±4,6) до (138,1±2,4) мм рт. ст. і ДАТ від (99±5) до (82±7) мм рт. ст. (p<0,05). У цієї категорії хворих на фоні призначення небівололу, крім вірогідного зниження САТ і ДАТ, спостерігалось й суттєве зниження ЧСС – з (89±

4) до $(78 \pm 3) \text{ с}^{-1}$ ($p < 0,05$). У хворих на ЕАГ без ІР зрушення САТ, ДАТ і ЧСС також мали вірогідний характер ($p < 0,05$).

Дані добового моніторування АТ свідчать, що на фоні лікування небівололом вірогідно збільшилися перепади «день-ніч», знизилася середньодобова варіабельність САТ і варіабельність САТ у денний час, що пояснюється впливом препарату на активність симпатико-адреналової та ренінової систем, які беруть участь у формуванні варіабельності.

Небіволол зменшував відсоток хворих на ЕАГ з ІР з диспропорційним добовим профілем АТ і також значно знижував «навантаження гіпертензивними величинами» в ранкові години доби, що асоціювалось з відновленням нормального добового ритму функціонування симпатичної нервової системи у хворих на ЕАГ, у тому числі з проявами ІР.

Лікування периндоприлом з індапамідом призвело до статистично значущого зменшення показників «навантаження тиском»

у хворих на ЕАГ із ІР – ІЧ САТ (24) зменшився на $(32,8 \pm 11,1) \%$ ($p < 0,01$), ІЧ ДАТ (24) – на $(25,2 \pm 9,4) \%$ ($p < 0,001$). На фоні лікування периндоприлом з індапамідом швидкість ранкового підйому САТ знизилася з $(10,3 \pm 0,8)$ до $(7,8 \pm 1,1)$ мм рт. ст./год ($p < 0,05$), ДАТ – з $(6,7 \pm 0,4)$ до $(4,6 \pm 0,8)$ мм рт. ст./год ($p < 0,05$), спостерігалось зменшення відсотка хворих з нічною гіпертензією та диспропорційним добовим профілем АТ.

В динаміці 12-тижневого антигіпертензивного лікування як периндоприлом з індапамідом, так і небівололом встановлено поліпшення морфофункціональних показників серця ($p > 0,05$). Спостерігалось вірогідне підвищення ФВ у хворих на ЕАГ з ІР, які отримували комбінацію периндоприлу з індапамідом. При призначенні бета-адреноблокатора з NO-вивільнюючими здібностями – небівололу – спостерігалось зменшення КСР і КДР ЛШ у хворих на ЕАГ з ІР ($p > 0,05$), табл. 1.

Таблиця 1. Показники внутрішньосерцевої гемодинаміки у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію (ЕАГ) з наявністю та відсутністю інсулінорезистентності (ІР) до та після 12-тижневої антигіпертензивної терапії ($M \pm m$)

| Показник | Периндоприл з індапамідом (n=33) | | Небіволол (n=29) | |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------|
| | хворі на ЕАГ з ІР (n=24) | хворі на ЕАГ (n=10) | хворі на ЕАГ з ІР (n=20) | хворі на ЕАГ (n=10) |
| КСР ЛШ, см | | | | |
| до | 3,72±0,06 | 3,58±0,08 | 3,65±0,07 | 3,55±0,06 |
| після | 3,61±0,05 | 3,49±0,04 | 3,59±0,08 | 3,47±0,05 |
| КДР ЛШ, см | | | | |
| до | 5,69±0,04 | 5,47±0,06 | 5,64±0,05 | 5,49±0,07 |
| після | 5,60±0,05 | 5,38±0,07 | 5,57±0,06 | 5,41±0,08 |
| ЛШ, см | | | | |
| до | 3,89±0,08 | 3,42±0,04* | 3,85±0,09 | 3,44±0,05* |
| після | 3,72±0,09 | 3,36±0,06 | 3,71±0,07 | 3,38±0,08 |
| Фракція викиду, % | | | | |
| до | 53,0±0,5 | 63,0±0,8* | 55,0±0,6 | 62,0±0,9* |
| після | 62,0±0,8 [#] | 66,0±0,8 [#] | 61,0±0,7 [#] | 65,0±0,6 |
| ТЗСЛШ, см | | | | |
| до | 1,26±0,07 | 1,08±0,04* | 1,24±0,08 | 1,11±0,05* |
| після | 1,21±0,09 | 1,05±0,07 | 1,23±0,09 | 1,08±0,06 |
| ТМШП, см | | | | |
| до | 1,21±0,03 | 1,03±0,02* | 1,23±0,04 | 1,06±0,03* |
| після | 1,16±0,05 | 1,00±0,06 | 1,18±0,08 | 1,01±0,07 |
| ММЛШ, г | | | | |
| до | 229±15 | 209±19 | 225±17 | 212±16 |
| після | 218±19 | 199±21 | 219±21 | 201±18 |
| ІММЛШ, г/м ² | | | | |
| до | 128±5 | 116±7 | 126±6 | 117±8 |
| після | 122±7 | 112±9 | 121±9 | 113±7 |

Примітка. Тут і в табл. 2. $p < 0,05$; * достовірність різниці показників у хворих на ЕАГ з наявністю або відсутністю ІР; [#] достовірність різниці показників до і після лікування.

Отримані дані відображують поліпшення скорочувальної та насосної функції серця у хворих в динаміці комбінованої антигіпертензивної терапії.

Антигіпертензивна терапія периндоприлом з індапамідом сприяла поліпшенню трансмітрального кровотоку у хворих на ЕАГ з ІР внаслідок підвищення співвідношення Е/А з $0,89 \pm 0,07$ до $1,02 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), терапія небівололом також не погіршувала стан діастолічної функції ЛШ – $0,91 \pm 0,06$ та $0,99 \pm 0,08$ ($p > 0,05$).

Впродовж 12 тижнів вірогідних змін в показниках товщини КІМ не спостерігалось: ($0,870 \pm 0,038$) та ($0,810 \pm 0,032$) мм при терапії периндоприлом з індапамідом ($p > 0,05$) і ($0,880 \pm 0,027$) та ($0,820 \pm 0,025$) мм при призначенні небівололу.

Відсутність змін показників трансмітрального кровообігу, діастолічної функції ЛШ та товщини КІМ, незалежно від режимів антигіпертензивної терапії, пов'язана з коротким терміном спостереження за хворими.

Згідно з отриманими даними, 12-тижнева терапія бета-адреноблокатором поліпшувала рівні ЗХС ($p < 0,05$), але вірогідно не впливала на інші показники ліпідного спектра ($p > 0,05$). Призначення комбінації ІАПФ з діуретиком мало антиатерогенну спрямованість: знижувався рівень ЗХС на 17,6 %, ХС ЛПНЩ на 19,5 % і підвищувався рівень ХС

ЛНВЩ на 11,8 % у хворих на ЕАГ з ІР, що суттєво не відрізнялося від показників групи хворих на ЕАГ без ІР ($p < 0,05$), де ці цифри дорівнювали відповідно 16,8; 19,6 і 11,2 % ($p < 0,05$).

Зміни показників ліпідного спектра в динаміці двох режимів антигіпертензивної терапії наведені в табл. 2.

У хворих на ЕАГ з ІР, які мали більш поглиблений дисбаланс між про- і антиатерогенними фракціями ліпопротеїдів, комбінована антигіпертензивна терапія сприяла більш виразній корекції порушень ліпідного обміну.

Вірогідної динаміки рівней лептину після курсу двох режимів антигіпертензивної терапії поза залежності від параметрів ІР встановлено не було. Після 12-тижневої антигіпертензивної терапії периндоприлом з індапамідом рівні лептину становили ($21,36 \pm 3,65$) нг/мл до лікування проти ($19,06 \pm 2,72$) нг/мл після лікування ($p > 0,05$), аналогічні зміни спостерігалися при призначенні небівололу – ($20,06 \pm 2,64$) нг/мл проти ($18,75 \pm 1,78$) нг/мл ($p > 0,05$). Отримані дані свідчать, що 12-тижнева терапія переважно позитивно впливає на клініко-гемодинамічні параметри хворих, а гальмування ураження судинної стінки та поліпшення «лептинової ланки» варіанта ЕАГ, що асоціюється з метаболічними порушеннями, слід чекати

Таблиця 2. Показники ліпідного обміну у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію (ЕАГ) з наявністю та відсутністю інсулінорезистентності (ІР) до та після 12-тижневої антигіпертензивної терапії ($M \pm m$)

| Показник | Периндоприл з індапамідом (n=34) | | Небіволол (n=30) | |
|-------------------|----------------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| | хворі на ЕАГ (n=10) | хворі на ЕАГ з ІР (n=24) | хворі на ЕАГ (n=10) | хворі на ЕАГ з ІР (n=20) |
| ЗХС, ммоль/л | | | | |
| до | $5,33 \pm 0,56$ | $6,04 \pm 0,72^*$ | $5,46 \pm 0,62$ | $6,09 \pm 0,68^*$ |
| після | $5,14 \pm 0,38$ | $5,46 \pm 0,65^{\#}$ | $5,28 \pm 0,46$ | $5,65 \pm 0,71^{\#}$ |
| ХС ЛПВЩ, ммоль/л | | | | |
| до | $1,25 \pm 0,16$ | $0,91 \pm 0,19^*$ | $1,23 \pm 0,18$ | $0,98 \pm 0,18^*$ |
| після | $1,38 \pm 0,29^{\#}$ | $1,18 \pm 0,22^{\#}$ | $1,35 \pm 0,22$ | $1,16 \pm 0,25$ |
| ХС ЛПНЩ, ммоль/л | | | | |
| до | $2,81 \pm 0,22$ | $3,47 \pm 0,25^*$ | $2,75 \pm 0,28$ | $3,38 \pm 0,27^*$ |
| після | $2,55 \pm 0,31^{\#}$ | $2,63 \pm 0,34^{\#}$ | $2,49 \pm 0,34$ | $2,71 \pm 0,32$ |
| ХС ЛПДНЩ, ммоль/л | | | | |
| до | $0,69 \pm 0,21$ | $1,04 \pm 0,27^*$ | $0,65 \pm 0,23$ | $1,02 \pm 0,26^*$ |
| після | $0,55 \pm 0,28$ | $0,72 \pm 0,36^{\#}$ | $0,57 \pm 0,31$ | $0,78 \pm 0,34$ |
| ТГ, ммоль/л | | | | |
| до | $1,49 \pm 0,11$ | $2,25 \pm 0,18^*$ | $1,51 \pm 0,12$ | $2,28 \pm 0,19^*$ |
| після | $1,31 \pm 0,18^{\#}$ | $1,69 \pm 0,25^{\#}$ | $1,36 \pm 0,16^*$ | $1,82 \pm 0,24$ |
| НОМА-ІР | | | | |
| до | $4,1 \pm 0,2$ | $5,3 \pm 0,4^*$ | $4,2 \pm 0,3$ | $5,4 \pm 0,2^*$ |
| після | $2,9 \pm 0,3^{\#}$ | $3,0 \pm 0,2^{\#}$ | $3,3 \pm 0,4$ | $3,4 \pm 0,3$ |

впродовж більш тривалих термінів антигіпертензивного лікування (6–12 місяців).

Висновки

1. Хворі на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю характеризуються високою стривальністю гіпертрофії ЛШ у порівнянні з хворими на есенціальну артеріальну гіпертензію без інсулінорезистентності, негативними зрушеннями добового профілю артеріального тиску, раннім remodelюванням серця та судин, виникненням ознак діастолічної дисфункції, значним дисбалансом ліпідного гомеостазу.

2. Курсове призначення комбінації периндоприлу та індапаміду в порівнянні з монотерапією небівололом дозволяло досягти цільових рівнів артеріального тиску у 73 та 67 % хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю проти 79 і 71 % без есенціальної артеріальної гіпертензії. Обидва режими терапії вірогідно знижували артеріальний тиск і поліпшували морфофункціональні показники міокарда хворих на артеріальну гіпертензію.

3. Виявлені особливості антигіпертензивної дії монотерапії (небівололом) та ком-

бінованої терапії (периндоприл з індапамідом) на показники добового профілю артеріального тиску: небіволол знижує середньодобову варіабельність САТ і варіабельність САТ у денний час, не впливаючи на цей показник вночі; при лікуванні периндоприлом з індапамідом зафіксовані значно менша асиметрія нічного й денного ефектів, як при лікуванні небівололом, зменшення відсотка хворих з нічною гіпертензією.

4. Встановлено, що комбінована 12-тижнева терапія периндоприлом з індапамідом поліпшувала чутливість тканин до інсуліну, нормалізуючи при цьому дисбаланс про- і антиатерогенних фракцій ліпопротеїдів (знижувала рівні ЗХС, ХС ЛННЩ та підвищувала ХС ЛПВЩ), що робить її більш доцільною у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю та вираженими порушеннями ліпідного метаболізму.

5. Монотерапія небівололом у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію з інсулінорезистентністю достовірно не впливала на чутливість тканин до інсуліну, знижувала рівень ЗХС крові, достовірно не змінюючи рівень ХС ЛПНЩ і ХС ЛПВЩ.

Література

1. Балкаров И.А. Ожирение и артериальная гипертензия: лекция. Врач 2003; 9: 22–26.
2. Братусь В.В., Шумаков В.А., Талаева Т.В. Метаболический синдром: природа и механизмы развития (обзор литературы). Журн. АМН України 2004; 4: 646–670.
3. Мітченко О.І. Метаболічний синдром та дисліпідемії. Нова медицина 2003; 4: 42–44.
4. Мітченко О.І. Патогенетичні основи метаболічного синдрому. Нова медицина 2004; 3: 20–24.
5. Петрова Т.В., Стрюк Р.И., Бобровицкий И.П. и др. О взаимосвязи избыточной массы тела, артериальной гипертонии, гиперинсулинемии и нарушения толерантности к глюкозе. Кардиология 2001; 2: 30–33.
6. Соколова Л.К. Метаболический синдром: клиника, критерии диагностики, принципы терапии. Журн. практ. лікаря 2005; 1: 44–47.
7. Талаева Т.В., Шумаков В.А., Братусь В.В. Инсулинорезистентность и метаболический синдром: взаимосвязь и роль в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца. Журн. АМН України 2004; 1: 16–34.
8. Grundy S.M., Hansen B., Smith S.C. et al. Clinical management of metabolic syndrome. Circulation 2004; 109, 4: 551–556.
9. Reaven G.M., Lithell H., Landsberg L. Mechanisms of disease: hypertension and associated metabolic abnormalities. The role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. New Engl. J. Med. 1996; 334: 374–381.
10. Choi H., Park J.B. No association between insulin resistance and arterial stiffness and hypertrophy in hypertensive subjects with metabolic syndrome. J. Hypertension 2005; June 23, Suppl. 2: 313.
11. Аничков Д.А., Шостак Н.А. Гипертрофия левого желудочка у женщин с метаболическим синдромом: взаимосвязь с показателями суточного мониторинга артериального давления и уровнем инсулинемии. Кардиология 2004; 6: 49–51.
12. Антоненко Л.П. Систолічна і діастолічна функція міокарда та особливості порушення ендотеліальної функції судин у пацієнтів з метаболічним синдромом. Укр. ревматол. журн. 2004; 3: 61–64.
13. Мясников Г.В. Структурно-геометрическое и функциональное состояние левого желудочка сердца у больных с метаболическим синдромом. Врач. дело 2005; 3: 33–38.
14. Мамедов М.Н. Алгоритмы диагностики и лечения метаболического синдрома в клинико-амбулаторных условиях: Обзор. Кардиология 2005; 5: 92–100.
15. Мамедов М.Н. Досвід комбінованої антигіпертензивної терапії у хворих на метаболічний синдром. Рос. кардиол. журн. 2006; 4: 69–73.
16. Сіренко Ю.М., Рековец О.Л., Савицький С.Ю. Вплив антигіпертензивних препаратів різних класів на стан інсулінорезистентності у пацієнтів на артеріальну гіпертензію у сполученні з метаболічним синдромом. Укр. кардиол. журн. 2006; 4: 39–45.
17. Бритов А.Н., Молчанова О.В., Быстрова М.М. Артериальная гипертония у больных с ожирением: роль лептина: Обзор. Кардиология 2002; 9: 69–71.

18. Латогуз И.К., Коваль Д.С. Активность лептина у больных гипертонической болезнью в сочетании с метаболическими нарушениями. *Врач. практика* 2003; 4: 25–27.
19. Мухарлямов Н.М., Беленков Ю.И. Ультразвуковая диагностика в кардиологии. М.: Медицина, 1981. 157 с.
20. Свіщенко Є.П. Сучасна діагностика та лікування гіпертрофії лівого шлуночка у хворих на артеріальну гіпертензію. Метод. рекомендації. К., 2002. 24 с.
21. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Хирманов В.Н. Артериальное давление в исследовательской и клинической практике. М., 2004. 506 с.
22. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28, 4: 412–419.

КЛИНИКО-ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В ДИНАМИКЕ МОНО- И КОМБИНИРОВАННОЙ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ

Д.К. Милославский, И.А. Снегурская, Е.Н. Щенявская

В ходе многофакторного изучения различных показателей у больных эссенциальной артериальной гипертонией с инсулинорезистентностью установлены особенности влияния моно- и комбинированной терапии на уровни артериального давления, параметры суточного профиля, морфофункциональные характеристики сердца, липидно-углеводный гомеостаз, уровни лептина. Выявлены значительные преимущества комбинированной терапии по влиянию на патогенетические факторы у больных эссенциальной артериальной гипертонией с инсулинорезистентностью и метаболическая нейтральность монотерапии бета-адреноблокатором.

Ключевые слова: эссенциальная артериальная гипертония, инсулинорезистентность, липидно-углеводный гомеостаз, метаболическая нейтральность.

CLINICAL, HAEMODYNAMIC AND METABOLIC PARAMETERS OF PATIENTS WITH ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION WITH INSULIN RESISTANCE IN THE DYNAMICS OF MONO- AND COMBINED ANTIHYPERTENSIVE THERAPY

D.K. Miloslavsky, I.A. Snegurska, E.N. Schenyavska

In period of the multifactor study of parameters of patients with essential arterial hypertension with insulin resistance, the features of mono- and combined therapy influence on the blood pressure levels, parameters of blood pressure daily structure, morfofunctional descriptions of heart, lipid-carbohydrate homeostasis, leptin levels are observed. Considerable advantages of the combined therapy influence on pathogenetic factors of patients with essential arterial hypertension with insulin resistance and metabolic neutrality of monotherapy of beta-adrenobloker are found.

Key words: essential arterial hypertension, insulin resistance, lipid-carbohydrate homeostasis, metabolic neutrality.

Поступила 16.11.07

РОЛЬ АВТОНОМНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

А.В. Бильченко

Харьковская медицинская академия последипломного образования

На основе оценки вариабельности сердечного ритма по стандартной методике изучали автономную нервную регуляцию у 313 больных гипертонической болезнью (ГБ) I–III стадии. Выявлена взаимосвязь гипертрофии левого желудочка с показателями вариабельности сердечного ритма у мужчин при отсутствии таковой у женщин. Наиболее значимую связь с показателями автономной нервной регуляции имела систолическая функция левого желудочка. У больных ГБ с низкой фракцией выброса выявлены низкие величины как абсолютной мощности спектра, так и всех спектральных компонент при более низком отношении низкочастотной компоненты к высокочастотной. Также выявлена взаимосвязь автономной нервной регуляции с диастолической функцией левого желудочка.

Ключевые слова: *сердечно-сосудистые заболевания, автономная нервная система, вариабельность сердечного ритма, систолическая функция левого желудочка, диастолическая функция левого желудочка, гипертрофия левого желудочка.*

Важную роль в прогрессировании гипертонической болезни играет ремоделирование сердца. В результате перегрузки давлением и объемом при артериальной гипертензии происходят гипертрофия левого желудочка, дилатация и нарушение геометрии левого желудочка [1–3]. В свою очередь, в процессах ремоделирования левого желудочка значительную роль играет автономная нервная система [4]. Ремоделирование левого желудочка приводит к нарушению электрической стабильности миокарда, что отражается на изменении индексов вариабельности сердечного ритма [5, 6]. Однако исследования взаимосвязи ремоделирования левого желудочка и индексов вариабельности сердечного ритма показали противоречивые результаты, как подтверждающие [7, 8], так и не подтверждающие [9] связь этих изменений с дисфункцией автономной регуляции у больных гипертонической болезнью.

Целью настоящего исследования явилась оценка взаимосвязи изменений показателей вариабельности сердечного ритма и ремоделирования левого желудочка у больных гипертонической болезнью (ГБ).

Материал и методы. Обследовано 313 больных ГБ I–III стадий в возрасте от 20 до 82 лет, средний возраст (52 ± 11) лет. Из них 161 мужчина, средний возраст (50 ± 12) лет, и 152 женщины, средний возраст (54 ± 10) лет. Исследование показателей вариабельности сердечного ритма (BCP) проводили с помощью компьютерного электрокардиографа «Cardio-

lab 2000» по стандартной методике [10]. Для оценки вклада периодических составляющих использовали пространственно-спектральные методы: быстрого преобразования Фурье, авторегрессионный анализ, общую мощность вариационного спектра (TP), мощность спектра в области очень низких (VLF), низких (LF) и высоких частот (HF); соотношение мощностей низко- и высокочастотной областей спектра (LF/HF), относительный вклад очень низких (VLF_{norm}), низких (LF_{norm}) и высоких (HF_{norm}) частот в спектр BCP, стандартную девиацию RR-интервалов (SdRR), процент смежных интервалов RR, разница продолжительности которых не превышает 50 мс (pNN50), треугольный индекс (HRVTi). Ремоделирование левого желудочка определяли с помощью УЗИ сердца на основе стандартных методик. Гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ) диагностировали при индексе массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) больше 125 г/м^2 у мужчин и меньше 110 г/м^2 у женщин. Систолическую функцию ЛЖ оценивали по величине фракции выброса (ФВ), диастолическую – по соотношению амплитуды пика пассивного наполнения к амплитуде пика систолы предсердий (Е/А) на основании доплер-эхокардиограммы митрального кровотока. Полученные данные статистически обработали. Для оценки взаимосвязи показателей использовали корреляционный и многофакторный регрессионный анализ.

Результаты. Многофакторный регрессионный анализ не показал взаимосвязи ин-

декса ВСР с ИММЛЖ (табл. 1). Наиболее значимую связь с показателями автономной регуляции, по данным многофакторного регрессионного анализа, имела систолическая функция ЛЖ, что подтверждается также данными корреляционного анализа.

Анализ групп больных с ГЛЖ и без позволил выявить взаимосвязь ГЛЖ с показа-

телями ВСР у мужчин при отсутствии таковой у женщин. У больных ГБ мужчин с ГЛЖ были ниже общая мощность спектра и величины спектральных компонент (табл. 2).

У мужчин с ГЛЖ как абсолютная величина HF, так и относительный вклад HF-компоненты были ниже в 2,3 раза, чем у больных без ГЛЖ. Отношение LF/HF в положе-

Таблица 1. Взаимосвязь морфофункционального состояния левого желудочка со спектральными показателями вариабельности сердечного ритма у больных с гипертонической болезнью по данным многофакторного регрессионного анализа (n=313)

| Фактор | TP, мс ² | VLF, мс ² | VLF | LF, мс ² | LF | HF, мс ² | HF | LF/HF |
|--------|---------------------|----------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|---------|--------|
| ФВ | 0,116 | 0,138 | 0,139 | 0,059 | -0,074 | 0,028 | -0,164* | 0,121 |
| Е/А | 0,087 | 0,133 | 0,056 | -0,006 | -0,086 | 0,015 | 0,011 | -0,029 |
| ИММЛЖ | 0,050 | 0,089 | 0,099 | -0,004 | -0,065 | 0,002 | -0,060 | 0,063 |

* p<0,05.

Таблица 2. Спектральные показатели вариабельности сердечного ритма у больных гипертонической болезнью с гипертрофией левого желудочка и без нее в покое и при активном тилт-тесте (M±δ)

| Индекс массы миокарда, г/м ² | Положение | TP, мс ² | VLF, мс ² | LF, мс ² | HF, мс ² |
|---|-----------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| <i>Мужчины</i> | | | | | |
| < 125 (n=74) | Лежа | 1371±1560 | 723±984 | 390±469 | 246±431 |
| | Стоя | 1289±1578 | 678±645 | 400±623 | 206±590 |
| > 125 (n=87) | Лежа | 1031±997 | 626±623 | 276±303 | 121±183* |
| | Стоя | 693±503 | 401±320 | 214±207 | 66±100 [#] |
| <i>Женщины</i> | | | | | |
| < 110 (n=74) | Лежа | 994±927 | 556±630 | 226±185 | 173±236 |
| | Стоя | 768±681 | 461±443 | 168±157 | 118±212 |
| > 110 (n=78) | Лежа | 968±964 | 532±544 | 241±294 | 173±343 |
| | Стоя | 746±839 | 437±442 | 191±362 | 110±217 |

Продолжение таблицы

| Индекс массы миокарда, г/м ² | Положение | LF/HF | SdRR, мс | pNN50, мс | HRVTi мс |
|---|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|
| <i>Мужчины</i> | | | | | |
| < 125 (n=74) | Лежа | 3,07±2,18 | 39±25 | 15±24 | 6,58±4,17 |
| | Стоя | 4,62±3,65 | 33±18 | 10±19 | 5,93±3,51 |
| > 125 (n=87) | Лежа | 3,17±1,82 | 34±14 | 6±11 | 5,91±2,26 |
| | Стоя | 5,63±4,11 | 34±12 | 2±1 | 5,66±1,67 |
| <i>Женщины</i> | | | | | |
| < 110 (n=74) | Лежа | 2,19±1,57 | 29±10 | 7±8 | 5,49±5,07 |
| | Стоя | 3,64±3,36 | 33±15 | 2±2 | 5,75±2,84 |
| > 110 (n=78) | Лежа | 2,53±1,77 | 25±12 | 4±6 | 4,59±2,51 |
| | Стоя | 3,51±2,76 | 27±14 | 2±2 | 4,88±2,57 |

Примечание. * p<0,05; # p<0,01 (достоверность различий между группами больных с ГЛЖ и без ГЛЖ).

нии лежа было незначительно больше у мужчин с ГЛЖ по сравнению с больными без ГЛЖ.

ИММЛЖ коррелировал достоверно только с величиной общей мощности ВСР после ортостатической нагрузки ($r = +0,166$; $p = 0,04$). Диастолическая функция демонстрировала взаимосвязь с относительным вкладом VLF.

Анализ показал, что величина ФВ ЛЖ достоверно положительно коррелировала с абсолютной величиной VLF ($r = +0,157$; $p = 0,044$), LF ($r = +0,161$; $p = 0,040$) и отношением LF/HF в состоянии покоя ($r = +0,161$; $p = 0,039$). Аналогичная по силе, но недостоверная корреляционная связь была выявлена между ФВ ЛЖ и величиной общей мощности спектра ВСР ($r = +0,146$; $p = 0,062$). Высоко-частотная компонента ВСР практически не коррелировала с ФВ ($r = +0,056$; $p = 0,472$).

Следует отметить, что ГЛЖ взаимосвязана с дисфункцией автономной регуляции у мужчин, причем в основном с нарушением парасимпатического контроля. Такая взаимосвязь обусловлена, по-видимому, преобладанием относительной симпатикотонии у мужчин и парасимпатикотонии у женщин. Это предположение подтверждается тем, что повышение симпатической активности и

увеличение LF-компоненты было выявлено в большинстве исследований у больных ГЛЖ [5, 6].

Полученные нами данные свидетельствуют о взаимосвязи автономной регуляции с систолической функцией ЛЖ у больных ГЛЖ. Снижение показателей ВСР у больных с дисфункцией ЛЖ оказывается особенно выраженным при систолической дисфункции и свидетельствует об ослаблении влияния парасимпатической нервной системы [11], что косвенно подтверждается также исследованием [12]. Также ВСР взаимосвязана с диастолической дисфункцией ЛЖ [13].

Выводы

1. Нарушения автономной регуляции у больных с гипертонической болезнью взаимосвязаны с изменениями гемодинамики и процессами ремоделирования левого желудочка.

2. Ремоделирование левого желудочка коррелирует с автономной регуляцией только у мужчин, преимущественно за счет нарушения парасимпатического контроля.

3. Изменения в автономной регуляции связаны в большей степени с систолической и в меньшей степени с диастолической дисфункцией левого желудочка.

Литература

1. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії. Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії. К., 2004. 83 с.
2. Grandi A.M., Maresca A.M., Giudici E. et al. Metabolic syndrome and morphofunctional characteristics of the left ventricle in clinically hypertensive nondiabetic subjects. *Am. J. Hypertens.* 2006; 19 (2): 199–205.
3. Taylor H.A., Penman A.D., Han H. et al. Left ventricular architecture and survival in African-Americans free of coronary heart disease (from the Atherosclerosis Risk in Communities [ARIC] study). *Am. J. Cardiol.* 2007; 99 (10): 1413–20.
4. Signolet I.L., Bousquet P.P., Monassier L.J. Improvement of cardiac diastolic function by long-term centrally mediated sympathetic inhibition in one-kidney, one-clip hypertensive rabbits. *Am. J. Hypertens.* 2008; 21 (1): 54–60.
5. Tan H.W., Li L., Wang Z.H. et al. Impaired left ventricular systolic synchronicity in hypertensive patients with ventricular arrhythmias. *Hypertens. Res.* 2007; 30 (9): 759–766.
6. Shapiro B.P., Lam C.S., Patel J.B. et al. Acute and chronic ventricular-arterial coupling in systole and diastole: insights from an elderly hypertensive model. *Hypertension* 2007; 50 (3): 503–511.
7. Iskenderov B.G., Lohhina T.V., Shibaeva T.M. et al. Dynamics of electrophysiological parameters of the heart in hypertensive patients depending on a 24th profile of arterial pressure, left ventricular geometry and metabolic disorders. *Ter. Arkh.* 2006; 78 (9): 12–16.
8. Passino C., Magagna A., Conforti F. et al. Ventricular repolarization is prolonged in nondipper hypertensive patients: role of left ventricular hypertrophy and autonomic dysfunction. *J. Hypertens.* 2003; 21 (2): 445–451.
9. Akdeniz B., Guneri S., Badak O. et al. [Arrhythmia risk and noninvasive markers in hypertensive left ventricular hypertrophy]. *Anadolu Kardiyol. Derg.* 2002; 2 (2): 121–129; AXVII.
10. Heart rate variability. Standarts of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task force of the Europ. Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Europ. Heart J.* 1996; 17: 354–381.
11. Бобров В.А., Жаринов О.И., Волченко Г.В., Китупра О.Е. Эффекты блокатора β -адренергических рецепторов бисопролола у больных с тяжелой сердечной недостаточностью: переносимость, влияние на вегетативную регуляцию сердечного ритма и качество жизни. *Укр. терапев. журн.* 2001; 3, 2: 38–42.
12. Kearney M.T., Zaman A., Eckberg D.L. et al. Cardiac size, autonomic function, and 5-year follow-up of chronic heart failure patients with severe prolongation of ventricular activation. *J. Card. Fail.* 2003; 9 (2): 93–99.

13. Galetta F., Franzoni F., Prattichizzo F. et al. Heart rate variability and left ventricular diastolic function in anorexia nervosa. *J. Adolesc. Health.* 2003; 32 (6): 416–421.

РОЛЬ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ В РЕМОДЕЛЮВАННІ ЛІВОГО ШЛУНОЧКА У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ

О.В. Більченко

На підставі оцінки варіабельності серцевого ритму за стандартизованою методикою вивчали автономну нервову регуляцію у 313 хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ) I–III стадії. Виявлено взаємозв'язок гіпертрофії лівого шлуночка із показниками варіабельності серцевого ритму у чоловіків при відсутності такого в жінок. Найбільш значущий зв'язок з показниками автономної нервової регуляції мала систолічна функція лівого шлуночка. У хворих на ГХ з низькою фракцією викиду виявлені низькі величини як абсолютної потужності спектра, так і всіх спектральних компонент при більш низькому співвідношенні низькочастотної компоненти до високочастотної. Також виявлений взаємозв'язок автономної нервової регуляції з діастолічною функцією лівого шлуночка.

Ключові слова: *серцево-судинне захворювання, автономна нервова система, варіабельність серцевого ритму, систолічна функція лівого шлуночка, діастолічна функція лівого шлуночка, гіпертрофія лівого шлуночка.*

ROLE OF AUTHONOMIC REGULATION IN LEFT VENTRICULAR REMODELLING IN PATIENTS WITH HYPERTENSION

О.В. Bilchenko

313 patients with I–III stages of hypertension were included in study. Assessment of autonomic nerve system activity was done by measurement of heart rate variability on the base of rythmogramme according to standard methods. It was showed relation between LVH and HRV in men and absence of such relation in women. The systolic function has the most powerful relation with HRV according to regressive analyses. Decrease of HRV indexes: total power, spectral components and low relation LF/HF was observed in patients with decreased LV systolic function. Diastolic function of LV was related also with HRV. Decrease of LV diastolic function was associated with fall of total power and spectral components. Also abnormal reactions on tilt-test were found in patients with disturbed diastolic function.

Key words: *cardiovascular disease, autonomic nerve system, heart rate variability, systolic function of LV, diastolic function of LV, hypertrophy of left ventricular.*

Поступила 14.01.08

ПЕДІАТРІЯ

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

*В.Г. Чернуский, А.Д. Морозова**Харьковский национальный медицинский университет*

На достоверном практическом материале с применением системного анализа обработки полученных результатов выявлены особенности нарушений гуморального звена иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы у детей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, циркулирующие иммунные комплексы, система комплемента, реактивная гиперчувствительность.

Установление роли гуморального звена иммунитета в развитии и прогрессировании хронического воспаления в бронхолегочной системе при бронхиальной астме (БА) у детей имеет важное теоретическое и практическое значение [1–5].

Выявление иммунологической недостаточности или гиперактивности гуморальных звеньев иммунитета, а также возможного сочетания этих состояний при БА дает возможность уточнить патогенетические механизмы их развития и разработать методы целенаправленной терапии [6–8].

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей изменений гуморального звена иммунитета у детей, больных БА.

Материал и методы. Проведено комплексное клинико-иммунологическое обследование 228 детей в возрасте от 5 до 14 лет, больных БА, в периоде обострения. Из них с инфекционно-аллергической формой – 82 ребенка, смешанной – 70 и атопической – 76. Иммуноглобулины классов М, А, G определяли методом реакции иммунодиффузии по Манчини (1965); общий сывороточный IgE – с помощью иммуноферментной тест-системы (test-system determinational IgE hominis totum immunofermentale); титр комплемента в сыворотке крови – по Л.С. Резниковой (1967), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) – по Haskowa et al. (1978) спектрофотометрическим способом селективной преципитации полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000). Впервые на основе системного анализа по методу А.Н. Зосимова и В.П. Голика (2003) определили иерархическую роль в нарушении иммунного гомеостаза первичных и вторичных механизмов, а также степень

отклонения того или иного показателя от норматива согласно t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В иммунограммах у детей, больных БА, с различными формами заболевания отмечено существенное повышение фракций системы комплемента (C₁, C₂, C₃), особенно C₃-фракции, что указывает на активацию системы комплемента по альтернативному пути (табл. 1). C₃-фракция комплемента является мощным анафилатоксином, усиливающим проницаемость сосудов, активацию фагоцитов, высвобождение из тучных клеток гистамина, серотонина, угнетающим активность В-лимфоцитов, усиливающим повреждающее действие ЦИК, количество которых превышает нормативные показатели в зависимости от формы и тяжести течения заболевания (табл. 1 и 2).

Однако выявленные достоверные отличия ряда иммунных параметров от норматива не дают ответа на вопрос: какова степень отклонения того или иного показателя от норматива? Для решения этого вопроса был использован нормативный показатель – t-критерий Стьюдента [8].

У больных инфекционно-атопической формой БА наибольшее повышение значений отклонений от норматива отмечено в отношении уровня ЦИК (t = 16,74), рис. 1, а.

Более низкое ранговое место занимает повышенное содержание C₃ (t=8,21), затем в порядке снижения следуют IgE (t = 4,55) → C₀ (t = 1,89) → IgG (t = 1,03). Два последних показателя не имеют достоверных различий с контролем. Следовательно, рейтинговое нормирование позволило выявить доминирующее патогенетическое звено у детей с инфекционно-аллергической формой БА. Этим зве-

Таблица 1. Данные иммунограммы у обследованных детей с различными формами бронхиальной астмы (БА) ($M \pm m$)

| Иммунологический показатель | Норматив | Клинические формы БА | | |
|-----------------------------|-------------|---|---|---|
| | | инфекционно-аллергическая (n=82) | смешанная (n=70) | атопическая (n=76) |
| C_0 , гем. ед. | 55,40±3,20 | 67,51±4,16* $E_x = -0,65$ | 48,63±3,47 $E_x = -0,45$ | 74,72±4,85* $E_x = -0,71$ |
| C_1 , гем. ед. | 26,60±13,50 | 89,93±6,17* $E_x = -0,34$ | 62,43±4,13* ^{#^} $E_x = -0,40$ | 85,13±5,23^* $E_x = -0,58$ |
| C_2 , гем. ед. | 58,50±1,85 | 88,73±6,32* $E_x = -0,47$ | 78,12±4,23* $E_x = -0,69$ | 82,92±5,23^* $E_x = -0,58$ |
| C_3 , гем. ед. | 72,50±2,49 | 219,01±10,13* $E_x = -0,28$ | 194,6±9,27* $E_x = -0,32$ | 210,5±11,08* $E_x = -0,23$ |
| ЦИК, ед. опт. плотн. | 30,20±2,30 | 191,67±9,24* [#] $E_x = -0,33$ | 132,72±5,67* ^{#^} $E_x = -0,29$ | 182,42±8,12^* $E_x = -0,42$ |
| IgM, г/л | 1,52±0,04 | 1,20±0,023* $E_x = 0,18$ | 1,19±0,12* $E_x = 0,22$ | 1,44±0,28 $E_x = 0,13$ |
| IgA, г/л | 1,20±0,06 | 1,58±0,19* $E_x = 0,34$ | 1,39±0,24 $E_x = 0,29$ | 2,48±0,18* $E_x = 0,16$ |
| IgG, г/л | 13,18±0,38 | 8,86±1,14* $E_x = 0,34$ | 8,83±1,23* $E_x = 0,21$ | 9,34±1,92* $E_x = 0,47$ |
| IgE, КЕ/л | 53,34±3,19 | 84,74±6,78* ^{#&} $E_x = 0,59$ | 149,27±7,26* ^{#^} $E_x = 0,73$ | 279,01±12,15* ^{#&} $E_x = 0,62$ |

Примечания: 1. $p < 0,05$. * Достоверные отличия показателей клинических форм БА и нормативных (N); # достоверные отличия показателей инфекционно-аллергической и смешанной форм БА; ^ достоверные отличия показателей атопической и смешанной форм БА; & достоверные отличия показателей атопической и инфекционно-аллергической форм БА.

2. E_x – показатель нормальности распределения выборки ($E_x = 0$).
Здесь и в табл. 2.

ном оказался иммунокомплексный характер гиперсенсibilизации организма. Реагиновый тип гиперчувствительности выполняет соподчиненную роль и по своей значимости в 4 раза уступает иммунокомплексному типу.

Рейтинговое нормирование степени отклонения от норматива показателей гуморального иммунитета у больных с атопической формой БА показало, что в отличие от больных с инфекционно-аллергической формой БА главная патогенетическая роль принадлежит реагиновой гиперчувствительности (IgE; $t = 17,39$), рис. 1, б. Иммунокомплексная гиперсенсibilизация при атопической форме БА также имеет важное значение, хотя и уступает реагиновой. В этом плане иерархическая цепочка выглядит следующим образом: IgE ($t = 17,39$) → ЦИК ($t = 14,43$) → C_3 ($t = 11,85$) → C_0 ($t = 3,82$) > IgG ($t = 1,13$).

У детей, больных смешанной формой БА (рис. 1, в), выявлен промежуточный патогенетический вариант, который заключался в примерно равной активности как иммунокомплексных, так и реагиновых реакций с некоторой доминантой первых: ЦИК ($t = 13,66$)

→ IgE ($t = 11,19$). Затем в порядке иерархии следуют C_3 ($t = 8,84$) → C_0 ($t = 1,49$) → IgG ($t = 1,13$).

Использование средних значений t-критерия по всей совокупности признаков позволяет провести комплексную оценку степени отклонения от норматива гуморального иммунитета в целом (рис. 2).

Из рис. 2 следует, что в целом выявлены значительные отклонения от норматива гуморального иммунитета во всех исследуемых группах. При этом для всех клинических форм БА отмечена прямая корреляция степени нарушения гуморального иммунитета с тяжестью заболевания. Особенно ярко это проявляется при инфекционно-аллергической и смешанной формах БА. Так, у детей с инфекционно-аллергической формой при легком течении заболевания нарушения гуморального иммунитета превышали пороговый уровень достоверности в 3,5 раза ($t = 6,97$), при среднетяжелом – в 3,6 раза ($t = 7,02$), а при тяжелом – в 5,2 раза ($t = 10,29$).

У детей со смешанной формой БА нарастание отклонений от норматива происходи-

Таблица 2. Данные иммунограммы у обследованных детей в зависимости

| Показатель | Инфекционно-аллергическая (n=82) | | | Смешанная |
|--------------------------------------|----------------------------------|--|--|---|
| | легкая | средняя | тяжелая | легкая |
| C_0 (N 55,4±3,2), гем. ед. | 51,42±2,06 $E_x=0,37$ | 48,70±1,62 $E_x=0,46$ | 45,90±1,24* ^{&} $E_x=0,54$ | 72,25±4,13* [#] $E_x=-0,48$ |
| C_3 (N 72,5±2,49), гем. ед. | 112,00±6,15* $E_x=0,66$ | 117,82±8,13* $E_x=0,52$ | 226,92±11,27* ^{&} $E_x=0,62$ | 108,75±8,12* $E_x=-0,52$ |
| ЦИК (N 30,2±2,3), ед. опт. плотн. | 161,71±7,14* $E_x=0,72$ | 190,20±10,46* [#] $E_x=0,63$ | 223,1±10,62* ^{&} $E_x=0,49$ | 118,25±9,16* $E_x=-0,73$ |
| IgE (N 53,34±3,19), КЕ/л | 65,87±3,21* $E_x=0,53$ | 79,8±4,12* [#] $E_x=0,45$ | 179,32±9,67* ^{&} $E_x=-0,68$ | 118,5±7,94* $E_x=-0,62$ |
| IgG (N 13,18±3,38), г/л | 10,64±3,36 $E_x=0,38$ | 9,02±1,85 $E_x=0,27$ | 7,87±1,19 $E_x=0,33$ | 11,00±2,70 $E_x=-0,30$ |
| Количество больных | 28 | 30 | 24 | 24 |

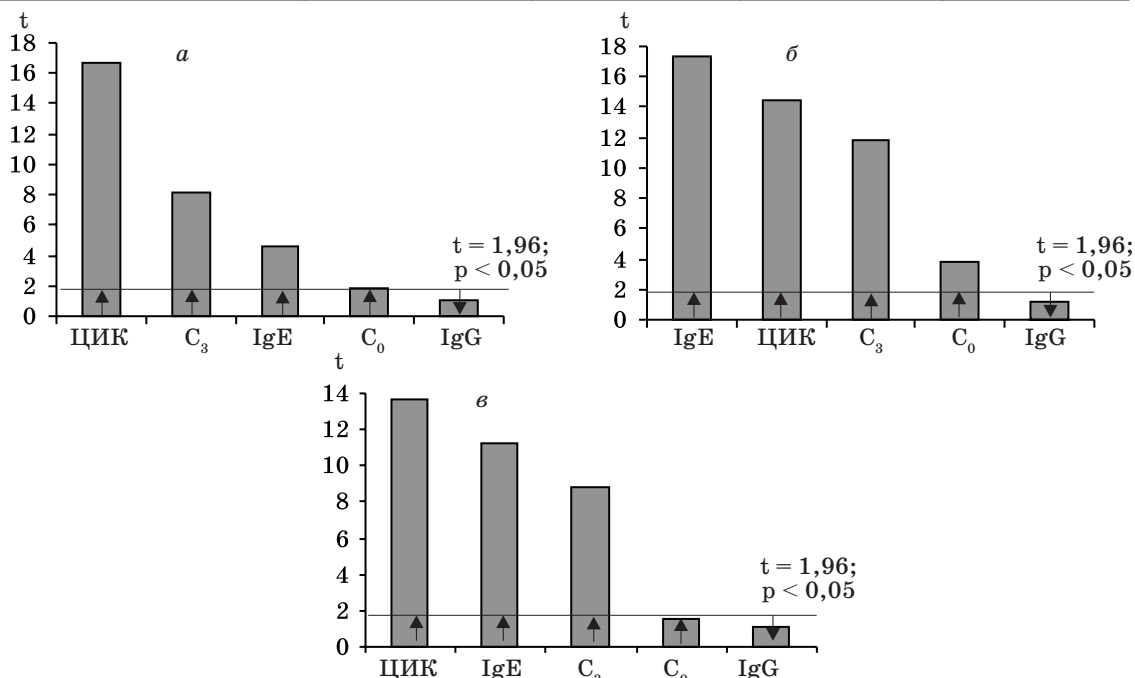


Рис. 1. Рейтинговая оценка степени отклонения от норматива показателей гуморального иммунитета у больных инфекционно-аллергической (а), атопической (б) и смешанной (в) формами БА (↓ – увеличение; ↑ – уменьшение), $t = 1,96$; $p < 0,05$

ло следующим образом: легкое течение – $t = 6,22$; среднетяжелое – $t = 9,08$ и тяжелое – $t = 10,54$. У детей с атопической формой БА нарастание нарушений гуморального иммунитета происходило в незначительной степени: при легком течении $t = 11,95$; при среднетяжелом – $t = 12,14$, при тяжелом – $t = 12,59$. Возможно, отсутствие значительной динамики указанных отклонений связано с высоким начальным (при легком течении БА) уровнем отклонений гуморального иммунитета, который превышал таковой у детей, больных инфекционно-аллергической и смешанной формами БА почти в 2 раза.

Выявлено также различие в степени нарушений гуморального иммунитета в зависимости от формы заболевания: при инфекционно-аллергической – 8,1; при смешанной – 8,67 и при атопической – 12,17.

Выявленные различия в степени корреляции отклонений гуморального иммунитета с тяжестью заболевания при различных формах БА могут быть связаны с различной ролью первичных и вторичных механизмов патогенеза БА в нарушении иммунологических параметров. До сих пор этот вопрос остается дискуссионным. Однако в последние годы А.Н. Зосимовым и В.П. Голиком [8] предло-

от тяжести течения различных форм бронхиальной астмы ($M \pm t$)

| (n=70) | | Атопическая (n=76) | | |
|---------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|
| средняя | тяжелая | легкая | средняя | тяжелая |
| 67,40±2,04* | 61,25±3,16 | 88,43±4,32* | 77,76±4,15*# | 60,20±3,11 |
| $E_x = -0,71$ | $E_x = -0,65$ | $E_x = -0,27$ | $E_x = -0,34$ | $E_x = -0,27$ |
| 179,91±8,76*# | 183,00±10,25*# | 207,33±11,13* | 205,70±11,03* | 197,70±10,25* |
| $E_x = -0,67$ | $E_x = -0,54$ | $E_x = -0,38$ | $E_x = -0,48$ | $E_x = -0,34$ |
| 129,33±7,68*# | 148,60±11,12*# | 158,83±8,84* | 190,58±10,27*# | 201,33±12,09*# |
| $E_x = -0,59$ | $E_x = -0,48$ | $E_x = -0,55$ | $E_x = -0,60$ | $E_x = -0,42$ |
| 150,66±6,43*# | 179,32±9,67*# | 248,50±12,18* | 289,17±12,24*# | 299,20±13,15*# |
| $E_x = -0,48$ | $E_x = -0,68$ | $E_x = -0,61$ | $E_x = -0,57$ | $E_x = -0,59$ |
| 8,46±1,24 | 7,16±1,26 | 9,66±2,09 | 8,76±1,08 | 8,57±1,14 |
| $E_x = -0,23$ | $E_x = -0,31$ | $E_x = -0,33$ | $E_x = -0,29$ | $E_x = -0,47$ |
| 22 | 24 | 30 | 24 | 22 |

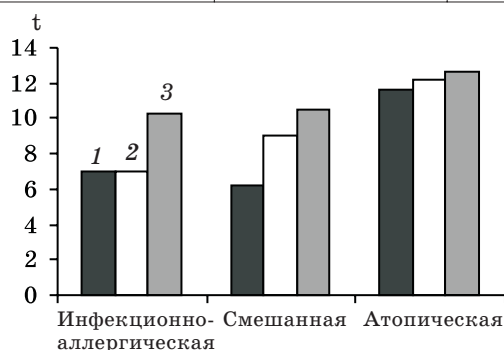


Рис. 2. Комплексная оценка степени отклонения от норматива гуморального иммунитета в зависимости от формы и тяжести (1 – легкая; 2 – средняя; 3 – тяжелая) БА

жена методика количественной оценки доли влияния первичных и вторичных механизмов патогенеза на степень отклонений значений параметра от норматива. Применив эту методику к тем показателям гуморального иммунитета, по которым были выявлены достоверные отклонения от норматива (табл. 3), мы установили, что в повышении уровня C_0 при инфекционно-аллергической форме БА доминирующую роль играют вторичные механизмы патогенеза (62,09%), а при атопической и смешанной – превалируют первичные механизмы (54,82 и 62,52% соответственно).

Таблица 3. Доля вклада в нарушение гомеостаза показателей гуморального иммунитета первичных и вторичных механизмов патогенеза различных форм бронхиальной астмы, %

| Иммунологический показатель | Инфекционно-аллергическая | Смешанная | Атопическая |
|-----------------------------|---------------------------|-------------|-------------|
| C_0 , гем. ед. | 38,01/62,09 | 54,82/45,18 | 62,52/37,48 |
| C_3 , гем. ед. | 44,78/55,22 | 99,15/0,84 | 40,96/59,04 |
| ЦИК, ед. опт. плотн. | 72,98/27,02 | 78,02/21,98 | 79,10/22,90 |
| IgE, КЕ/л | 63,16/36,84 | 85,72/14,28 | 64,71/35,29 |
| IgG, г/л | 35,81/64,19 | 68,22/31,78 | 29,94/70,06 |

Что касается компонента C_3 фракции комплемента, то его увеличение у больных инфекционно-аллергической и смешанной формами БА вызвано в большей степени вторичными механизмами (55,22 и 59,04% соответственно), а у детей с атопической формой – только первичными (99,16%).

Повышение уровня ЦИК для всех форм заболевания вызывается в основном первичными механизмами (72–79%). Такая же закономерность характерна и для повышения уровня IgE с той лишь разницей, что если для инфекционно-аллергической и смешанной форм БА доля влияния вторичных механизмов составляет 1/3, то у больных атопической формой – всего 14,28%.

В снижении уровня IgG при инфекционно-аллергической и смешанной формах БА главную роль (64–70%) играют вторичные механизмы, а с атопической в такой же пропорции – первичные механизмы патогенеза.

Проявление реактивной и иммунокомплексной гиперчувствительности, независимо от формы заболевания, связано в большей степени с первичными механизмами БА, и у больных с атопической формой БА они являются основными.

Таким образом, полученные данные позволяют по-новому оценить роль гумораль-

ных факторов иммунитета в развитии патогенетических нарушений при различных формах и степенях тяжести течения БА у детей.

Выводы

1. В патогенезе инфекционно-аллергической формы БА доминирующая роль принадлежит ЦИК и C_3 -фракции системы комплемента, тогда как реактивная гиперчувствительность не является ведущей.

2. В патогенезе атопической формы БА доминирующая роль принадлежит реактивной гиперчувствительности и ЦИК, тогда как фракции системы комплемента (C_0 , C_3) не являются ведущими.

3. В патогенезе смешанной БА доминирующая роль принадлежит ЦИК и реактивной гиперчувствительности, тогда как фракции системы комплемента (C_0 , C_3) не являются ведущими.

Литература

1. Адо А.Д. Иммунология аллергических реакций. Вестн. АМН СССР 1974; 1: 58–62.
2. Беклемишев Н.Д. Иммунология и иммунорегуляция. М.: Медицина, 1986. 256 с.
3. Каганов С.Ю. Респираторные аллергии у детей. Л.: Медицина, 1980. 150 с.
4. Каганов С.Ю. Бронхиальная астма у детей. М.: Медицина, 1999. 367 с.
5. Чернушенко Е.Ф. Иммунология бронхиальной астмы. Журн. практ. врача 1997; 4: 39–42.
6. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. М.: Медицина, 1991. 271 с.
7. Маянский Д.Н. Патогенез бронхиальной астмы. Терап. архив 1995; 12: 77–80.
8. Зосимов А.Н., Голик В.П. Системный анализ в медицине. Харьков: Торнадо, 2000. 78 с.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ГУМОРАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

В.Г. Чернуський, Г.Д. Морозова

На достовірному практичному матеріалі з застосуванням системного аналізу обробки отриманих результатів виявлені особливості порушень гуморальної ланки імунітету в патогенезі бронхіальної астми у дітей.

Ключові слова: бронхіальна астма, циркулюючі імунні комплекси, система комплементу, реактивна гіперчутливість.

FEATURES OF CHANGES IN HUMORAL SECTION OF THE IMMUNITY IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

V.G. Chernuskij, A.D. Morozova

Basing on the reliable practical material with system analysis of findings, there were elicited some features of the disturbance in humoral section of the immunity in a pathogenesis of bronchial asthma in children.

Key words: bronchial asthma, circulating immune complexes, complement system, reaginic hypersensitivity.

Поступила 28.11.07

АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ РОТАВІРУСНОЇ МІКСТ-ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

С.В. Кузнєцов, Т.О. Кірсанова

Харківський національний медичний університет

Наведено алгоритм діагностики ротавірусної мікст-інфекції у дітей, в основу якого покладено просте математичне підсумування діагностичних коефіцієнтів анамнестичних, клініко-лабораторних та імунологічних показників. Висока надійність і вірогідність алгоритму дозволяє рекомендувати його для впровадження в практичну діяльність педіатрів.

Ключові слова: ротавірусна інфекція, діагностика, діти.

Проблема зниження захворюваності на ротавірусну інфекцію є актуальною, оскільки остання посідає одне з перших місць у структурі інфекційної патології шлунково-кишкового тракту у дітей [1, 2]. В усьому світі ротавіруси є чинником більше 25 % асоційованих з діареєю смертей та 6 % усіх летальних випадків у дітей віком до 5 років [3, 4]. У країнах, що розвиваються, ротавіруси викликають більше 850 000 випадків смерті щорічно [5]. В Україні на ротавірусну інфекцію припадає від 35 до 75 % усіх випадків гострих кишкових інфекцій [5].

Багато хто з авторів вказує, що в 60–70 % випадків ротавірусна інфекція зустрічається не як моно-, а як мікст-інфекція, що найчастіше зумовлена сполученням ротавірусів з бактеріальною флорою [6, 7]. Однак відомостей про можливість ранньої діагностики патологічного процесу ротавірусної мікст-етиології в доступній літературі практично немає. А між тим розробка подібних критеріїв діагностики дозволить вже в дебюті захворювання адекватно та етіологічно правильно підійти до призначення терапії хворим на ротавірусну мікст-інфекцію, визначити доцільність призначення антибіотиків, імуноотропних та інших фармакологічних засобів.

Ціллю дослідження була розробка алгоритму діагностики ротавірусної мікст-інфекції у дітей на ранніх етапах її маніфестації на основі клініко-анамнестичних, загальноприйнятих лабораторних та імунологічних даних хворих.

Матеріал і методи. Під спостереженням знаходилися 94 дитини віком 1 міс – 3 роки, хворих на ротавірусну інфекцію, з них 30 – на ротавірусну моно- (РВІ) та 64 – на мікст-інфекцію (РВМІ).

В кожному випадку ретельно розглядалися скарги дитини (батьків), анамнез захворювання, епідеміологічний анамнез і анам-

нез його життя, аналізувалися клінічна картина хвороби, результати загальноприйнятих лабораторних і спеціальних імунологічних досліджень.

Верифікація діагнозу здійснювалася шляхом виявлення ротавірусного антигену в калових масах хворих методом імуноферментного аналізу (ІФА) та визначення титру антитіл до нього в динаміці захворювання (ІФА). Верифікація ротавірусної мікст-інфекції – шляхом додаткового бактеріологічного дослідження випорожнень (виділення умовно-патогенних бактерій) та встановлення динаміки титру антитіл у сироватці крові хворих до виділених штамів мікроорганізмів за допомогою реакції аглютинації.

Поряд із загальноклінічними лабораторними дослідженнями проводилося імунологічне обстеження хворих (гострий період захворювання та період ранньої реконвалесценції), визначався кількісний вміст популяцій і субпопуляцій імунних клітин крові (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺, CD19⁺) методом непрямої імуофлюоресценції, рівні інтерлейкінів (IL) 1 β , 4, 6, фактор некрозу пухлини (ФНП- α) твердофазним імуоферментним методом та імуноглобулінів основних класів (А, М, G) простою радіальною імунодифузиею сироватки.

Розбіжності між клініко-лабораторною характеристикою та показниками імунного відгуку хворих на РВІ та РВМІ, які були виявлені під час проведення дослідження, стали підґрунтям для розробки алгоритму діагностики РВМІ. З цією метою була застосована неоднорідна послідовна процедура (НПП) Вальда–Генкіна [8].

Всього проаналізовано 38 основних анамнестичних, загальноприйнятих клініко-лабораторних і вказаних імунологічних показників хворих на РВІ та РВМІ. Відповідно до НПП ці ознаки було розподілено на діапазони (порівняно їхню частоту в обох групах хворих),

визначені діагностичні коефіцієнти (ДК) (позитивні – знак «+» – характерні для РВМІ та негативні – «-» – для РВІ) та інформативність (І). Діагностичну цінність становили показники, інформативність яких перевищувала 0,30 ($I \geq 0,30$), при цьому показник виявляв дуже високу прогностичну значущість якщо $I \geq 3,0$; високу – $1,0 \leq I \leq 3,0$; середню – $0,50 \leq I \leq 0,99$ і низьку – $0,30 \leq I \leq 0,49$.

Результати та їх обговорення. З проаналізованих анамнестичних ознак тільки сезонність мала діагностичну цінність ($I=0,63$), при цьому вона відносилася до ознак середньої інформативності (таблиця).

З 11 проаналізованих клінічних показників діагностичну цінність виявили дев'ять, з них високу значущість мали такі, як катаральний синдром ($I=1,50$), наявність домішок у випорожненнях ($I=1,44$), частота випорожнень ($I=1,43$), болісна або безболісна пальпація живота та/або його здуття ($I=1,27$), блювання ($I=1,21$), вік хворих ($I=1,08$); середню – температура тіла ($I=0,81$), зневоднення ($I=0,69$), низьку – фізичний розвиток дітей ($I=0,35$).

З вісьмох лабораторних показників, що порівнювалися, інформативними виявилися п'ять. Середню інформативність мали ре-

Алгоритм діагностики ротавірусної мікст-інфекції у дітей

| Показник | Діапазон показника | ДК | I |
|---|---|-------|------|
| Сезонність | Зима | -1,7 | 0,63 |
| | Весна | +1,2 | |
| | Літо | -3,3 | |
| | Осінь | +3,7 | |
| Вік | До 6 місяців | -3,7 | 1,07 |
| | 6–12 місяців | +5,4 | |
| | 1–3 роки | -0,14 | |
| Фізичний розвиток | Середній | +0,6 | 0,35 |
| | Нижчий за середній | +2,2 | |
| | Вищий за середній | -2,9 | |
| Температура тіла, °C | До 37 | -3,3 | 0,81 |
| | 37–38 | -5,1 | |
| | Вище 38 | +1,6 | |
| Катаральний синдром | Немає | -4,3 | 1,50 |
| | Є | +3,2 | |
| Блювання | Немає | -3,0 | 1,21 |
| | Одноразове | -1,4 | |
| | Багаторазове | +4,8 | |
| Пальпація живота | Безболісність | -3,1 | 1,27 |
| | Болісність | +3,7 | |
| Частота випорожнень на добу | До 8 разів | +2,7 | 1,43 |
| | Більше 8 раз | -4,8 | |
| Домішки у випорожненнях | Немає | -3,6 | 1,44 |
| | Слиз | +3,3 | |
| | Зелень | +2,7 | |
| | Неперетравлені грудочки | +1,9 | |
| Зневоднення | Немає | +1,5 | 0,69 |
| | I ст. | -4,4 | |
| | II–III ст. | -3,3 | |
| Клінічний аналіз крові кількість лейкоцитів, 10^9 /л | Менше 5 | -5,5 | 0,38 |
| | 5,1–9,0 | +0,4 | |
| | Більше 9,1 | +1,2 | |
| % сегментоядерних нейтрофілів | Менше 35 | -3,3 | 0,55 |
| | 35 та більше | +1,5 | |
| % лімфоцитів | Менше 50 | +2,2 | 0,70 |
| | 50 та більше | -2,8 | |
| Клінічний аналіз сечі | Без змін | -1,6 | 0,53 |
| | Ацетон або білок | +2,7 | |
| Копрограма | Норма | -2,3 | 0,79 |
| | Рослинна клітковина, м'язові волокна, нейтральний жир | +1,5 | |
| | Слиз | +2,5 | |
| | Лейкоцити | +3,2 | |

Продовження таблиці

| Показник | Діапазон показника | ДК | I |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------|------|
| Вміст ІЛ, пг/мл | | | |
| 1 β | До 450 451 та більше | -2,6 +6,3 | 1,45 |
| 4 | До 100 100 та більше | -7,3 +5,6 | 3,41 |
| 6 | До 100 100 та більше | -5,7 +12,6 | 5,43 |
| ФНП- α , пг/мл | До 70 70 і більше | +3,0 -3,6 | 1,00 |
| Відносна кількість імунних клітин, % | | | |
| CD3 ⁺ | До 54 54 та більше | +12,6 -4,4 | 4,89 |
| CD4 ⁺ | До 36 36 та більше | +4,7 -11,1 | 4,46 |
| CD8 ⁺ | До 25 25 та більше | +3,5 -6,9 | 2,27 |
| CD14 ⁺ | До 15 15 та більше | +3,1 -3,6 | 1,12 |

Примітка. Знак «+» – значення даного діапазону показника є характерним для ротавірусної мікст-інфекції, знак «-» – для ротавірусної моноінфекції.

зультати копрограми (I=0,79); відносна кількість лімфоцитів (I=0,70) і сегментоядерних нейтрофілів (I=0,55) периферичної крові, результати клінічного аналізу сечі (I=0,53); низьку інформативність – вміст у крові лейкоцитів (I=0,38).

З 12 проаналізованих імунологічних показників вісім мали діагностичну цінність. Дуже високу інформативність мали показники вмісту ІЛ-6 (I=5,43), CD3⁺ (I=4,89), CD4⁺ (I=4,46), ІЛ-4 (I=3,41); високу – рівні CD8⁺ (I=2,27), ІЛ-1 β (I=1,45), CD14⁺ (I=1,12) та ФНП- α (I=1,00).

На основі вивчених параметрів нами запропонована діагностична таблиця, яка дозволяє при виділенні ротавірусного антигену у випорожненнях хворих дітей на початкових етапах патологічного процесу діагностувати моно- або мікст-інфекцію.

Використовуючи дані таблиці, шляхом математичного підсумування значень діагностованих коефіцієнтів при наявності або відсутності даних ознак можна з високою частотою вірогідності (до 98 %) діагностувати моно- або мікст-ротавірусну патологію шлунково-кишкового тракту у дітей. Якщо сума діагностованих коефіцієнтів досягала значення «+13,0», слід діагностувати мікст-інфекцію, а якщо «-13,0» – моноінфекцію. Якщо сума діагностованих коефіцієнтів не досягала діагностичного порога, то це свідчило про

недостатність інформації для діагностики, й діагноз РВІ або РВМІ є невизначеним.

Висновки

1. Ротавірусна мікст-інфекція має відмітні риси за клініко-анамнестичними, загальноприйнятими лабораторними та імунологічними показниками від ротавірусної моноінфекції, що може бути використано з метою їх диференціальної діагностики.

2. Серед анамнестичних, клінічних, загальноприйнятих лабораторних і спеціальних імунологічних ознак найбільш інформативними є клінічні симптоми захворювання та імунологічні показники хворих.

3. Використання запропонованого алгоритму діагностики ротавірусної мікст-інфекції дозволяє на ранніх етапах розвитку патологічного процесу діагностувати її методом простого математичного підсумування діагностичних коефіцієнтів.

4. Використання запропонованого алгоритму вже на даному етапі дозволило підвищити відсоток вірної діагностики ротавірусної мікст-інфекції в Харківському регіоні до 98 %.

5. Діагностика ротавірусної мікст-інфекції в дебюті захворювання дозволяє лікарю правильно орієнтуватися в призначенні антибактеріальних препаратів і патогенетично обґрунтувати подальші шляхи удосконалення лікування.

Література

1. Васильєва Б.Я., Васильєва Р.И., Лобзин Ю.В. Острые кишечные заболевания. Ротавирусы и ротавирусная инфекция. М.: Лань, 2000. 272 с.
2. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresse J.S., Glass R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. Emerging infectious disease 2006; 12, 2: 304–306.

3. Cheng A.C., McDonald J.R., Thielman N.M. Infectious diarrhea in developed and developing countries. *J. Clinical Gastroenterology* 2005; 39, 9: 757–773.
4. Куприна Н.П. Ротавирусная инфекция у детей раннего возраста: Матер. II конгресса педиатров-инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей». М.: Медицина, 2003: 101.
5. Шостакович-Корецька Л.Р., Герасименко О.М., Кривуша О.Л., Гайдук Т.А. Клінічні особливості ротавірусної інфекції в дітей на сучасному етапі. *Здоровье ребенка* 2007; 3 (6): 66–69.
6. Благодатний В.М., Палатна Л.О., Мощич О.П. Особливості змішаної ротавірусно-бактеріальної інфекції у дітей. *Педіатр., акуш. та гінекол.* 1999; 4: 48–49.
7. Reidy N., O'Halloran F., Fanning S. et al. Emergence of G3 and G9 rotavirus and increased incidence of mixed infections in the southern region of Ireland 2001–2004. *J. Med. Virology* 2005; 77, 4: 571–578.
8. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978. 296 с.

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ РОТАВИРУСНОЙ МИКСТ-ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

С.В. Кузнецов, Т.А. Кирсанова

Приведен алгоритм диагностики ротавирусной микст-инфекции у детей, в основу которого положен метод простого математического суммирования диагностических коэффициентов анамнестических, клинико-лабораторных и иммунологических показателей. Высокая надежность и достоверность алгоритма позволяет рекомендовать его для внедрения в практическую деятельность педиатров.

Ключевые слова: ротавирусная инфекция, диагностика, дети.

ALGORITHM OF DIAGNOSTICS OF ROTAVIRAL MIXED INFECTION IN CHILDREN

S.V. Kuznetsov, T.O. Kirsanova

The article presents the new method of diagnostics of rotaviral mixed infection in children, which is based on mathematical summation of anamnestic, clinical, laboratory and immunological indices. High reliability of this method was show and it is recommended for wide practical use.

Key words: rotaviral infection, diagnostics, children.

Поступила 29.10.07

НЕВРОЛОГІЯ І ПСИХІАТРІЯ

ОЦЕНКА ЭНТРОПИИ КОЛМОГорова–СИНАЯ ПО ЭЭГ
У ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН В УСЛОВИЯХ «СТРЕССА ОЖИДАНИЯ»

О.Ю. Майоров^{1,2,3}, Л.Н. Фрицше², М. Фрицше⁴, А.Б. Прогнимак²,
К.А. Степанченко², В.Н. Фенченко²

¹Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины, г. Харьков

²Харьковская медицинская академия последипломного образования

³Институт медицинской информатики и телемедицины, г. Харьков

⁴Клиника внутренних болезней и географической медицины, г. Цюрих, Швейцария

Установлены типичные диапазоны значений энтропии Колмогорова–Синая (эКС) по ЭЭГ в симметричных областях полушарий головного мозга для здоровых молодых мужчин в состоянии спокойного бодрствования, в условиях эмоционального стресса (ЭС). Анализ variability сердечного ритма показал, что «стресс ожидания» вызывал выраженное, объективно фиксируемое напряжение систем регуляции. В условиях «стресса ожидания» выявлено достоверное снижение эКС, что может указывать на формирование доминанты и системного торможения, которые возникают в жизненно важных ситуациях и отражают, по-видимому, уровень устойчивости организма к ЭС. Восстановление кортикальной нейродинамики после прекращения стрессорного раздражения указывает на нормальную устойчивость испытуемых к эмоциональным стрессам. Сделан вывод, что эКС по ЭЭГ является объективным количественным показателем изменения динамических характеристик ключевых структур мозга, которые принимают участие в формировании адаптивных процессов в условиях ЭС.

Ключевые слова: эмоциональный «стресс ожидания», детерминистский хаос, энтропия Колмогорова–Синая, variability сердечного ритма.

Эмоциональный стресс возникает в конфликтных поведенческих ситуациях, при которых человек или животное не могут удовлетворить свои основные социальные или биологические потребности. Особую значимость для человека имеют социальные потребности и возможность их удовлетворения [1, 2]. «Стресс ожидания» рассматривается как ориентированное на будущее когнитивно-аффективное соматическое состояние, при котором возникает чувство беспокойства, фокусированное на будущих угрозах, опасностях и прочих негативных событиях [3–7]. С этим состоянием ассоциированы негативное аффективное состояние страха, беспомощности и сопровождающие их соматические компоненты [4, 6–8]. Предлагались различные модели «стресса ожидания» для того, чтобы объяснить нейрофизиологические механизмы, лежащие в его основе, и нейроанатомический субстрат [3, 6, 7, 9].

Применение методов детерминистского хаоса позволяет количественно оценить исследуемые нейродинамические процессы,

обуславливающие центральные механизмы устойчивости к эмоциональному стрессу [10, 11], дает новую информацию относительно динамики нейрональных сетей, ответственных за нормальные или патологические процессы, происходящие в мозге [12]. Все больше свидетельств появляется в пользу того, что хаос играет позитивную роль в физиологии организма в целом и головного мозга в частности. Хаос в определенных пределах способствует функционированию церебральных систем, так как он обеспечивает «информационно-богатое состояние» [13]. В литературе имеются немногочисленные и довольно противоречивые данные исследований нелинейной динамики ЭЭГ в состоянии эмоционального стресса. Проводилось исследование нарушений информационных процессов у пациентов с посттравматическим стрессом [14]. Для большинства областей мозга были выявлены значимо более низкие уровни корреляционной размерности у пациентов с посттравматическим стрессом по сравнению со здоровыми добровольцами, что говорит,

по мнению авторов, о том, что у пациентов с посттравматическим стрессом наблюдается редуцированная комплексность сигнала ЭЭГ. Нами в условиях хронического эмоционального стресса, вызванного длительной иммобилизацией у крыс, было показано снижение энтропии Колмогорова–Синая (эКС) в ряде областей полушарий и структурах лимбической системы моторной области правого полушария и повышение этого нелинейного параметра в структурах лимбической системы, особенно в левой базолатеральной миндалине, что может указывать на уменьшение числа параллельно протекающих информационных процессов в моторной коре при иммобилизации и усиление активности лимбических структур при эмоциональном стрессе [15].

Материал и методы. Обследована группа из 29 здоровых добровольцев, мужчин, студентов летного военного университета, возрастом от 20 до 22 лет, правой (оценка праворуконости проведена по методике [16]), не имеющих в анамнезе клинически значимых, в том числе психоневрологических, заболеваний. Все испытуемые были психически здоровы. Перед моделированием эмоционального «стресса ожидания» проводилось клиническое исследование ЭЭГ в соответствии со стандартами Международной федерации клинической нейрофизиологии (IFCN). Для объективной оценки напряжения систем регуляции и уровня эмоционального стресса испытуемых параллельно записи ЭЭГ проводилась регистрация вариабельности сердечного ритма (ВСР). Это было необходимо для адекватной физиологической интерпретации нового нелинейного параметра ЭЭГ – эКС.

Моделировали «стресс ожидания» [3]. Использовали методику стимуляции электрическим током, предложенную в работе [17]. В качестве стрессора выступал болевой раздражитель (надпороговые удары электрическим током). Использовали лабораторный электростимулятор MSE-3R фирмы Nihon Kohden (Япония) для нейрофизиологических исследований. Стимулирующие электроды помещали на мизинец и безымянный палец правой руки. В начале исследования проводилась запись в состоянии спокойного бодрствования в течение 150 с. Предварительно подбирали пороговые значения тока, при которых испытуемые добровольцы ощущали легкие болевые раздражения. Обследуемые были предупреждены, что получат 5–6 чувствительных ударов током через каждые 2 минуты. За 1 минуту до нанесения удара экспериментатор заходил в камеру и изображал подготовку к нанесению удара, чтобы стимулировать возникновение стресса

ожидания. Запись проводилась между ударами. Перед завершением исследования экспериментатор сообщал, что ударов больше не будет, и снимал электроды с пальцев. После этого проводилась еще одна запись (отражающая процессы восстановления динамических систем головного мозга после эмоционального стресса) в течение 150 с. Таким образом, при исследовании «стресса ожидания» ЭЭГ-сессия состояла из 7 событий (1-е событие – фоновая запись в состоянии спокойного бодрствования; 2–6-е события – записи между ударами электрическим током, при этом конец записи отражал состояние «ожидания» удара током; 7-е – состояние после отмены стрессорного фактора). При анализе выбирали ту запись, во время которой согласно индексу тревоги (параметр ВСР) [18, 19] наблюдался максимальный уровень стресса.

Все записи проводились при закрытых глазах. Для регистрации ЭЭГ использовали 24-канальный электроэнцефалограф фирмы «DX-системы» (Украина). ЭЭГ регистрировалась монополярно с референтным «усредненным» электродом [20] с симметричных областей полушарий (наложение электродов по системе 10×20, частота дискретизации 400 Гц, 16-разрядное разрешение). Для нелинейного анализа ЭЭГ выбирали безартефактные стационарные участки ЭЭГ длительностью 35–40 с; для анализа состояния «стресса ожидания» – участок, лежащий максимально близко к моменту электростимуляции (ожидание удара током). Ввод и анализ ЭЭГ осуществляли с помощью системы компьютерной ЭЭГ NeuroResearcher®'2005 [21], параметры детерминистского хаоса вычисляли с помощью модуля NeuroResearcher®'-Chaos'2005 [22]. Для оценки достоверности различий нелинейных показателей и показателей ВСР применяли непараметрический критерий Вилкоксона для парных выборок.

Результаты. Оценка напряжения систем регуляции в условиях моделирования «стресса ожидания» на основе показателей вариабельности сердечного ритма

Для того чтобы достоверно установить, что испытуемые находились в состоянии стресса ожидания, был проведен анализ показателей ВСР. В качестве основных показателей, характеризующих напряжение регуляторных систем, выступали индекс «тревоги» (ИТ) и индекс «тип реакции тревоги» (ИТРТ). В состоянии «стресса ожидания» было отмечено статистически достоверное повышение обоих индексов (ИТ и ИТРТ) по сравнению со спокойным бодрствованием, после отмены стрессового воздействия индексы снижались достоверно ниже исходного уровня. Так, значительно увеличились ИТ (фон:

281,86±66,61; стресс: 470,58±154,71; после стресса: 242,79±58,81) и ИТРТ (фон: 382,79±106,54; стресс: 672,27±252,56; после стресса: 320,79±90,34). При этом частота сердечных сокращений увеличилась незначительно (фон (75,88±4,57) уд/мин; стресс (79,89±5,23) уд/мин). Увеличение ИТ отражает увеличение степени напряжения регуляторных систем, указывает на преобладание активности центральных механизмов регуляции над автономными механизмами [18, 19, 23]. Увеличение ИТРТ в условиях стресса на 75,6 % указывает на значительный вклад гуморального компонента в формирование состояния напряжения, повышение уровня функционирования синусного узла в результате гуморальных влияний. В сопоставлении с относительно небольшим повышением частоты сердечных сокращений можно говорить о снижении активности симпатического отдела автономной нервной системы [18, 19]. Совместная оценка ИТ и ИТРТ позволила дифференцированно оценить соотношение и вклад различных звеньев аппарата управления сердечным ритмом, кроме того, она указывает на повышение роли парасимпатического отдела вегетативной нервной системы в результате снижения активации ее симпатического отдела у испытуемых с нормальной устойчивостью к эмоциональным стрессам, которой, по-видимому, обладают отобранные для легкой службы индивиды, входящие в исследуемую группу [18, 19, 23]. В состоянии «стресса ожидания» было отмечено снижение общей спектральной мощности (фон: 1798,59±661,48; стресс: 1594,04±936,03), спектральной мощности в области очень низких (VLF) и низких (LF) частот: VLF (фон: 320,72±151,71; стресс: 260,14±140,78) и LF (фон: 644,0±222,89; стресс: 427,46±172,84). При этом значение спектральной мощности в области HF достоверно не изменилось. После отмены стрессорного воздействия исследуемые показатели возвращаются к исходному уровню, достоверно не отличаясь от показателей в состоянии спокойно бодрствования.

Оценка энтропии Колмогорова–Синая динамических систем мозга в условиях эмоционального стресса

Энтропия Колмогорова–Синая – один из ключевых параметров нелинейной динамики. Как показали наши предыдущие исследования [11], по изменению ЭКС, по-видимому, можно определять локализацию нервного субстрата высших функций мозга в процессе их активации. Исходя из этого, мы провели сравнительное исследование параметров ЭКС у здоровых молодых мужчин в

состоянии покоя и в условиях «стресса ожидания» (таблица).

Следует отметить, что во всех изученных состояниях распределение ЭКС имеет свои особенности. Максимальные значения характерны для передних височных областей, справа и слева: фон (Т3: 12,65±2,12; Т4: 10,93±1,90); «стресс ожидания» (Т3: 10,75±2,67; Т4: 9,20±2,21); фон после стресса (Т3: 13,40±2,51; Т4: 11,56±2,23). Наименьшие значения характерны для передних лобных, париетальных и затылочных областей. В условиях кратковременного эмоционального стресса, по сравнению со спокойным бодрствованием, в ряде областей головного мозга было выявлено достоверное снижение ЭКС: в центральной и правой лобных областях: Fp2 на 17,5 % и Fp1 на 15,7 %; в передних височных областях: Т3 на 15,02 % и Т4 на 15,83 %; в париетальных областях P3 на 23,85 % и P4 на 24,41 % и правой затылочной области O2 на 29,07 %. При сравнении значений ЭКС в условиях эмоционального стресса и в состоянии после отмены ударов током можно наблюдать достоверное повышение или статистическую тенденцию к повышению ЭКС в большинстве областей, в которых наблюдалось ее снижение во время стресса, и в некоторых других близлежащих областях (Т3, Т4, Cz, P3, Pz, P4, T6, Oz, O2). Сравнение показателей, характерных для состояния спокойно бодрствования до и после стресса, свидетельствует об отсутствии достоверных отличий значений ЭКС в этих двух состояниях практически во всех областях головного мозга (за исключением Fp2 и Cz).

Обсуждение результатов. На основании исследования параметров сердечного ритма можно с уверенностью утверждать, что использованная в наших исследованиях модель «стресс ожидания» вызывала у испытуемых состояние эмоционального напряжения. У здоровых испытуемых формирование состояния «стресса ожидания», как правило, сопровождается переходом систем регуляции сердечно-сосудистой системы и всего организма на другой уровень функционирования. Снижается ВСП, умеренно повышается централизация управлением сердечного ритма, наблюдается умеренное снижение активности симпатического отдела вегетативной нервной системы и усиление за счет этого адаптивной активности парасимпатического отдела. Исходя из этого, мы получили возможность интерпретировать результаты анализа ЭКС, позволяющей оценить несколько свойств церебральных систем. ЭКС определяет количество информации, необходимое для прогноза поведения динамической системы мозга в будущем; дает метрическую оценку

Распределение значений энтропии Колмогорова–Синия по поверхности полушарий у здоровых мужчин (n=29) в состоянии покоя, в условиях «стресса ожидания» и после прекращения воздействия аверсивных раздражителей

| Отведение | Фон (1) | Стресс ожидания (2) | Фон после стресса (3) | 1-2 | | 2-3 | | 1-3 | |
|-----------|------------|---------------------|-----------------------|--------|-------|--------|--------|--------|-------|
| | | | | % | p | % | p | % | p |
| Fp1 | 5,29±0,95 | 4,95±0,97 | 4,99±1,04 | -6,43 | 0,64 | +0,81 | 0,59 | -5,67 | 0,21 |
| Fpz | 5,76±1,04 | 4,75±0,75 | 4,49±0,69 | -17,53 | 0,04* | -5,47 | 0,41 | -22,05 | 0,03* |
| Fp2 | 5,47±0,89 | 4,64±0,71 | 4,76±1,03 | -15,17 | 0,03* | +2,59 | 0,74 | -12,98 | 0,20 |
| F7 | 6,37±1,27 | 6,07±1,49 | 6,31±1,42 | -4,71 | 0,57 | +3,95 | 1 | -0,94 | 0,34 |
| F3 | 6,47±1,49 | 5,78±1,34 | 7,29±2,09 | -10,66 | 0,26 | +26,12 | 0,34 | +12,67 | 0,67 |
| Fz | 7,24±2,40 | 6,77±2,05 | 7,72±2,32 | -6,49 | 0,93 | +14,03 | 0,95 | +6,63 | 0,76 |
| F4 | 7,94±2,50 | 7,09±2,16 | 7,94±2,53 | -10,71 | 0,43 | +11,99 | 0,25 | 0 | 0,27 |
| F8 | 6,35±1,49 | 6,47±1,40 | 6,53±1,41 | +1,89 | 0,76 | +0,93 | 1 | +2,83 | 0,97 |
| T3 | 12,65±2,12 | 10,75±2,70 | 13,40±2,50 | -15,02 | 0,03* | +24,65 | 0,05* | +5,93 | 0,42 |
| C3 | 9,36±2,20 | 8,49±2,09 | 9,25±2,17 | -9,29 | 0,30 | +8,95 | 0,82 | -1,18 | 0,74 |
| Cz | 6,78±1,96 | 7,28±2,29 | 9,08±2,55 | +7,37 | 0,54 | +24,73 | 0,07* | +33,92 | 0,04* |
| C4 | 8,16±2,20 | 6,98±1,70 | 8,13±1,85 | -14,46 | 0,54 | +16,48 | 0,22 | -0,37 | 0,72 |
| T4 | 10,93±1,90 | 9,20±2,21 | 11,56±2,20 | -15,83 | 0,02* | +25,65 | 0,02* | +5,76 | 0,89 |
| T5 | 5,97±1,61 | 7,27±2,07 | 6,81±1,79 | +21,78 | 0,74 | -6,33 | 0,91 | +14,07 | 0,67 |
| P3 | 6,50±2,32 | 4,95±1,32 | 6,43±1,75 | -23,85 | 0,04* | +29,90 | 0,05* | -1,08 | 0,95 |
| Pz | 4,79±1,61 | 3,89±1,26 | 5,28±1,30 | -18,79 | 0,33 | +35,73 | 0,003* | +10,23 | 0,21 |
| P4 | 5,08±1,61 | 3,84±0,83 | 5,42±1,64 | -24,41 | 0,07* | +41,15 | 0,02* | +6,69 | 0,61 |
| T6 | 5,81±1,48 | 4,65±1,01 | 6,58±1,99 | -19,97 | 0,25 | +41,51 | 0,08* | +13,25 | 0,95 |
| O1 | 4,72±1,58 | 4,19±1,22 | 5,25±1,67 | -11,23 | 0,61 | +25,30 | 0,27 | +11,23 | 1 |
| Oz | 4,89±1,67 | 4,04±1,30 | 5,47±1,89 | -17,38 | 0,22 | +35,40 | 0,06* | +11,86 | 0,83 |
| O2 | 4,85±1,51 | 3,44±0,77 | 4,98±1,79 | -29,07 | 0,03* | +44,77 | 0,06* | +2,68 | 0,43 |

Примечание. Представлены абсолютные значения эКС, их изменение в процентах к исходному уровню и достоверность различий по непараметрическому критерию Вилкоксона для парных выборок (* достоверность различий или статистическая тенденция к различию).

степени хаотичности системы; дает возможность получить среднюю оценку, по которой информация производится системой; количественно оценить потерю текущей информации относительно системы и др. [24, 25].

В результате экспериментов нами был установлен диапазон значений эКС ЭЭГ у здоровых молодых мужчин в состоянии спокойного бодрствования, в условиях «стресса ожидания» и в состоянии покоя после отмены стрессового воздействия. Для каждого из этих состояний характерно типичное распределение эКС по поверхности полушарий головного мозга, что отражает хаотическую динамику функционирования, присущую динамическим системам мозга в процессе интегративной деятельности. Максимальные значения эКС соответствуют проекциям образований лимбической системы, которая принимает активное участие в формирова-

нии адаптивной деятельности головного мозга в состоянии покоя и в условиях эмоционального стресса.

Адаптивные процессы в головном мозге позволяют организму функционировать в абсолютно новых условиях. Основная роль в адаптации принадлежит информационным механизмам и функционированию эмоциональной регуляторной системы памяти, включающей структуры лимбической системы [26]. Применение методов детерминистского хаоса позволяет выявить и количественно оценить нерегулярное поведение, которое является характерной чертой биоэлектрической активности головного мозга. Использование нелинейного анализа временных рядов для анализа ЭЭГ дает новую информацию относительно динамики нейрональных сетей, ответственных за процессы, происходящие в мозге в состоянии покоя и стресса [12].

На основании полученных данных (особенностей изменений ЭКС при стрессе) можно сделать вывод, что в состоянии «стресса ожидания» происходит снижение количества активных параллельных функциональных процессов в мозге, что отражает процесс формирования поведенческой доминанты и системного торможения. Вовлекаются преимущественно ассоциативные области головного мозга. Достоверные изменения показателей в передних височных областях подтверждают участие в формировании состояния стресса эмоциогенных структур лимбической системы. Можно предположить, что в состоянии, вызванном «стрессом ожидания», снижаются возможности к самоорганизации, способность к формированию упорядоченных адаптивных диссипативных структур и, следовательно, способность к адаптации. При снижении кортикальной динамики организм переходит в «информационно-обедненное состояние», происходит снижение информационного резерва, что при значительном или продолжительном стрессовом воздействии может привести к «поломкам» регуляции.

При отмене стрессорного раздражения у физически и психически здоровых испытуемых происходит восстановление кортикальной динамики до исходного уровня, о чем свидетельствует достоверное повышение показателя ЭКС.

Важным результатом настоящего исследования является уменьшение значений ЭКС у здоровых испытуемых в условиях эмоционального стресса. Наши предыдущие исследования у здоровых испытуемых с повышенным уровнем тревожности выявили достоверно более высокий уровень ИТ, ИТРТ и ЭКС [11]. Еще более высокий уровень ИТ и ИТРТ (в десятки и сотни раз) и еще более высокие значения ЭКС у этих испытуемых по сравнению со здоровыми испытуемыми были обнаружены нами у больных шизофренией [27]. Возникло предположение, что увеличение ЭКС является неспецифическим параметром, отражающим наряду с ИТ состояние стресса. Однако исследование ЭКС в ус-

ловиях моделирования «стресса ожидания» опровергло это предположение и показало специфичность данного нелинейного параметра и возможность его использования для оценки состояния динамических систем мозга в различных ситуациях.

Выводы

1. Установлены типичные диапазоны значений энтропии Колмогорова–Синяя по ЭЭГ в симметричных областях полушарий головного мозга для здоровых молодых мужчин в состоянии спокойного бодрствования, в условиях эмоционального стресса, обусловленного «стрессом ожидания», и в состоянии покоя после отмены стрессового воздействия.

2. Результаты анализа вариабельности сердечного ритма показали, что использованная в наших исследованиях модель «стресса ожидания» вызывала выраженное, объективно фиксируемое напряжение систем регуляции.

3. В условиях «стресса ожидания», по сравнению со спокойным бодрствованием, в ряде областей головного мозга было выявлено достоверное снижение энтропии Колмогорова–Синяя (в центральной и правой лобных областях: передних височных, париетальных и правой затылочной), что указывает на формирование доминанты, которая возникает в жизненно важных ситуациях и отражает уровень устойчивости организма к эмоциональным стрессам.

4. Восстановление кортикальной динамики до исходного уровня, о чем свидетельствует достоверное повышение показателя энтропии Колмогорова–Синяя (ТЗ, Т4, Сз, РЗ, Рз, Р4, Т6, Оз, О2) при отмене стрессорного раздражения, указывает на нормальную устойчивость испытуемых к эмоциональным стрессам.

5. Энтропия Колмогорова–Синяя ЭЭГ является объективным количественным показателем изменения динамических характеристик ключевых структур мозга, которые принимают участие в формировании адаптивных процессов в условиях эмоционального стресса.

Литература

1. *Судаков К.В.* Системное построение функций человека. Инф. им. П.К. Анохина. РАМН. М., 1999. 15 с.
2. *Mayer E.A., Fanselow M.S.* Dissecting the components of central response to stress. *Nature Neuroscience* 2003; 6: 1011–1017.
3. *Mayorov O., Vedjiaev F.* Anticipation stress—neurodynamic, vegetative, ontogenetic aspects: XXII Intern. Congress of Psychologists. Leipzig, 1980; 2: 671–674.
4. *Ведяев Ф.П., Майоров О.Ю.* Нейрофизиологические механизмы подкрепления в условиях модели «стресс ожидания». Всесоюз. семинар с междунар. участием «Системные механизмы подкрепления». Дагомыс–Москва, 1986: 14–15.
5. *Mayorov O.Yu., Vedjiaev F.P.* Neurophysiologic mechanisms of the emotional stress forming in the modelled «anticipation stress». Second World Congress of Neuroscience. Budapest, 1987: 31.

6. *Chua Ph., Krams M., Toni I. et al.* A functional anatomy of anticipatory anxiety. *Neuroimage* 1999; 9: 563–571.
7. *Barlow D.H., Chorpita B.F., Turovsky J.* Fear, panic, anxiety and disorders of emotions. *Nebraska Symp. Motiv.* 1996; 43: 251–328.
8. *Izard C.E., Youngstrom E.A.* The activation and regulation of fear and anxiety. *Nebraska Symp. Motiv.* 1996; 43: 1321–24.
9. *Ведяев Ф.П., Майоров О.Ю.* Септальная область. БМЭ. Т. 23, 1983: 132–134.
10. *Майоров О.Ю., Вязовская О.В.* Состояние церебральной нейродинамики в условиях иммобилизационного стресса у крыс на основе оценки энтропии Колмогорова по ЭЭГ. *Вестн. нац. ун-та им. В.Н. Каразина. Сер. «Биология»* 2006; 748: 139–146.
11. *Майоров О.Ю., Фрицше Л.Н., Фрицше М.* Оценка энтропии Колмогорова–Синая по ЭЭГ у здоровых мужчин, с различной степенью общей тревожности. Там же: 147–152.
12. *Lehnertz K.* Non-linear time series analysis of intracranial EEG recordings in patients with epilepsy. An overview. *Intern. J. Psychophysiology* 1999; 34: 45–52.
13. *Гласе Л., Мэки М.* От часов к хаосу. Ритмы жизни. М.: Мир, 1991. 128 с.
14. *Chae J., Jeong J., Peterson B.S. et al.* Dimensional complexity of the EEG in patients with posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 2004; 131: 79–89.
15. *Майоров О.Ю., Вязовская О.В.* Влияние острого и хронического эмоционального стресса на уровень энтропии Колмогорова–Синая по ЭЭГ крыс. *Эксперим. і клін. медицина* 2006; 4: 32–37.
16. *Charman J.P., Charman L.J.* Handedness of hypothetically psychosis-prone subjects. *J. Abnormal Psychology* 1987; 96: 89–93.
17. *Simpson J.R., Drevets W.C., Snyder A.Z. et al.* Emotion-induced changes in human medial prefrontal cortex: During anticipatory anxiety. *PNAS* 2001; 98, 2: 688–693.
18. *Майоров О.Ю.* Модификация некоторых математико-статистических показателей сердечного ритма для компьютерной обработки ЭКГ при исследовании регуляторных систем: Проблемы и методы исследования в возрастной физиологии. Баку, 1987: 59–60.
19. *Майоров О.Ю.* Некоторые методические и методологические подходы к математическому анализу сердечного ритма в условиях эмоционально-напряженной деятельности и эмоционального стресса: Матер. Пленума проблемной комиссии АМН СССР «Механизмы системной организации физиологических функций». Курск, 1990: 81–88.
20. *Goldman D.* The clinical use of the «average» reference electrode in monopolar recording. *EEG and Clin. Neurophysiol.* 1950; 2: 209–212.
21. *Mayorov O.Yu., Fritzsche M., Glukhov A.B.* New neurodiagnostics technology for brain research on the basis of multivariate and nonlinear (deterministic chaos) analysis of an EEG: Achievements in Space Medicine into Health Care Practice and Industry 2003: 157–166.
22. *Mayorov O.Yu., Fritzsche M., Glukhov A.B. et al.* Applications for valuation nonlinear dynamics and chaos in EEG. *Technology and Informatics* 2003; 91.
23. *Mayorov O.Yu., Baevsky R.M.* Application of space technologies for validation of stress level. *Stud. Health Technol. Inform.* 1999; 68: 352–356.
24. *Grassberger P., Procaccia I.* Estimation of Kolmogorov entropy from a chaotic signal. *Phys. Rev.* 1983; 28: 2591.
25. *Kantz H., Schreiber T.* Nonlinear time series analysis. N.Y.: Cambridge University Press, 2000. 304 p.
26. *Симонов П.В.* Лекции о работе головного мозга. Потребностно-информационная теория высшей нервной деятельности. М.: Ин-т психологии РАН, 1998. 98 с.
27. *Timchenko L.N., Mayorov O.Yu., Fritzsche M. et al.* Disfunctional information processing during acute psychosis. 12th AEP Congress. Association of European Psychiatrists. Geneva. Switzerland, 2004: 78.

ОЦІНКА ЕНТРОПІЇ КОЛМОГОРОВА–СІНАЯ ПО ЕЕГ У ЗДОРОВИХ МОЛОДИХ ЧОЛОВІКІВ В УМОВАХ «СТРЕСУ ОЧІКУВАННЯ»

О.Ю. Майоров, Л.М. Фрицше, М. Фрицше, А.Б. Прогнимак, В.М. Фенченко

Встановлені характерні діапазони значень ентропії Колмогорова–Синая (еКС) по ЕЕГ в симетричних областях півкуль головного мозку у здорових молодих чоловіків у стані спокійного неспання, в умовах емоційного стресу (ЕС). Аналіз варіабельності серцевого ритму показав, що «стрес очікування» викликав виражене, об'єктивно фіксоване напруження систем регуляції. В умовах «стресу очікування» виявлено достовірне зниження еКС, що може вказувати на формування домінанти та системного гальмування, які виникають в життєво важливих ситуаціях та відображують, ймовірно, рівень стійкості організму до ЕС. Відновлювання кортикальної нейродинаміки після завершення стресорного подразнення вказує на нормальну стійкість досліджуваних до емоційних стресів. Зроблено висновок, що еКС по ЕЕГ є об'єктивним кількісним показником змін динамічних характеристик ключових структур мозку, які приймають участь у формуванні адаптивних процесів в умовах ЕС.

Ключові слова: емоційний «стрес очікування», нелінійний аналіз, ентропія Колмогорова–Синая, варіабельність серцевого ритму.

KOLMOGOROV–SINAI ENTROPY EEG ESTIMATION IN HEALTHY YOUNG MEN DURING «ANTICIPATION STRESS»***O.Yu. Mayorov, L.N. Fritzsche, M. Fritzsche, A.B. Prognimac, V.N. Fenchenko***

The typical limits of the Kolmogorov–Sinai entropy (eKS) EEG for symmetrical areas of the brain hemispheres in healthy young men during background activity and in the state of «anticipation stress» (AS) were indicated. HRV analysis indicated that «anticipation stress» induced tension of the regulatory systems. During «anticipation stress» compared to the «calm wakefulness» state there was significant reduction of KSe in a number of brain areas. It can show organization of the behavioral dominant and inhibition of non-significant processes. More significantly, upon cancellation of stress, in the healthy brain the cortex dynamics reestablished the basic level, as shown in a significant increase in KSe. This distribution reflects chaotic dynamics of the brain functioning upon the adaptive integrative activity during stress. In summary, EEG signals serve as reliable indicators of the state of the mind within the framework of non-linear information theory.

Key words: *emotional «anticipation stress», nonlinear analysis, Kolmogorov–Sinai entropy, variability of cardiac rhythm.*

Поступила 10.10.07

АЛЕКСИТИМИЯ КАК СИНДРОМ-ПРЕДВЕСТНИК СОМАТИЗАЦИИ И ПОДХОДЫ К ЕЕ КОРРЕКЦИИ

П.А. Цай

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Эффективность лечения больных с высоким уровнем соматизации и алекситимии в значительной степени зависит от феноменов внушаемости и гипнабельности, и подбор соответствующих форм взаимоотношений на основании суггестифеноменологических составляющих метода лечения играет решающую роль. У больных с сильно выраженной алекситимией индукция транс была бесперспективной, а у больных со слабо выраженной алекситимией характер эмоционального реагирования изменялся и уровень баллов приближался к уровню баллов группы здоровых людей, соответственно расширялся диапазон психотерапевтической коррекции методами недирективной психотерапии.

Ключевые слова: соматизация, алекситимия, недирективный подход, мозолистое тело, механизм психической защиты, психотерапевтическая коррекция, внушаемость.

Термин соматизация используется для обозначения процесса «отелеснивания» негативных эмоций, приводящего к нарушению функций внутренних органов.

Соматизация рассматривается как слом механизмов психологической защиты, «прорыв психологической обороны» [1, 2]. Соматизация – это не «ошибка» психологической защиты, а ее собственный продукт. Это результат действия именно механизмов защиты, но защиты несовершенной, выполняемой не сублимацией, а вытеснением. Соматизация – склонность к переживанию психологического стресса физиологическими атрибутами телесных органов, вследствие которой развиваются соматические нарушения [3]. Процесс этот происходит в определенной последовательности. Сначала подавляются неотрагированные отрицательные эмоции при внешнем сохранении невозмутимого выражения. В результате «задержанные» эмоции отражаются в телесной сфере с ипохондрической фиксацией в настроении. В дальнейшем, если подобный тип вытеснения эмоций неоднократно повторяется, возникают физиологические деструктивные, разрушительные процессы [3, 4]. К развитию соматизации ведут инфантильные особенности личности – пассивно сдерживаемая агрессия, завышенный уровень притязаний в сочетании с гневливой зависимостью. Концепция внутрипсихических представлений о структуре личности, представляется интересной. Согласно фрейдовской вертикальной модели психики – это конфликты Эго, сознательной части личности, с ее морально-критической и бессознательно-инстинктивной частями – Эго и Супер-Эго, Эго и Ид. Согласно К. Хорни [5], име-

ются три вида базовых установок – аттитюдов: стремление к людям, агрессия по отношению к людям и бегство от них. Ф. Перлз [6] внутренние конфликты представлял метафорически в виде борьбы двух полярных объектов личности: «собака сверху» и «собака снизу». И в этом личностном конфликте всегда побеждает «собака снизу», то есть «внутренний ребенок», неотрагированные эмоции подсознательной части личности.

Что касается внутриспсихического конфликта, то подсознание всегда находит брешь в психологической защите в тех охранительных барьерах, которые выстраивает сознание, пытаясь таким образом заставить подсознание идти навстречу вытесненным желаниям. И если сознание упорно не соглашается, сопротивляется, возникают нервные срывы, депрессии и психосоматические расстройства.

Еще одной из личностных особенностей, являющихся фундаментом соматизации, является психическое расстройство у некоторых субъектов, которые дезориентированы в отношении своих эмоциональных отклонений из-за отсутствия акта сенсорного осознания. Проявление соматизации представляет собой не что иное, как сигналы подсознания, его символические послания на «языке тела», отвергаемые механизмами сознательной цензуры. Мы считаем, что психологическими механизмами коррекции на сознательном уровне без гипнотической атрибуции и коммуникации невозможно добиться осознания скрытого смысла этого послания [7–9]. Тип нарушения с эмоциональным отклонением на сенсорном уровне подсознания П. Сифнеосом в 1973 г. был назван алекситимией [8, 10].

Алекситимические проявления принято считать доклиническим синдромом, который определяется этиогенетическим фактором развития психосоматической деструкции в системе отношения сознания и тела. С точки зрения кортико-висцеральной теории Быкова–Курцина, усовершенствованной А.М. Вейном [11], синдром алекситимии следует рассматривать как своеобразную форму нарушения энергетического взаимодействия между правым и левым полушариями мозга, а также между внутренними ассоциативно-творческими областями одного полушария [12].

Симптом нарушения межполушарной асимметрии при алекситимии выражается в отсутствии у больного эмоциональной открытости, аутентичности, способности проявлять сочувствие и понять на эмоциональном уровне переживания другого человека. У больного синдромом алекситимии отсутствует способность к фантазированию из-за несовершенства образного мышления, он не способен визуализировать предметы и явления окружающего мира. На почве неспособности индивидов к процессам идентификации и конгруэнтному отношению нарушается эмоциональный контакт с людьми. Такие пациенты не могут поддерживать теплые душевные отношения, устойчивые взаимоотношения, лишены способности пользоваться символами, не понимают метафор, тип мышления у них «утилитарный», «конкретный», «механистичный». В семантической модели речи пациентов отсутствует колоритность, иносказательность. Из-за эмоциональной «зажатости» они склонны скрывать свои чувства, не могут выразить их словами, поэтому неотраженные эмоции на психологическом уровне проявляются в физиологическом процессе и в этиопатогенетическом векторе становятся аналогом соматизации, играя главенствующую роль в развитии психосоматического заболевания [3, 4].

Томографическими исследованиями у пациентов с синдромом алекситимии обнаружены морфологические нарушения мозолистого тела – связующего моста между полушариями мозга, через которое происходит энергоинформационный обмен между правым и левым полушариями. Не вызывает сомнения, что в основе нарушений эмоциональных контактов, невозможности отреагировать на уровне осознания лежат микроструктурные повреждения подкорковых субстанций мозга [8]. В связи со сказанным актуальной проблемой является разработка адекватных подходов в психотерапии, направленных на повышение качества лечения психосоматических заболеваний. Наши разработки показывают, что эффективность

применяемых методов психотерапии (директивных и недирективных) зависит в большей степени от феноменов внушаемости и гипнабельности больных, поэтому мы обозначили в качестве цели решение вопросов, связанных с определением особенностей взаимоотношения врача с больными, акцентированными высоким уровнем алекситимии. На основании того, что алекситимия является продуктом нарушения межполушарного взаимодействия и в основном это имеет отношение к функции правого полушария [13], мы предположили, что у пациентов с высоким уровнем алекситимии должны быть проблемы с развитием трансового состояния, ибо транс – прерогатива функции правого полушария [14]. Определяли количественные соотношения гипнотических составляющих у пациентов по суггестифеноменологическим тестам и типу доминантного полушария у них, для чего провели сравнительную оценку уровня алекситимии в баллах с факторами внушаемости и гипнабельности пациентов.

Материал и методы. Обследовано 50 человек, из них 7 – с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, 7 – с неспецифическим язвенным колитом, 10 – с неспецифическим ревматоидным полиартритом, 6 – с бронхиальной астмой, 10 – с вегетативной дистонией невротического генеза. Среди обследованных было 28 мужчин и 22 женщины, средний возраст которых составлял 36 и 26 лет соответственно. В контрольную группу вошли 32 здоровых человека. Для определения уровня алекситимии использовали специальный опросник – Торонтскую алекситимическую шкалу, апробированную в институте им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург [15]. Пользуясь данной шкалой, определили сумму баллов, характеризующую итоговый уровень алекситимии. С целью верификации критериев внушаемости и гипнабельности применили методики, позволяющие определять способности больных визуализировать внушенный образ при индукции транса и тип доминантного полушария [9].

Результаты и их обсуждение. Больные распределились следующим образом. С левополушарной доминантой – 25 пациентов, смешанной – 23, правополушарной – 2.

Известно, что правое полушарие специализировано на художественном эмоциональном переживании событий, пространственном зрительном восприятии, а левое – больше на речевой, языковой функции в логическом отражении реальности. Исследования больных с расщепленным и нерасщепленным мозгом [16] подтвердили роль правого

полушария в выполнении творческого, интуитивного мышления, образного представления, а также в метафорической, непоследовательной, абстрактной, целостной, вневременной рефлексии явлений природы и событий в обществе.

Для определения доминантного полушария мы использовали данные психолога Поля Бэкона [16], который говорил о расположении в лобной доле контрлатерального полушария. Люди, отводящие глаза влево, – это люди, у которых доминирует правое полушарие, отводящие глаза вправо, напротив, – левое полушарие. Направление движения глаз, по данным исследования [16], стали рассматривать как стабильную характеристику индивидуумов, как показатель активности полушарий мозга и связанных с ними боковых движений глаз. Таким образом, избирательная активация правого и левого полушарий отражается соответственно в правых и левых боковых движениях глаз под воздействием стимульных сигналов.

Исследование показало: внушаемость по тестам отсутствует – 26 чел., очень слабая – 14, слабая – 4, средняя – 2, отличная – 2, исключительная – 2 чел.

Показатели алекситимии у больных: у 30 – 94,2 балла, у 20 – 81,2 балла. У всех лиц контрольной группы – 58,1 балла.

Пациенты, у которых уровень алекситимии был высоким (94,2 балла), отличались от здоровых лиц контрольной группы дефицитом образного мышления, скудостью воображения, непониманием переносного смысла поговорок, пословиц, у них не было друзей, кумиров, авторитетов. Отсутствовала внушаемость, и в гипнотический транс они не входили в течение 12 сеансов. У пациентов с уровнем алекситимии 81,2 баллов внушаемость была слабой, однако в процессе психотерапии она постепенно увеличивалась, и к 12-му сеансу пациенты начали погружаться в первую и вторую стадии гипнотического транс.

Принято выделять три стадии гипноза: легкий гипноз, средний и глубокий. Эта классификация была предложена В.М. Бехтеревым и в дальнейшем разработана Форелем, Е.В. Рожновым и др.

В первой стадии пациент находится в легком дремотном состоянии, связь с окружающим не теряет, может открывать глаза

Литература

1. *Бассин Ф.В., Прангишвили А.С., Шерозия А.Е.* Роль неосознаваемой психической деятельности в развитии и течении соматических клинических симптомов. Бессознательное: природа функции, методы исследования. Т. 2. Тбилиси, 1978: 195–215.
2. *Сандолмирский М.Е., Белгородский Л.С.* Физиологическая возрастная регрессия как основа функциональных состояний, связанных с измененными состояниями сознания. Парапсихология и психофизика 1998; 2 (25): 110–112.

по собственному желанию, спящим себя не считает. Во второй стадии пациент находится в состоянии выраженной сонливости, ориентировка сохранена, наблюдается восковая гибкость мышц, открыть глаза, пошевелить конечностями не желает. Считает себя спящим. В третьей стадии пациент находится в глубоком «сне», во внешней обстановке не ориентируется, наблюдается полная амнезия, галлюцинаторные переживания, возрастная регрессия, потеря болевой чувствительности, зрительная агнозия и т.д. [17].

Анализ выборки сопоставленных результатов исследования показал, что между алекситимическим типом личности и феноменом внушаемости и гипнабельности существует корреляционная зависимость. У больных с высоким уровнем алекситимии пробы на внушаемость и гипнабельность были отрицательными, индукция трансового состояния затруднена, и больные в гипнотический транс не погружались, однако в ходе психотерапевтических занятий характер отреагирования эмоциональных переживаний изменялся в результате конгруэнтных межличностных отношений врача с пациентом. И по мере развития трансформационного состояния сознания уровень баллов алекситимии приближался к уровню баллов в контрольной группе здоровых людей.

Выводы

Между алекситимическим типом личности и феноменом гипнабельности существует психофизиологическая зависимость. Психокоррекционная тренировка по развитию гипнотического состояния сознания посредством кинестетической модальности репрезентативной системы снижает уровень алекситимии. Выбор методов и подходов психотерапии следует проводить с учетом доминантности полушарий мозга.

Предпочтительнее проводить психотерапию психодинамического, когнитивно-бихевиорального направления, а также прямое гипнотическое внушение с предметным опосредованием.

В перспективе изучение вопросов алекситимии в аспекте межполушарной асимметрии поможет ориентировать научный поиск в направлении решения саногенеза психосоматических заболеваний с разработкой системы методов недирективной психотерапии.

3. Холмогорова А.Б., Гаранян Н.Г. Соматизация – история понятия, культуральные и семейные аспекты, объяснительные психотерапевтические модели. Московск. психотерапевт. журн. 2000; 2: 5–50.
4. Тополянский В.Д., Струковская М.В. Психосоматические расстройства. М.: Медицина, 1986. 384 с.
5. Хорни К. Наши внутренние конфликты. Конструктивная теория невроза. СПб.: Лань, 1997. 240 с.
6. Перез Ф. Практика гештальт-терапии. М.: Ин-т общегуманитарных исследований, 2001. 480 с.
7. Джендлин Ю. Фокусирование. Новый психотерапевтический метод работы с переживаниями. М.: Независимая фирма «Класс», 2002. 448 с.
8. Сандомирский М.Е. Психосоматика и телесная психотерапия: Практич. руководство. М.: Независимая фирма «Класс», 2003: 82–84.
9. Цай П.А. Альтернативная гипнотерапия: Руководство по недирективной индукции транса. Харьков: Гриф, 2003: 119–170.
10. Малкина-Пых И.Г. Психосоматика: Новейший справочник. М.: ЭКСМО–СПб.: Сова, 2003: 48–50.
11. Вейн А.М., Колосова О.А. Психовегетативные отношения в норме и патологии. Физиология человека 1975; 1, 3: 565–569.
12. Быков К.М., Курцин И.Т. Кортико-висцеральная патология. Л.: Медгиз, 1960: 485–503.
13. Зденек М. Развитие правого полушария. Пер. с англ. Минск: ООО «Попурри», 1997. 320 с.
14. Зейг Джеффри. Мастер гипноза, психотерапевтические манипуляции Милтона Эриксона. Пер. с англ. М.: Независимая фирма «Класс», 1998. 190 с.
15. Райгородский Д.Я. Практическая психодиагностика. Методики – тесты: Учеб. пособие. Самара: Изд. дом «Бахрах – М», 2002: 153–157.
16. Спрингер С., Дейч Г. Левый мозг, правый мозг. Пер. с англ. М.: Мир, 1983: 73–163, 92–96.
17. Кондрашенко В.Т., Донской Д.И., Игумнов С.А. Общая психотерапия: Руководство для врачей. 5-е изд. М.: Изд-во Ин-та психотерапии, 2001: 67–69.

АЛЕКСИТИМИЯ ЯК СИНДРОМ-ПЕРЕДВІСНИК СОМАТИЗАЦІЇ І ПІДХОДИ ДО ЇЇ КОРЕКЦІЇ

П.О. Цай

Ефективність лікування хворих з високим рівнем соматизації і алекситимії значною мірою залежить від феномену навіюваності і гіпнабельності, і підбір відповідних форм взаємовідносин на основі сугестофеноменологічних складових методу лікування відіграє вирішальну роль. У хворих із сильно вираженою алекситимією індукція трансу була безперспективною, у хворих із слабо вираженою алекситимією характер емоційного реагування змінювався і рівень балів наближався до рівня балів груп здорових людей, відповідно розширювався діапазон психотерапевтичної корекції методами недирективної психотерапії.

Ключові слова: соматизація, алекситимія, недирективний підхід, мозолисте тіло, механізм психічного захисту, психотерапевтична корекція, навіюваність.

ALEXITHYMIA AS A SYMPTOM OF SOMATIZATION, AND METHOD ITS CORRECTION

P.A. Tsai

Therapy effectiveness in cases when patients have a high level of somatization and alexithymia mostly depends on suggestibility and hypnoability phenomena, and the correct choice of appropriate forms of interaction basis on suggestive phenomenological components of the therapy method plays a pivotal role. Trance output during treatment of the patients with high alexithymia was unpromising, while the character of emotional reactions of the patients with low alexithymia changed and the score of alexithymia points approached the one that a control healthy group had; correspondingly the range of psychotherapeutic correction by methods of non-directive psychotherapy extended.

Key words: somatization, alexithymia, non-directive method, mechanism of psychic defence, corpus callosum, psychotherapeutic correction, suggestibility.

Поступила 16.11.07

АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

ВПЛИВ ЗАГАЛЬНОГО ЗНЕБОЛЮВАННЯ ТА ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ
НА ДИНАМІКУ РІВНЯ ЛАКТАТУ І ПІРУВАТУ У ХВОРИХ
З ГОСТРОЮ ШЛУНКОВО-КИШКОВОЮ КРОВОТЕЧЕЮ

О.О. Павлов

Харківський національний медичний університет

Визначено вплив різних методів загального знеболювання та схем інтенсивної терапії на вміст показників кисневого статусу – лактату і пірувату. Зроблено висновки про доцільність використання розробленої стратегії анестезії та інтенсивної терапії (тіоцетам + ентеральне харчування) з метою профілактики гіпоксичних станів, що супроводжують гостру шлунково-кишкову кровотечу.

Ключові слова: гостра крововтрата, лактат, піруват, анестезія, інтенсивна терапія.

Гіпоксія, що виникає внаслідок гострої кровотечі, та засоби її запобігання за допомогою анестезіологічного забезпечення і інтенсивної терапії є однією з основних проблем при лікуванні гострої крововтрати [1]. Порушення окисних процесів при різних патологічних станах є основним синдромом, що формує численні морфофункціональні зміни. Кисневий метаболізм прямо зв'язаний з адаптаційною реакцією організму, лімітування чи надмірна стрес-відповідь котрої викликає дисфункцію багатьох систем організму, і тоді причина, що викликала дані зміни (кровотеча), відступає як би на інший план [2, 3]. Підтримка адекватного системного і регіонарного транспорту кисню при гострій кровотечі є найважливішою задачею сучасних анестезіологічних заходів [4–7].

Метою даного дослідження було визначення впливу різних схем загального знеболювання та інтенсивної терапії на динаміку рівня лактату і пірувату крові як одного з показників кисневого статусу організму.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на базі Інституту загальної та невідкладної хірургії АМН України. Обстежено 120 хворих з гострою шлунково-кишковою кровотечею з об'ємом крововтрати не менш 30 % і ОЦК не більш 50 % (90 чоловіків і 30 жінок). Середній вік хворих склав (48,9±5,0) років. Використано три види наркозу: мононаркоз кетаміном (1–3 мг/кг); наркоз комбінацією пропофол [(4,28±0,24) мг/(кг·год)] + фентаніл [(0,003±0,0006) мг/(кг·год)], комбінацією тіопентал натрію (TiNa) (1–2 мг/кг) + гама-оксимасляна кислота (ГОМК) (100 мг/кг) +

фентаніл (10 мкг/кг). Усіх хворих розподілено на чотири групи: контрольну – з використанням нейропротектора тіоцетам (внутрішньовенно крапельно по 20 мл препарату, що розчинений у 100 мл ізотонічного розчину NaCl, 1 раз на добу); з раннім ентеральним харчуванням (сумішшю «Нутрилон» зі швидкістю 50 мл/год); з використанням розробленої стратегії анестезіологічного забезпечення та інтенсивної терапії, яка полягала у комбінованому використанні тіоцетаму та раннього ентерального харчування [8]. Рівень лактату і пірувату визначали спектрофотометричним методом на основі оптичного тесту Варбурга. Принцип методу засновано на різності спектрів поглинання пірувату і лактату. Хворим кожної групи виконували по три види наркозу.

Результати. Динаміка рівня лактату і пірувату наведена в таблиці. Дані таблиці свідчать, що початковий етап гострої крововтрати супроводжується зростанням обох показників крові в усіх групах дослідження. У пацієнтів з мононаркозом кетаміном + тіоцетам на початковому етапі дослідження відмічено зростання ($p < 0,1$) величини лактату крові на 13,3 % і пірувату крові на 10,5 % у порівнянні з верхньою границею норми. У пацієнтів з мононаркозом кетаміном + ентеральне харчування на даному етапі дослідження відмічено зростання ($p < 0,05$) рівня лактату на 20 %, пірувату крові на 12,9 %. У пацієнтів з мононаркозом кетаміном + розроблена стратегія, як і в інших групах з використанням кетаміну, відмічено зростання ($p < 0,01$) рівнів лактату на 33,3 %, пірува-

Динаміка рівня лактату і пірувату в досліджуваних групах, ($M \pm t$) ммоль/л

| Група хворих | Початковий період | Травматичний етап операції | Кінець операції | 3-тя доба | 5-та доба | 10-та доба | 30-та доба |
|-------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Лактат</i> | | | | | | | |
| Мононаркоз кетаміном | | | | | | | |
| + тіоцетам | 1,7±0,4 [#] | 2,2±0,7 | 2,3±1,1 | 1,6±0,8 [^] | 1,4±0,6 [#] | 1,4±0,6 | 1,4±0,6 |
| + ентеральне харчування | 1,8±1,1 | 2,3±0,7* | 2,4±1,0* | 1,6±0,8 | 1,5±0,8 | 1,7±1,1 [^] | 1,0±0,5 |
| + розроблена стратегія | 2,0±0,9 | 2,4±0,7* | 2,7±1,1 | 1,6±0,8 [#] | 1,4±0,8 | 1,4±0,8 | 1,4±0,8* |
| Пропофол + фентаніл | | | | | | | |
| + тіоцетам | 1,9±0,9 [#] | 1,72±0,30 | 1,7±0,4 | 1,6±0,8 | 1,6±0,8 [#] | 1,6±0,8 [^] | 1,6±0,8 |
| + ентеральне харчування | 2,0±0,7 | 1,8±0,8* | 1,6±0,4 | 1,3±0,2 | 1,3±0,2 | 1,3±0,2 | 1,3±0,2* |
| + розроблена стратегія | 1,9±0,6 | 1,8±1,0 [#] | 1,6±0,3 | 1,1±0,5 [#] | 1,1±0,5 [#] | 1,1±0,5 | 1,1±0,5 |
| TiNa + ГОМК + фентаніл | | | | | | | |
| + тіоцетам | 2,2±0,9 [#] | 2,2±0,9 | 2,4±0,4 [^] | 1,5±0,5 | 1,0±0,9 | 1,7±0,3 | 1,7±0,3 [^] |
| + ентеральне харчування | 2,1±0,4 | 2,1±0,5* | 2,1±1,1 | 1,7±0,5 [^] | 1,7±0,5 [^] | 1,7±0,5 | 0,9±0,1 |
| + розроблена стратегія | 66,0±6,0* | 2,1±0,8 | 1,8±0,5 [^] | 1,4±0,5* | 1,4±0,5 | 1,4±0,5 | 1,4±0,5 |
| <i>Піруват</i> | | | | | | | |
| Мононаркоз кетаміном | | | | | | | |
| + тіоцетам | 188±26 | 197±11 | 207±39 | 182±28 [#] | 167±8 | 167±8 | 167±8 [^] |
| + ентеральне харчування | 192±73 | 201±19* | 213±68 [^] | 180±2 | 176±10* | 180±15 | 118±32 |
| + розроблена стратегія | 194±38 [#] | 206±23 | 217±21 | 169±11 | 155±10 | 155±10 | 155±10 [#] |
| Пропофол + фентаніл | | | | | | | |
| + тіоцетам | 198±32 | 179±11 | 179±21 [^] | 169±28 | 169±28 | 103±28 [#] | 109±28 |
| + ентеральне харчування | 183±31 | 182±10* | 175±6 | 118±19 [^] | 95±19 | 95±11 | 95±12* |
| + розроблена стратегія | 190±29 [#] | 186±21 | 170±21 | 89±21 | 89±21 | 89±21 | 89±21* |
| TiNa + ГОМК + фентаніл | | | | | | | |
| + тіоцетам | 180±12 [#] | 187±34 | 187±11 [^] | 172±2 | 163±5 | 163±5 | 163±5 [^] |
| + ентеральне харчування | 2,1±0,4 | 191±44 [^] | 191±44 | 153±10 [^] | 153±10* | 153±10 | 91±19 |
| + розроблена стратегія | 187±10 | 196±21 | 186±21* | 159±11* | 159±11 | 159±11 [#] | 159±11 |

Примітка. p<0,05; * відносно групи з тіоцетамом; # відносно групи з ентеральним харчуванням; ^ відносно групи з розробленою стратегією.

ту – на 14,1 %. У пацієнтів з наркозом комбінацією пропофол + фентаніл + тіоцетам на

початку дослідження відмічено зростання (p<0,05) рівня лактату на 26,6 % у порів-

нянні з верхньою границею норми, пірувату крові на 16,4 %. У пацієнтів з наркозом комбінацією пропофол + фентаніл + ентеральне харчування, як і у пацієнтів попередньої групи, відмічено зростання рівня лактату на 33,3 %, пірувату – на 7,6 % у порівнянні з нормою. В групі пацієнтів, що отримували наркоз комбінацією пропофол + фентаніл + розроблена стратегія, як і у пацієнтів інших груп, де використовувалася така сама комбінація, відмічено зростання рівнів лактату крові на 26,6 %, пірувату – на 11,7 % у порівнянні з нормою. У пацієнтів з наркозом TiNa + ГОМК + фентаніл + тиоцетам констатовано підвищення рівня лактату на 46,6 %, пірувату – на 5,8 %.

В групі пацієнтів, що отримували наркоз комбінацією TiNa + ГОМК + фентаніл + ентеральне харчування, на початку дослідження вміст лактату підвищився на 40 %, пірувату – на 12,3 %. У пацієнтів з наркозом комбінацією TiNa + ГОМК + фентаніл + розроблена стратегія ці показники зросли на 26,6 і 10,0 % відповідно. Протягом наступних двох етапів дослідження в усіх групах пацієнтів з мононаркозом кетаміном та наркозом комбінацією TiNa + ГОМК + фентаніл відмічено аналогічну тенденцію до зростан-

ня вмісту лактату і пірувату. А в групі пацієнтів з наркозом комбінацією пропофол + фентаніл + ентеральне харчування та пропофол + фентаніл + розроблена стратегія відмічено зниження рівня лактату в крові на 13,3 та 6,6 % відносно попереднього етапу. Протягом 3-ї доби в усіх групах пацієнтів, де було використано розроблену стратегію, відмічено позитивну динаміку щодо зміни рівня лактату і пірувату крові. У подальшому показники повертаються в межі норми, але в групах з використанням раннього ентерального харчування це відбувається в останню чергу – на 10–30-ту добу дослідження.

Висновки

Гостра крововтрата супроводжується пригніченням показників кисневого статусу – лактату і пірувату.

На динаміку показників лактату і пірувату крові позитивно впливає розроблена нами стратегія анестезії та інтенсивної терапії, що полягає у комбінованому використанні тиоцетаму та раннього ентерального харчування.

Мінімальний вплив на динаміку показників лактату і пірувату відмічено при використанні раннього ентерального харчування.

Література

1. Черний В.И., Новикова Р.И. Алгоритмы для врача-анестезиолога при критических состояниях в анестезиологии и интенсивной терапии. Донецк, 2000. 345 с.
2. Симоненков А.П., Федоров В.Д. О генезе нарушений микроциркуляции при тканевой гипоксии, шоке и диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови. Анестезиол. и реаниматол. 2003; 1: 3–8.
3. Тарнопольский А.М., Штутин С.А. Современные методы коррекции гемодинамических расстройств при шоке: Тез. докл. конф., посв. 75-летию проф. Л.Г. Завгороднего. Брянск, 1994: 23–29.
4. Thiagarajah S. Anaesthetic management of neurosurgical procedures. Anaesthesiology 2001; 1: 277–281.
5. Lundgren O. Physiology of the intestinal circulation. Splanchnic ischemia and multiple organ failure. Critical Care 2006; 23: 29–40.
6. Lutz L.J., Milde J.H., Milde L.N. The cerebral functional, metabolic and hemodynamic effects of isoflurane. Anesthesiology 2000; 74: 575–580.
7. Robert G.H. Physiological or functional fluid spaces. Anesth. Analg. 2002; 95: 251–252.
8. Пат. UA№28031 U. Процес проведення анестезії та інтенсивної терапії. О.О. Павлов. Опубл. 26.11.07. Бюл. 2007, №19.

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕГО ОБЕЗБОЛИВАНИЯ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ДИНАМИКУ УРОВНЯ ЛАКТАТА И ПИРУВАТА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫМ КРОВОТЕЧЕНИЕМ

А.А. Павлов

Определено влияние различных методов общего обезболивания и интенсивной терапии на содержание показателей кислородного статуса – лактата и пирувата. Сделан вывод о целесообразности использования разработанной стратегии анестезии и интенсивной терапии (тиоцетам + энтеральное питание) с целью профилактики гипоксических состояний, сопровождающих острое желудочно-кишечное кровотечение.

Ключевые слова: острая кровопотеря, лактат, пируват, анестезия, интенсивная терапия.

INFLUENCE GENERAL ANALGESIA AND INTENSIVE THERAPY ON DYNAMICS OF A LEVEL LACTATE AND PIRUVATE AT PATIENTS WITH ACUTE GASTROILEUMS

А.А. Павлов

In research the influence of various methods general analgesia and intensive therapy on the contents of parameters of the oxygen status – lactate and piruvate is determined. Is made conclusions about expediency of use of the developed strategy of anaesthesia and intensive therapy (thiocetam + enteral diet) with the purpose of preventive maintenance hypoxia of condition accompanying acute gastroileums a bleeding.

Key words: acute loose blood, lactate, piruvate, analgesia, intensive therapy.

Поступила 05.06.07

СТОМАТОЛОГІЯ

ХАРАКТЕР ПРЕПАРИРОВАНИЯ ПРЕМОЛЯРА ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПОД КЕРАМИЧЕСКУЮ КОРОНКУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕСТА ФОРМИРОВАНИЯ ПРИДЕСНЕВОГО УСТУПА

Б.В. Левин

Харьковский национальный медицинский университет

Исследованы размер и характер препарирования первого премоляра верхней челюсти под керамическую коронку в зависимости от места размещения придесневого уступа. Сделан вывод, что чем дальше от режущего края размещается край искусственной коронки, тем больший объем тканей зуба придется удалить в процессе препарирования. Даны рекомендации по препарированию зубов под полную керамическую коронку.

Ключевые слова: десневой край, эмалево-цементная граница, придесневой уступ керамической коронки.

Показание к протезированию искусственной коронкой вызвано необходимостью восстановления нормальной анатомии и эстетики коронковой части зуба, утерянного вследствие патологического состояния зубов или врожденных аномалий твердых тканей зуба [1, 2]. Препарирование под искусственную коронку должно отвечать принципам минимального вмешательства с целью максимального сохранения твердых тканей зубов как элемента, выполняющего опорно-удерживающую роль в биомеханической системе «корень – культя зуба – искусственная коронка» [2]. Одной из целей препарирования под искусственную коронку должно быть сохранение витальности зуба. Зубная пульпа выполняет пластическую, трофическую, регуляторную и защитную функции [3], поэтому ее значение колоссальное. Сохранение витальности зуба также зависит от объема препарированных твердых тканей зуба [4].

В настоящее время большое распространение получили металлокерамические коронки (МК): они отвечают высоким эстетическим требованиям и одновременно являются высокопрочными [1, 2]. В работах, посвященных описанию методик препарирования под металлокерамическими коронками, подробно рассматриваются следующие вопросы: возможность наложения коронки на протезное ложе, техническая возможность получения точного соответствия внутренней поверхности металлического колпачка и культи зуба, условия достижения высокой эстетики восстанавливаемого зуба [1, 2, 4, 5]. Од-

нако вопрос размещения края коронки требует, на наш взгляд, дальнейшего изучения. Металлокерамические коронки обладают оптическими свойствами, не присущими естественным зубам [6], поэтому граница перехода (в области придесневого уступа) искусственной коронки в ткани зуба всегда очень заметна. Чтобы сделать ортопедическую конструкцию максимально эстетичной, врач размещает край препаровки (придесневой уступ) в глубине зубодесневой борозды. Во избежание развития маргинального пародонтита глубина расположения края коронки относительно края десны не должна превышать 0,5 мм [7].

В своей практике стоматолог должен учитывать индивидуальные особенности пациента, обусловленные в первую очередь возрастом. У молодых и пожилых пациентов уровень размещения края десны относительно анатомических ориентиров зуба сильно различается. И если одной из целей препарирования является размещение края металлокерамической коронки в глубине зубодесневой борозды, то следует учитывать, что для пожилых пациентов из-за возрастных изменений (рецессии десны) требуется кардинальное изменение характера препарирования зуба.

Как показывает практика, люди преклонного возраста чаще нуждаются в восстановлении зубов с помощью искусственных коронок. Кроме того, с возрастом их проблемы с зубами усугубляются, поэтому необходимо более обширное стоматологическое вмешательство. Чем старше человек, тем более

вероятно наличие у него патологии полости рта, требующей лечения с использованием зуботехнических конструкций. Практикующему врачу необходимо иметь четкие ориентиры для препарирования зубов под металлокерамические коронки у пациентов разных возрастных групп.

Целью настоящего исследования было изучить характер препарирования первого премоляра верхней челюсти под керамическую коронку в зависимости от места размещения придесневого уступа.

Материал и методы. Изучали зубы, удаленные по ортодонтическим показаниям: 10 двухкорневых премоляров верхней челюсти. Рентгенограммы каждого зуба делали в двух проекциях: с вестибулярной и проксимальной поверхности (рисунок, А, а и Б, а). Далее по рентгенограмме обрисовывали контуры зуба, контуры полости зуба и контуры эмали (рисунок А, б и Б, б). Размеры полученных изображений соответствуют размерам естественных зубов (масштаб 1 : 1). Поверх изображения зуба в проекциях с вестибулярной и проксимальной поверхности были нанесены контуры необходимого препарирования под керамическую коронку с размещением придесневого уступа:

на 1 мм ниже уровня эмалево-цементной границы (ЭЦГ) (рисунок, А, в и Б, в);

на уровне ЭЦГ (рисунок, А, г и Б, г);

на 1 мм выше уровня ЭЦГ (рисунок, А, д и Б, д);

на 2 мм выше уровня ЭЦГ (рисунок, А, е и Б, е);

на 3 мм выше уровня ЭЦГ (рисунок, А, ж и Б, ж).

Для каждого варианта препарирования зуба (с различным размещением придесневого уступа относительно ЭЦГ) принципы препарирования тканей были одинаковы: пла-

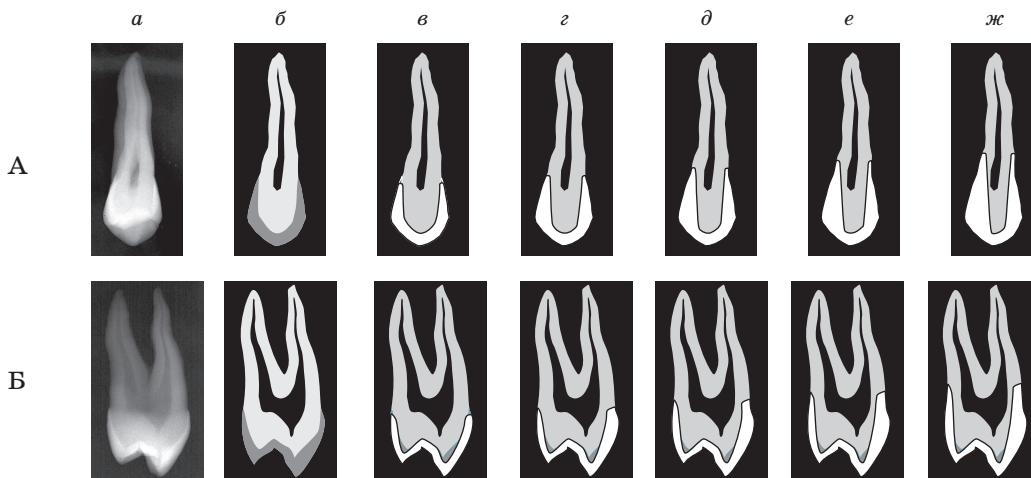
нируемое удаление тканей с вестибулярной поверхности – 1,5 мм, с небной и жевательной – 1,0 мм; величина придесневого уступа на вестибулярной поверхности – 1,2 мм, на оральной – 0,5 мм, на проксимальных поверхностях – 0,5 мм; форма культи зуба соответствует конусности 8° . Кроме того, полагалось важным, чтобы планируемая культя зуба не имела поднутрений, препятствующих наложению коронки на протезное ложе.

Далее по схеме определяли процентное соотношение площади, ограничивающей препарируемые ткани (на схеме обозначена белым цветом), и общей площади твердых тканей зуба (обозначена темно-серым – эмаль зуба и светло-серым – дентин зуба цветом).

Для каждого варианта препарирования было определено среднее значение объема удаляемых твердых тканей зуба, а также минимальное расстояние от поверхности культи зуба до пульповой камеры для каждого случая (таблица).

Результаты и их обсуждение. Проведенное исследование подтвердило, что количество тканей, препарируемых под металлокерамические коронки, напрямую зависит от того, на каком уровне относительно ЭЦГ стоматолог размещает край коронки.

Чем выше (то есть чем дальше от жевательной поверхности) врач-стоматолог размещает границу препарирования, тем больший объем тканей придется удалить в процессе препарирования (таблица). Так, при перемещении придесневого уступа в сторону апикальной части корня объем препаровки возрастает на 2–3 % на каждый миллиметр перемещения. Самый большой прирост объема удаляемых тканей приходится на участок, где край препарирования (придесневой уступ) перемещается врачом выше и пересе-



Изображение премоляра верхней челюсти:
А – вид с вестибулярной поверхности; Б – с проксимальной

Объем препарированных твердых тканей зуба под металлокерамические коронки и минимальное расстояние от внутренней поверхности металлокерамических коронок до пульповой камеры при различном размещении придесневого уступа коронки относительно эмаledo-цементной границы (ЭЦГ)

| Характеристика | Размещение придесневого уступа относительно ЭЦГ | | | | |
|--|---|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | на 1 мм ниже | на уровне ЭЦГ | на 1 мм выше | на 2 мм выше | на 3 мм выше |
| Объем препарированных твердых тканей зуба, % | | | | | |
| фронтальная плоскость | 23,7 | 29,2 | 33,5 | 36,9 | 43,7 |
| сагиттальная плоскость | 15,8 | 19,2 | 21,2 | 23,9 | 26,5 |
| Минимальное расстояние от границы препарирования до пульповой камеры, мм | | | | | |
| фронтальная плоскость | 1,80 | 1,36 | 1,02 | 0,76 | 0,32 |
| сагиттальная плоскость | 1,67 | 1,16 | 0,96 | 0,85 | 0,60 |

кает область ЭЦГ, где визуально определяется наиболее выраженное сужение контура зуба. При переходе через эту границу на 1 мм выше объем препарированных тканей увеличивается на 5,5 % (вид с проксимальной поверхности).

Корневая часть зуба имеет коническую форму; вершиной конуса является апекс. Культия зуба, обработанного под металлокерамические коронки, имеет конусность 8°. Основание культи обращено в сторону апекса корня. Таким образом, корень и культия зуба – это два конуса с общим основанием и вершинами, ориентированными в противоположных направлениях. Чем больше перемещать основание конуса культия зуба к вершине корня, сохраняя угол конусности, тем меньшего объема будет получен конус культия.

Сравнение двух вариантов препарирования: с размещением придесневого уступа на 1 мм ниже ЭЦГ (ближе к режущему краю) и на 2 мм выше (ближе к апикальной части корня), показало, что объем удаляемых тканей различается на 9,5 %. При этом объем препарированных тканей оценивается относительно не коронковой части, а относительно всего зуба, включая его корневую часть. А это означает, что даже 2 % – это большой массив твердых тканей зуба.

Исследование показало, что минимальное расстояние от поверхности культи обработанного под металлокерамические коронки зуба до пульповой камеры зависит от размещения края коронки относительно ЭЦГ. Чем ближе к апикальной части корня располагается край коронки, тем ближе границы препарирования к пульповой камере. При размещении придесневого уступа коронки на уровне 2 мм выше ЭЦГ расстояние от вестибулярной поверхности до полости зуба и от

проксимальной поверхности до полости зуба становится настолько малым, что возникает угроза вскрытия пульповой камеры.

Очевидно, на практике препаровка не может быть так идеальна, как при планировании лечения [8], когда углы вымеряются на схематическом изображении зуба (как это происходило при нашем исследовании). В полости рта всегда труднее контролировать препарирование тканей из-за сложности доступа, плохого обзора, ограниченности во времени и т. д. А если лечение требует не одиночной коронки, а выполнения мостовидной конструкции, то обязательным условием препарирования будет получение параллельности культи опорных зубов, что еще больше увеличит их конусность, а значит и объем препарирования [9]. Клинически допустима более высокая конусность. Культия с конусностью до 26° способна обеспечить достаточную устойчивость реставрации [10]. Однако в случае более высокой конусности культи перемещение края препаровки под искусственную коронку в направлении от режущего края будет приводить к более стремительному приросту объема препарированных тканей.

Проведенная работа показывает, что если врач проводит препарирование зуба с размещением границы препаровки на 1 мм ближе к режущему краю от ЭЦГ, то это значительно уменьшает объем удаляемых тканей, а значит дает большие возможности для успешного лечения при сохранении витальности пульпы зуба [11]. Также сохраняется большой массив твердых тканей зуба, выполняющих опорно-удерживающую роль, как профилактика возможных отломов коронковой части зуба по прошествии лет функционирования искусственной коронки [2].

Препарирование под искусственную коронку с размещением края коронки до ЭЦГ снижает количество ошибок, связанных с неточным отображением тканей протезного ложа и протезного поля, находящихся в придесневой области, так как нет необходимости получать слепок тканей, находящихся в глубине зубодесневой борозды. Манипуляции по цементированию коронки становятся более простыми и качественными [1].

Пациентам с рецессией десны необходимо регулярно проводить поддерживающую пародонтальную терапию [12] путем ручной или ультразвуковой чистки пародонтальных карманов. Качество удаления поддесневой бактериальной пленки во многом определяется тактильной чувствительностью врача во время лечебной манипуляции [13]. Точность адаптации края коронки к тканям зуба не может быть идеальной [14], поэтому поддесневое размещение края искусственной коронки вызывает воспалительные явления в пародонте [15].

Недостатком лечения с размещением края коронки до ЭЦГ является косметический дефект – видимая граница перехода коронки в ткани зуба. Это особенно актуально для пациентов с гингивальным типом улыбки.

Оптические свойства металлокерамической коронки делают сложным получение

идеального косметического результата в области придесневого края [6]. Поэтому наилучшим выбором для достижения максимального косметического эффекта при минимальном препарировании твердых тканей зуба являются цельнокерамические конструкции коронок. Они обладают естественной прозрачностью, позволяют достичь высокого косметического результата, в том числе благодаря незаметной для глаза границе перехода искусственной коронки в естественные ткани зуба [1, 2, 9].

Выводы

Препарирование зубов под металлокерамические коронки с размещением придесневого уступа в области эмалево-цементной границы дает большие возможности для успешного лечения при сохранении витальности зуба. Сохраняется большой массив твердых тканей зуба, выполняющих опорно-удерживающую роль. Снижается количество ошибок, связанных с неточным отображением тканей протезного ложа и протезного поля, находящихся в придесневой области. На этапах последующего наблюдения пациента (после проведенного протезирования) облегчается контроль за состоянием тканей, окружающих край коронки. Это повышает качество вторичной и третичной профилактики кариеса корня и заболеваний пародонта.

Литература

1. Туати Б., Муара П., Нэтэнсон Д. Эстетическая стоматология и керамические реставрации. М.: Высш. образов. и наука, 2004: 299–359.
2. Shillingburg H.T., Jacobi R., Brackett S.E. Fundamentals of tooth preparation for cast metal and porcelain restoration. Quintessence Publishing Co., 1987: 87–99.
3. Хельвиц Э., Климек Й., Аттин Т. Терапевтическая стоматология. Львов: ГалДент, 1999: 221–247.
4. Lustig P.L. A rational concept of crown preparation revised and expended. Quintessence Int. 1976; 11: 41–46.
5. Леснухин М.Л. Искусство препарировать. Зубное протезирование 2006; 1 (13): 16–19.
6. Левин Б. Красивая десна – ключевой элемент эстетически привлекательной улыбки. ДентАрт 2007; 1: 20–30.
7. Vacek J.S., Gher M.E., Assad D.A. et al. The dimensions of the humandentogingival junction. Int. J. Periodontics Restorative Dent. 1994; 14: 155–165.
8. Mask P.J. A thiooretical and clinicalinvestigation into the taper achieved on crown and inlay preparations. J. Oral Rehabil. 1980; 7: 255.
9. Gardner F.M. Margin of complete crowns – Literature review. J. Prosthet. Dent. 1982; 48 (4): 396–400.
10. Dodge W.W., Weed R.M., Baez R.J. Buchanan R.N. The effect of convergence angle on retention and resistance form. Qint. Int. 1985; 16 (3): 191–194.
11. Walther W. Pulpreaktionen nach zahnärztlicher Präparation. LZK Münster, Westfalen, 1989; 2: 27–30.
12. Axelsson P., Nyström B., Lindhe J. The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. J. Clinical Periodontology 2004; 9 (31): 749–757.
13. Flemming T.F., Petersilka G.J., Mehl A. et al. Working parameters of a magnetostrictive ultrasonic scaler influencing root substance removal in vitro. J. Periodontol. 1998; 69 (5): 547–553.
14. Penwadee L., Gerard J., Markus B. Precision of fit of two margin designs for metal-ceramic crowns. J. Prosthodontics 2007; 6 (4): 233–237.
15. Knoernschild K.L., Campbell S.D. Periodontal tissue responses after insertion of artificial crowns and fixed partial dentures. J. Prosthet. Dent. 2000; (5): 492–498.

ХАРАКТЕР ПРЕПАРУВАННЯ ПРЕМОЛЯРА ВЕРХНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ПІД КЕРАМІЧНУ КОРОНКУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД МІСЦЯ ФОРМУВАННЯ ПРИЯСЕННОГО УСТУПУ**Б.В. Левін**

Досліджено розмір і характер препарування першого премоляра верхньої щелепи під керамічну коронку в залежності від місця розміщення приясенного уступу. Зроблено висновок, що чим далі від ріжучого краю розміщується край штучної коронки, тим більший об'єм тканин зуба доведеться видалити під час препарування. Наведено рекомендації щодо препарування зубів під керамічну коронку.

Ключові слова: ясеневий край, емалево-цементна границя, приясенний уступ керамічної коронки.

CHARACTERISTICS OF PREPARATION THE BICUSPID OF THE UPPER JAW TO CERAMIC CROWN DEPENDING ON THE PLACE OF CROWN MARGIN**B.V. Levin**

The size and characteristics of preparation of bicuspid of the upper jaw under a ceramic crown depending on the place of crown margin. The autor concludes that farther is the edge of the artificial crown from the cutting edge of the tooth, the larger volume of the tooth tissue is to be removed during preparation. The work includes recommendations on teeth preparation under a ceramic crown.

Key words: gingival margin, scope of enamel, margin ceramic crown.

Поступила 29.11.07

ГІГІЄНА ТА СОЦІАЛЬНА МЕДИЦИНА

ПІСЛЯДИПЛОМНА ОСВІТА І БЕЗПЕРЕРВНИЙ ПРОФЕСІЙНИЙ РОЗВИТОК ЛІКАРІВ В АСПЕКТІ ПРОБЛЕМ СУЧАСНОЇ ПСИХОГІГІЄНИ

В.М. Лісовий, В.А. Капустник, В.О. Коробчанський, М.П. Воронцов

Харківський національний медичний університет

Розглядається значення сучасної психогігієни як складової профілактичної медицини. Обговорюється актуальність безперервного професійного розвитку лікарів в аспекті практичних проблем психогігієни та первинної психопрофілактики.

Ключові слова: психогігієна, психопрофілактика, безперервний професійний розвиток лікаря.

Однією з найбільш актуальних проблем профілактичної медицини є своєчасне та ефективно попередження психічних розладів серед населення України шляхом первинної індивідуальної і колективної психопрофілактики.

На фоні існуючої тенденції до помітного росту розповсюдження психічних хвороб і, зокрема, неврозів серед різних контингентів населення, особливо серед підлітків і юнацтва, оволодіння практикуючими лікарями психогігієною і насамперед сучасними психодіагностичними методами дозволить суттєво підвищити ефективність первинної психопрофілактики, перш за все серед особистостей з «груп ризику» (з алкогольною і наркозалежністю, з акцентованою, девіантною поведінкою тощо).

Психогігієна, як фундаментальна наука, розглядає загальні питання збереження і зміцнення психічного здоров'я, встановлює основні практичні принципи оздоровлення психіки. Відповідно до них повинні розроблятися психогігієнічні заходи та цілеспрямовано впроваджуватися в практику охорони здоров'я. Тому існує нагальна потреба підготовки широкого кола фахівців (психологів, медичних психологів, терапевтів, невропатологів, психіатрів, педіатрів, гігієністів), володіючих сучасним науковим і методичним арсеналом, який би вони використовували у повсякденній практичній роботі для гігієнічної донозологічної діагностики граничних психічних станів і підвищення ефективності первинної профілактики психічних розладів.

Відповідно до сучасних уявлень психогігієна – органічна складова профілактичної

медицини, суть якої визначається її головною метою – на основі своєчасної ранньої психодіагностики та корекції донозологічних станів попередити виникнення психічних розладів і захворювань, що пов'язані із органічним ураженням психіки та мозку [1–4]. Зараз постулати практичної психогігієни набули широкого розповсюдження в усіх галузях медицини. В широкому медичному аспекті психогігієна охоплює два взаємопов'язані напрями практичної лікарської діяльності. Перший напрям – це гігієнічна донозологічна психодіагностика, яка встановлює наявність передпатологічних станів в контексті причинно-слідчого зв'язку взаємовідносин людини з оточуючою природою та соціальним середовищем. Об'єктом досліджень при цьому є людина, популяція та суспільство в цілому, а предметом вивчення – здоров'я. Стан здоров'я вивчається на індивідуальному, сімейному та популяційному рівнях, і далі розробляються заходи первинної профілактики захворювань [5–7]. Інший напрям – первинна профілактика психічних порушень, завданням якої є підвищення психологічної і соматичної стійкості організму окремої людини і популяції, гармонізація відносин особистості, включеної у складні біосоціальні системи життєдіяльності, а також активне попередження психосоматичних і соматопсихічних захворювань.

Проблеми психогігієни і первинної психопрофілактики безпосередньо пов'язані з різними аспектами практичної медицини, що вимагає від лікаря будь-якої спеціальності знань методології гігієнічної донозологічної психодіагностики, а також вміння цілеспря-

мовано використовувати методи психокорекції: психогієна навчання та виховання [1, 8–11], психогієна медико-соціальної реабілітації пацієнтів, психогієнічні проблеми соціально дезадаптованої молоді, психогієна праці, сім'ї, вікова психогієна та ін. В сучасному розумінні гігієнічна донозологічна психодіагностика є галуззю превентивної медицини, яка вивчає особистість здорової і хворої людини з метою збереження та зміцнення індивідуального здоров'я, успішної профілактики, діагностики, лікування та реабілітації.

Необхідність цілеспрямованої професійної підготовки лікарів, у першу чергу лікарів загальної практики / сімейних лікарів, з питань психофізіології, психогієни та психопрофілактики пов'язана насамперед зі специфікою і складними умовами лікарської діяльності. Як відомо, в етіопатогенезі широкого кола так званих психосоматичних захворювань (гіпертонічна хвороба, ІХС, бронхіальна астма, виразкова хвороба шлунка та ін.) велике значення мають психічні фактори [12]. Хворі на соматичні захворювання часто мають високі показники супутньої психоемоційної дисфункції, серед яких можуть зустрічатися симптоми невротизації, невротичні зміни високого рівня і психоемоційна дисфункція, емоційний стрес, особистісна тривожність, депресія [9, 13–15]. Хвороба супроводжується глибокими змінами психофізіологічного стану пацієнта. Адаптивні механізми людини нездатні забезпечити необхідний фізичний і психоемоційний баланс, що призводить до змін у фізіологічному, психологічному і духовному станах і внаслідок цього до зниження можливостей і тривалості життя [16]. Психічні розлади суттєво змінюють картину соматичного захворювання, негативно впливають на його перебіг і прогноз, якість життя пацієнтів, сприяють формуванню неадекватної реакції на хворобу, погіршують комунікативні можливості пацієнтів і знижують прихильність пацієнта до лікування. За даними спостережень, серед хворих соматичного профілю частота депресій складає 23,8 % [17].

Розвиток сімейної лікарської практики також постійно торкається широкого кола проблем психогієни. Різні питання сім'ї є основною складовою сімейної медицини, психогієни, психопрофілактики та психотерапії, важливими компонентами лікувально-профілактичної роботи сімейного лікаря. З ними пов'язані соціально-психологічні особливості спілкування, які включають міжособистісні стосунки у колективах, системах «пацієнт–лікар», «родичі хворого – лікар» [11, 18, 19].

Поряд з цим значної актуальності набули питання своєчасної діагностики, профілактики і терапії психогенно зумовлених станів, психічної дезадаптації, що розвиваються у людей у тих чи інших життєвих ситуаціях, особливо при наявності екстремальних факторів [20, 21]. Виключно важливим розділом повсякденної роботи лікарів з питань психогієни і психопрофілактики є попередження ятрогенних захворювань – великої групи патологічних станів, які виникають у пацієнтів внаслідок необережних, помилкових, некваліфікованих дій лікаря, що призводять до численних ускладнень, розвитку психічної травми та інших негативних наслідків лікувально-діагностичних втручань [22]. За даними спостережень, ятрогенні відмічаються у 20 % хворих і обумовлюють 10 % госпітальної смертності [23]. І однією з численних при цьому є група психічних розладів, що зумовлені психологічною травмою, яка наноситься медичним персоналом [22].

Наявність у пацієнтів високого рівня особистісної тривоги, депресивних розладів і сукупної психоемоційної дисфункції при різних видах патології вимагає від лікаря урахувувати ці явища і активно проводити серед пацієнтів заходи психокорекції, психогієни та психопрофілактики на індивідуальному і сімейному рівні [15].

Кваліфіковане уміння лікарів, зокрема лікарів загальної практики / сімейної медицини, вчасно надати необхідну допомогу пацієнтам в аспекті психології і психогієни суттєво збільшують можливості збереження здоров'я людини. Тому лікар має добре знати методику психологічного обстеження пацієнта, діагностувати його психоемоційний стан і з урахуванням цього вміти обґрунтувати індивідуальні заходи психопрофілактики та психогієни [24]. У лікувально-профілактичному процесі необхідно послідовно і регулярно здійснювати психопрофілактичні і психодіагностичні заходи, особливо серед численних осіб з груп ризику, пацієнтів лікувально-профілактичних закладів, а також в умовах сім'ї [25].

Профілактичні заходи, методи психогієни і програми втручань з метою корекції психофізіологічних параметрів людини при соматичних захворюваннях суттєво підвищують загальну ефективність лікувально-діагностичної діяльності лікаря [14, 18, 19]. За даними спостережень, переважна більшість пацієнтів, що відвідують поліклініку чи знаходяться у соматичному стаціонарі, потребує психологічної допомоги [25].

Виходячи з цього, ВООЗ вказує на необхідність обов'язкового надання лікарем пси-

хологічної допомоги пацієнтам, тому що хронічні хвороби, різні функціональні порушення з фізичними проявами, психосоматичні скарги та розумові розлади можуть більш ефективно лікуватись, якщо медична допомога буде обов'язково поєднуватися із психологічним обслуговуванням пацієнтів [26]. Тому психотерапевтичний компонент має бути обов'язковою частиною комплексної програми медичних втручань [14, 18, 19], а лікарі повинні в повному обсязі володіти методом індивідуальної психопрофілактичної роботи [21].

Підвищення уваги в практичній діяльності лікарів до питань психогігієни та психопрофілактики повною мірою відповідає сучасній загальнонауковій тенденції розвитку медицини, особливістю якої стає інтеграція біологічних, психобіологічних і соціальних підходів до людини. В сучасній медицині широкого визнання набуває цілісна біопсихологічна модель соматичних захворювань. Все більше уваги в лікарській практиці приділяється розкриттю соціально-психологічних чинників виникнення і розвитку різноманітних хвороб і застосуванню методів психокорекції і психотерапії для їхнього запобігання та лікування [25].

Особлива актуальність проблем психогігієни та психопрофілактики пов'язана з тим, що психічне здоров'я населення України суттєво погіршилось, свідченням чого є масова зміна поведінкових реакцій, емоційні зриви, інші порушення психологічного статусу, суїциди та суїцидальні спроби. Також зростає кількість граничних, нервово-психічних розладів, невротичних і неврозоподібних станів, зокрема при соматичних захворюваннях. Основним чинником вказаних порушень є зростаюче психологічне навантаження та хронічний стрес, що призводить до збільшення психосоматичних розладів [25, 26]. Тому цілком обґрунтовано ця проблема в системі охорони здоров'я України визначена як одна з пріоритетних у державній міжгалузевій програмі «Здоров'я нації» на 2002–2011 рр., відповідно до якої необхідно [26]:

- розробити нові і підвищити ефективність діючих методів і засобів профілактики, лікування та реабілітації психічних розладів, зосередивши увагу на використанні пріоритетних методів і засобів психогігієнічної корекції та реабілітації;
- проводити наукові дослідження з епідеміологічних і психогігієнічних аспектів психічної патології;
- здійснювати заходи з профілактики порушень соціально-психологічної адаптації населення до гострого і хронічного стресу.

З огляду на це все більшої актуальності набуває питання психологічної готовності лікарів до роботи з різним контингентом дитячого і дорослого населення, з пацієнтами зі зміненим внаслідок хвороби психоемоційним станом. Недостатня обізнаність лікарів зі змінами психологічної сфери хворої людини не дає змоги адекватно реагувати на них, що, у свою чергу, може негативно позначитися на якості лікувального процесу, на стосунках у системі «лікар–пацієнт» і на психологічній цілісності самого лікаря [16]. Тому кожен лікар має бути всебічно підготовленим з питань практичної психогігієни і психопрофілактики і надавати медичну допомогу на індивідуальному і сімейному рівні з урахуванням конкретних психотравмуючих факторів і умов життєдіяльності пацієнтів.

Формування і систематичне поглиблення знань практикуючого лікаря з проблем психогігієни та психопрофілактики має здійснюватись на етапах додипломної і усіх видів післядипломної підготовки лікарів. Принципового значення набуває при цьому проблема безперервного професійного розвитку лікаря щодо цих питань лікарської діяльності.

Безперервний професійний розвиток лікарів як універсальну форму медичної освіти обґрунтувала Всесвітня федерація медичної освіти. Він є етапом освіти і підготовки лікаря, який послідовно і логічно здійснюється після завершення базової медичної освіти та післядипломної підготовки і продовжується протягом усього професійного життя кожного лікаря. Його головною метою є збереження на належному рівні, своєчасний перегляд, поглиблення та удосконалення професійних знань, навичок лікарів у відповідь на потреби пацієнтів і вимоги часу [27, 28]. Безперервний професійний розвиток лікаря є заключною фазою медичного навчання – набуття високого професіоналізму [29].

У теперішній час безперервна освіта є пріоритетним напрямом розвитку освітньої галузі України в процесі інтеграції у світовий та європейський простір [30], однією з важливих складових Національного плану дій в інтересах охорони здоров'я і розглядається, з одного боку, як професійне зобов'язання кожного лікаря, з другого – як важлива передумова підвищення якості медичної допомоги населенню [28].

Тому концептуальною метою безперервного професійного розвитку є регулярне підвищення професійної компетентності лікарів з найбільш актуальних питань і забезпечення належного стану охорони здоров'я населення шляхом підвищення рівня медичного обслуговування, вміння активно впроваджувати в практику досягнення медичної нау-

ки, нові методи профілактики, ранньої діагностики, лікування та медико-соціальної реабілітації при різних захворюваннях [31].

Одним з життєво важливих напрямків безперервного професійного розвитку лікарів є психогієна як вид міждисциплінарного удосконалення медиків різного фаху.

У відповідності до вимог освітньо-кваліфікаційної характеристики та освітньо-професійної програми (ОПП) Державного галузевого стандарту вищої медичної освіти України (2003) випускники вищих медичних закладів в аспекті рішення практичних проблем психогієни та психопрофілактики повинні володіти комплексом професійних лікарських умінь (таблиця).

[4]. З урахуванням практичних аспектів психогієни у діяльності лікарів різного фаху програма циклу включає чотири базові модулі:

модуль 1. Загальні принципи організації психогієнічних досліджень донозологічних станів;

модуль 2. Діагностичне дослідження психофізіологічних функцій;

модуль 3. Критеріальні ознаки особистості у діагностиці граничних психічних станів;

модуль 4. Психопрофілактика психічних розладів.

Практична актуальність запропонованого циклу полягає в необхідності оволодіння широким колом медичних працівників прак-

Основні базові практичні лікарські уміння стосовно психогієни та психопрофілактики

| Шифр уміння за ОПП | Зміст лікувально-діагностичних втручань |
|--------------------|---|
| ГО.003 | Виявляти особливості вираження емоцій та розкривати їх зв'язок з іншими психічними процесами |
| ГО.006 | Визначати індивідуально-психологічні відмінності особистості за їх проявами у діяльності та спілкуванні |
| ГП.001 | Уміти спілкуватися з хворими та їхніми родичами з урахуванням їхніх психічних особливостей, сприяти створенню здорового психологічного клімату в медичному середовищі |
| ГП.002 | Визначити психічний стан і рівень соціально-психологічної адаптації хворих за допомогою методів психологічного дослідження |
| ГП.006 | Використовувати засоби психогієни, психопрофілактики та основні методи психотерапії в медичній практиці |
| ГП.007 | Володіти принципами медичної деонтології, запобігати виникненню ятрогеній і коригувати наслідки ятрогенних впливів |
| ПП.146 | Використовувати методи профілактики психічних і психосоматичних розладів |
| ПП.137 | Визначити етіологічні фактори та патогенетичні механізми, типи перебігу та клінічних проявів психічних і психосоматичних розладів |

Ці базові лікарські уміння в подальшому потребують систематичного цілеспрямованого поновлення і удосконалення протягом усього життя. З цих позицій конче необхідним є запровадження спеціального циклу удосконалення лікарів за програмою «Психогієна: гігієнічна донозологічна діагностика та первинна профілактика психічних розладів», запропонованою кафедрою гігієни та екології Харківського національного медичного університету.¹ Метою циклу є оволодіння лікарями загальної практики / сімейними лікарями, терапевтами, невропатологами, психіатрами, педіатрами, лікарями-гігієністами з гігієни дітей та підлітків і гігієни праці, медичними психологами принципами організації психогієнічних досліджень донозологічних станів і сучасними методами первинної профілактики порушень психічного здоров'я

тичними навичками гігієнічної донозологічної діагностики, яка передбачає раннє виявлення та прогнозування можливих патологічних станів на основі своєчасного виявлення первинних, межуючих з нормою ознак розвитку психопатологічних процесів при тих чи інших соматичних захворюваннях, що вимагає від лікаря їхньої своєчасної діагностики і лікування.

Навчання за запропонованим циклом забезпечує удосконалення професійної підготовки медичних працівників з питань психогієни, донозологічної психодіагностики і первинної профілактики передпатологічних станів серед населення. В межах робочої програми навчального циклу лікарі [4]:

- оволодівають професійно необхідними знаннями сучасних методологічних принципів організації психогієнічних і психодіаг-

¹Цикл затверджений вченою радою університету і узгоджений з ЦМК вищої медичної освіти МОЗ та Департаментом вищої освіти МОН України від 15.03.2006 р.

ностичних досліджень донозологічних станів і практичного застосування цих методів під час діагностики, лікування і реабілітації пацієнтів на основі вимог доказової медицини;

- детально вивчають дані про структурно-функціональну організацію ЦНС і саногенетичні механізми формування психічного здоров'я, що є необхідною базою для обґрунтування лікувально-діагностичних втручань;

- оволодівають методикою організації і впровадження в свою практичну діяльність єдиної системи індивідуальної і колективної профілактики донозологічних станів;

- навчаються проводити гігієнічне дослідження соціобіологічних факторів навколишнього середовища пацієнта і надавати комплексну гігієнічну оцінку умовам життєдіяльності пацієнта для обґрунтування індивідуальної програми лікувально-діагностичних втручань з позицій сучасної доказової медицини;

- оволодівають методикою проведення індивідуальної і колективної первинної профілактики психічних розладів, що пов'язані з наявністю факторів ризику, залежною поведінкою, акцентованою поведінкою людини тощо;

- навчаються аналізувати ефективність цілеспрямованих психогігієнічних і психопрофілактичних заходів;

- оволодівають сучасними методами психогенетичних досліджень в психогігієні, що набуває особливої актуальності у практиці сімейного лікаря;

- оволодівають базовими практичними методами діагностичного дослідження психофізіологічних функцій пацієнтів (сприйняття, узнавання, пам'ять, увага, розумова працездатність), а також методами вивчення основних властивостей нервової системи людини, що мають враховуватись лікарем для обґрунтування індивідуальної програми профілактики, діагностики, лікування та реабілітації;

- навчаються методам діагностики інтелекту і розумового розвитку, креативності, комунікативних властивостей, психотипу та інших провідних ознак особистості; навчаються методам психодіагностики загальних і спеціальних здібностей людини.

Під час організації запропонованого циклу слід враховувати, що у справі безперервного підвищення професіоналізму лікарів, поряд з існуючими очними формами, все більшого розповсюдження у світовій практиці набувають різні ефективні заочні (дистанційні) форми удосконалення медичних працівників. В основу методології дистанційної освіти покладена ідея самостійної інтерактивної роботи лікарів зі спеціально розроб-

леними навчальними матеріалами, а також використання сучасних інформаційних технологій (персональний комп'ютер, електронна пошта) [32]. В аспекті цих проблем розроблена перспективна міжвузівська комп'ютерна мережа «Інтермедвуз» для координації післядипломної освіти лікарів, забезпечення викладачів і лікарів України через мережу «Інтернет» довідковою інформацією та для їх дистанційного навчання [33].

Створення міжвузівських центрів дистанційного навчання виступає як важлива складова системи безперервної освіти. Розвиток комп'ютерної бази, розробка електронних посібників і підручників для здобуття дистанційної освіти за усіма напрямками та освітньо-кваліфікаційними рівнями є необхідною умовою для навчання впродовж життя [34–38]. Запровадження новітніх педагогічних інновацій на засадах Болонського процесу забезпечує активне використання насамперед дистанційних форм освіти з можливим залученням для цього провідних фахівців не тільки України, але і країн близького та далекого зарубіжжя [39, 40].

Застосування у сучасній охороні здоров'я комп'ютерних технологій, телемедицини, дистанційного і інтерактивного навчання дозволяє цілеспрямовано впливати на поліпшення спеціальних медичних знань лікарів, рівень діагностики і якості лікування [41, 42], а також вирішувати актуальні питання практичної психогігієни і психопрофілактики.

Таким чином, запропонований тематичний цикл удосконалення лікарів з психогігієни в системі безперервного професійного розвитку цілком відповідає практичним потребам діяльності лікарів різних спеціальностей і зберігає свою актуальність протягом усього періоду фахової діяльності медичних працівників.

Як відомо, тематичне удосконалення забезпечує цілеспрямоване підвищення кваліфікації і є одним з ефективних шляхів безперервного професійного розвитку лікарів [43]. В сучасних умовах значення циклів тематичного удосконалення та стажування лікарів зростає. Особливо цінними є, зокрема, короткотермінові монотематичні цикли, присвячені окремим актуальним проблемам сучасної медичної практики [44].

Оскільки знання практичних питань психогігієни, донозологічної психодіагностики та первинної психопрофілактики торкається усіх лікарських спеціальностей, доцільним є обов'язкове включення цього розділу у програми додипломної, післядипломної освіти, а також систему безперервного професійного розвитку лікарів, що сприятиме суттєвому підвищенню їхньої професійної компетенції

та ефективності медичної допомоги, яка надається пацієнтам різного профілю. Також, виходячи з суто практичних потреб лікарської діяльності, необхідним слід вважати вклю-

чення проблемних питань психогієни, донозологічної психодіагностики та первинної психопрофілактики у єдині нормативи надання медичної допомоги населенню.

Література

1. Вітенко І.С. Загальна та медична психологія. К.: Здоров'я, 1994. 296 с.
2. Воробейчик Я.Н., Поклитар Е.А. Основы психогигиены. К.: Здоровье, 1989. 184 с.
3. Куликов Л.В. Психогигиена личности. Вопросы психологической устойчивости и психопрофилактики. СПб.: Питер, 2004. 464 с.
4. Коробчанский В.А. Психогигиена: как мы ее представляем в 2007 году. Врач. практика 2007; 1 (55): 108–115.
5. Шмель А.Г. Психодиагностика личностных черт. М.: Изд-во МГУ, 2002. 320 с.
6. Носс И.Н. Руководство по психодиагностике. М.: Изд-во Ин-та психотерапии, 2005. 688 с.
7. Бондарев А.А., Стомин В.В. Общая психодиагностика. СПб.: Речь, 2002. 430 с.
8. Коробчанский В.А. Системогенез жизнедеятельности: гигиенические и экологические аспекты. Харьков: Контраст, 2005. 428 с.
9. Бачериков Н.Е., Воронцов М.П., Добромиль Э.И. Психогигиена умственного труда учащейся молодежи. К.: Здоров'я, 1988. 186 с.
10. Коробчанський В.О. Гігієнічна психодіагностика донозологічних станів у підлітковому та юнацькому віці: Посібник для докторантів, аспірантів, пошукачів та лікарів. Харків: Контраст, 2005. 192 с.
11. Коробчанский В.А., Воронцов М.П., Бардов В.Г. Гигиенические аспекты системогенеза профессиональной деятельности и профессиональной адаптации подростков. Харьков: Контраст, 2004. 280 с.
12. Бухаров Я.М., Головкин И.С. Психотерапевтическая помощь в практике семейного врача. Вестн. семейной медицины 2007; 1: 18–23.
13. Вітенко І.С., Завізіон В.Ф., Ольхов О.Г., Коссе В.А. Роль психофізіологічних особливостей онкологічних хворих у формуванні якості життя. Мед. освіта 2003; 1: 33–35.
14. Вітенко І.С., Чабан О.С., Бусло О.О. Сімейна медицина: Психогієнічні аспекти діагностики, профілактики і лікування хворих: Навч. посібник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. 186 с.
15. Бачериков Н.Ф., Воронцов М.П., Петрюк П.Г., Цыганенко А.Я. Эмоциональный стресс в этиологии и патогенезе психических и психосоматических заболеваний. Харьков: Основа, 1995. 276 с.
16. Губенко І.Я., Шевченко О.Т. Психоемоційні аспекти роботи медичних фахівців з пацієнтами. Мед. освіта 2006; 4: 28–31.
17. Вологдина И.В. Возможность использования антидепрессанта рексентина в лечении пациентов старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью и тревожно-депрессивными расстройствами. Рос. семейный врач 2007; 11, 2: 34–35.
18. Эйдемилляр Э.Г., Юстицкий В.В. Семейная психотерапия. Л.: Медицина, 1990. 192 с.
19. Эйдемилляр Э.Г. Семейная системная психотерапия. Рос. семейный врач 2003; 17, 1: 10–15.
20. Напреенко А.Н., Логановский К.Н. Экологическая психиатрия. К., 1997. 96 с.
21. Александровский Ю.А., Лобастов О.С., Спивак Л.И., Щукин Б.Г. Психогении в экстремальных условиях. М.: Медицина, 1991. 296 с.
22. Абизов Р.А., Шкорботун В.О., Шкоба В.Я. Про всебічне впровадження питань ятрогенної патології у фахові програми післядипломного навчання лікаря: Наук.-метод. конф. з міжнар. участю «Проблема безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів»: Зб. праць. К., 2007: 66–68.
23. Серов В.В. Общие патологические подходы к познанию болезней. М.: Медицина, 1999. 304 с.
24. Бурмак Ю.Г., Черепахіна Л.П., Комаров О.В. Доцільність семінарів-тренінгів із сімейної психіатрії і підготовки лікаря загальної практики / сімейної медицини. Сімейна медицина 2006; 4: 32.
25. Вітенко І.С., Колюєць М.Ю., Дишук І.П. Методологія та зміст підготовки лікаря-психолога в Україні. Мед. освіта 2001; 4: 14–18.
26. «Здоровье-21: Политика достижения здоровья для всех в Европейском регионе. ВОЗ-21 задача на 21-е столетие», Европейское региональное бюро ВОЗ. Копенгаген, 1998. 231 с.
27. Міжгалузєва комплексна програма «Здоров'я нації» на 2002–2011 роки. К.: МОЗ України, 2002. 88 с.
28. Поляченко Ю.В., Передерий В.Г., Волосовец Л.П. и др. Медицинское образование в мире и в Украине. Харьков: Контраст, 2005. 464 с.
29. Брнчук М.В., Волосовец О.П., Фещенко Г.Г. та ін. Безперервний професійний розвиток лікарів та провізорів та якість підготовки фахівців у сфері охорони здоров'я: Наук.-метод. конф. з міжнар. участю «Проблема безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів»: Зб. праць. К., 2007: 3–9.
30. М'ясніков В.Г. Безперервний професійний розвиток – наступний крок реформування медичної освіти в Україні: Там само: 34–36.
31. Кремень В.Г., Степко М.Ф., Болюбаш Я.Я. та ін. Основні засади розвитку вищої освіти України в контексті Болонського процесу (Документи і матеріали 2003–2004 рр.). За ред. В.Г. Кременя. Тернопіль: Видання ТДПУ ім. В. Гнатюка, 2004. 147 с.
32. Довиченко Ю.П., Вернер О.М., Головань Д.Г. Дискусійні питання безперервного професійного розвитку: Наук.-метод. конф. з міжнар. участю «Проблема безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів»: Зб. праць. К., 2007: 27–29.

33. Вороненко Ю.В., Гирін В.М., Леінцер О.П. Про необхідність створення інформаційної системи «Інтермедвуз». Мед. освіта 2002; 1: 5–9.
34. Шаповал С.Д., Дмитрієва С.М., Ординський В.А., Ралко Т.О. Дистанційне навчання як складова безперервного професійного розвитку лікарів: Наук.-метод. конф. з міжнар. участю «Проблема безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів»: Зб. праць. К., 2007: 552–554.
35. Лобас В.М., Дорохова О.Т., Адоньєва Н.М., Владимирський А.В. Післядипломна підготовка керівників медичних закладів із організації первинної медико-санітарної допомоги на засадах сімейної медицини. Сімейна медицина 2006; 4: 6–8.
36. Кузнецова О.Ю., Фролова Е.В. Нужна ли аккредитация непрерывного последипломного образования врачей в Европе? Рос. семейный врач 2007; 11, 2: 4–7.
37. Вітенко І.С., Шанько С.В. Електронна книга як важливий методичний аспект сучасної підготовки лікарів і фармацевтів. Мед. освіта 2006; 4: 72–74.
38. Шаповал С.Д., Дмитрієва С.М., Ординський В.А., Ралко Т.О. Електронні навчальні книги для післядипломної освіти та безперервного професійного розвитку лікарів. Мед. освіта 2006; 4: 76–78.
39. Колесник Ю.М., Кривенко В.І., Нерянов Ю.М. Модернізація вищої медичної освіти в контексті впровадження засад Болонського процесу. Мед. освіта 2006; 2: 72–74.
40. Полат Е.С., Бухаркина О.Т. Теория и практика дистанционного обучения: Учеб. пособие для студентов высших учебных заведений. Под ред. Е.С. Полат. М.: Издательский центр «Академия», 2004. 416 с.
41. Венгер І.К., Ковальчук О.Л., Беденюк А.Д. та ін. Досвід впровадження телемедицини у Тернопільській державній медичній академії ім. І.Я. Горбачевського. Мед. освіта 2002; 2: 12–14.
42. Галайчук І.Й. Телеонкологія – нові можливості в навчальній діагностиці та лікуванні. Мед. освіта 2002; 2: 18–20.
43. Білоклицька Г.Ф., Цептіло Т.Д. Тематичне удосконалення – один із шляхів безперервного професійного розвитку лікарів: Наук.-метод. конф. з міжнар. участю «Проблема безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів»: Зб. праць. К., 2007: 87–89.
44. Харченко Н.В., Сівак Л.А., Сілантьєва Т.С. Сучасні підходи до безперервного професійного розвитку лікарів терапевтичного профілю: Там само: 339–344.

ПОСЛЕДИПЛОМНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ И НЕПРЕРЫВНОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ВРАЧЕЙ В АСПЕКТЕ ПРОБЛЕМ СОВРЕМЕННОЙ ПСИХОГИГИЕНЫ

В.Н. Лесовой, В.А. Капустник, В.А. Коробчанский, М.П. Воронцов

Рассматривается значение современной психогигиены как составной части профилактической медицины. Обсуждается актуальность непрерывного профессионального развития врачей в аспекте практических проблем психогигиены и первичной психопрофилактики.

Ключевые слова: психогигиена, психопрофилактика, непрерывное профессиональное развитие врача.

POSTDEGREE EDUCATION AND CONTINUAL PROFESSIONAL DEVELOPMENT OF DOCTORS IN ASPECT OF MODERN PSYCHOHYGIENIC PROBLEMS

V.M. Lesovoy, V.A. Kapustnik, V.O. Korobchanskiy, M.P. Vorontsov

Value of modern psychohygiene as component of preventive medicine is considered. The urgency of continual professional development of doctors in aspect of practical psychohygienic and primary psychoprophylactic problems is discussed.

Key words: psychohygiene, psychoprophylactic, continual professional development of doctors.

Поступила 24.12.07

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ АЛИМЕНТАРНОГО И СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА В СОЦИАЛЬНО-ГИГИЕНИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Л.В. Подригало, Р.С. Назарян, К.М. Сокол, Н.М. Филатова

Харьковский национальный медицинский университет

С помощью информационно-энтропийного анализа изучены особенности алиментарного и стоматологического статуса лиц, страдающих воспалительными заболеваниями пародонта. Установлены основные факторы риска, подтверждена возможность использования примененных методик при организации мониторинга здоровья.

Ключевые слова: алиментарный и стоматологический статус, информационно-энтропийный анализ.

Создание государственной системы социально-гигиенического мониторинга (СГМ) в Украине [1] вызвало необходимость широкого использования различных интегральных систем оценки при решении задач, связанных с изучением здоровья различных групп населения. Согласно общепринятому алгоритму СГМ [2], его важным методологическим этапом является обработка и анализ собранной информации. Это обусловлено тем, что данный этап является базисом для разработки гипотезы о наличии причинно-следственных связей между состоянием здоровья населения и выявленными факторами риска. В последующем ее подтверждение позволяет обосновать и разработать комплексные профилактические программы, внедрение которых в практику оптимизирует состояние здоровья и окружающей среды и на практике реализует принцип обратной связи СГМ.

Основная особенность этапа обработки – подбор и применение статистических методов, позволяющих получить обобщающую оценку результатов. К их числу, в зависимости от поставленных задач, относятся корреляционный, регрессионный, кластерный, дисперсный и факторный анализ [3]. Перспективным в этом отношении является применение принципов теории информации и расчет показателей информационно-энтропийного анализа [4–6]. К числу достоинств данного метода относятся несложность расчетов и доступность даже при отсутствии автоматизированного информационного обеспечения, что позволяет реализовать его уже на первичных уровнях организации медицинской службы.

Энтропия, являющаяся мерой неопределенности, позволяет судить об устойчивости

биологической системы, а ее динамика под влиянием различных факторов отражает как оптимизацию, так и возможное ухудшение состояния, происходящее из-за возрастания неупорядоченности [6]. Именно поэтому рост энтропии считается одним из наиболее ранних проявлений донозологических состояний [7]. Таким образом, анализ показателей энтропии позволяет получить обобщающую количественную оценку состояния здоровья, причем на коллективном или популяционном уровнях, что особенно важно при осуществлении СГМ.

Значительная распространенность воспалительных и дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта, трудности достижения позитивных результатов в лечении требуют использования превентивного подхода, разработки комплексной системы профилактики, в которой, исходя из патогенетических особенностей, важное место должен занимать алиментарный фактор [8]. Основу этой системы должно составлять выявление факторов риска и изменение тактики действий врача-специалиста, переход к донозологической диагностике и организации мониторинга воспалительных заболеваний пародонта.

Целью исследования явилось применение информационно-энтропийного анализа для исследования алиментарного и стоматологического статуса в мониторинге воспалительных заболеваний пародонта.

Материал и методы. Исследование проведено путем социологического обследования 296 женщин, разделенных на две группы: 1-я – 128 чел., средний возраст $(38,81 \pm 0,82)$ лет, имеющих установленный диагноз заболеваний пародонта, названная ВП (бо-

лезни пародонта); 2-я – 168 чел., средний возраст (36,58±0,78) лет, не имеющих заболеваний пародонта (группа здоровых).

В работе использованы разработанные нами опросники. Анкеты включали паспортную часть, данные по режиму питания (количество приемов пищи, интервалы между ними, наличие основного приема пищи), вопросы, отражающие кратность потребления основных пищевых продуктов (ежедневный прием – 1–3 раза в сутки, регулярный прием – 1–3 раза в неделю, более редкий прием), употребление первых блюд, использование дополнительного приема витаминов. Кроме того, в опросники были включены вопросы о наличии основных клинических симптомов заболеваний пародонта, а также о санитарной грамотности респондентов относительно состояния полости рта.

Полученные результаты статистически обработаны согласно [9]. Для анализа использованы показатели относительной энтропии (ОЭ), демонстрирующей относительную «загруженность» системы сравнительно с ее максимальной емкостью и позволяющей устранить зависимость величины энтропии от количества учитываемых подгрупп [5].

Результаты и их обсуждение. ОЭ особенностей пищевого статуса в группах обследованных женщин приведены в табл. 1. Использованный подход (расположение ОЭ в порядке снижения), на наш взгляд, позволяет определить иерархию факторов риска развития воспалительных заболеваний пародонта.

Максимальное значение ОЭ в группе БП установлено при редком потреблении соков, рыбы и морепродуктов. Явный дефицит этих нутриентов в рационе дает основания гово-

рить о витаминной и минеральной недостаточности, нехватке так называемых минорных пищевых веществ (пигментов, органических кислот, пектинов и т. п.), которыми особенно богаты соки. Что касается рыбы и морепродуктов, то их недостаток снижает уровень йода и фтора в питании, что, по мнению экспертов ВОЗ, должно считаться одним из факторов риска развития стоматологических заболеваний [10].

Следующие два фактора иллюстрируют отсутствие или недостаточную дополнительную витаминизацию питания. На фоне данных о широкой распространенности витаминodefицитных состояний среди населения это должно быть истолковано как свидетельство нарушения гомеостаза организма, возрастание вероятности срыва и полома адаптации. Общеизвестно, что недостаток витаминов способствует нарушению состояния десен, предрасполагая к формированию воспалительных процессов.

Ежедневное потребление макаронных изделий может способствовать увеличению показателя ОЭ за счет возрастания в рационе крахмала и легкоусвояемых углеводов, которыми богаты эти пищевые продукты. Кроме того, потребление мучных изделий повышает риск развития избыточной массы тела, а также способствует относительной недостаточности витаминов, что, как уже отмечалось, нарушает гомеостаз организма.

Увеличение ОЭ в группе БП при редком употреблении молока и молочных продуктов также достаточно просто может быть объяснено с позиций рационального питания. Данные пищевые продукты обеспечивают организм не только белками животного проис-

Таблица 1. Относительная энтропия особенностей пищевого статуса в группах сравнения, %

| Компонент пищевого статуса | БП | ГЗ |
|--|-------|-------|
| Редкое потребление соков | 73,04 | 49,57 |
| Редкое потребление рыбы и морепродуктов | 70,23 | 56,66 |
| Нерегулярный прием витаминов | 45,85 | 39,21 |
| Отсутствие витаминизации рациона | 35,97 | 28,24 |
| Потребление макаронных изделий ежедневно | 24,18 | 15,22 |
| Редкое потребление молока и молочных продуктов | 23,28 | 18,32 |
| Потребление кондитерских изделий через день | 20,69 | 10,69 |
| Редкое потребление яиц | 20,40 | 17,38 |
| Редкое потребление мяса | 18,67 | 14,44 |
| Потребление черного хлеба трижды в день | 9,76 | 5,76 |
| Потребление круп дважды в день | 8,02 | 6,05 |
| Редкое потребление сливочного масла | 6,08 | 4,85 |
| Потребление кофе трижды в день | 3,65 | 2,58 |
| Потребление первых блюд раз в пять дней | 1,82 | 0,53 |

хождения и незаменимыми аминокислотами, но и такими макроэлементами, как кальций, фосфор и магний. То есть их дефицит нарушает пластические процессы в организме в целом и костной системе в частности, существенно повышая риск развития остеопении как донозологического состояния и остеопороза как патологии. В рассматриваемом контексте это должно быть оценено как нарушение состояния пародонта. Подтверждением высказанной гипотезы может быть установленное возрастание ОЭ в группе БП при редком потреблении других белоксодержащих продуктов – мяса, яиц (табл. 1).

В то же время частое потребление кондитерских изделий (через день) является фактором, способствующим развитию дисбаланса за счет избытка простых сахаров в рационе, что, по мнению экспертов ВОЗ, является фактором риска не только кариеса, но и заболеваний пародонта [10].

Увеличение ОЭ в группе БП за счет частого потребления черного хлеба и ежедневного потребления круп, на наш взгляд, может быть объяснено формированием метаболического ацидоза в результате сдвига кислотно-щелочного баланса, вызываемого этими продуктами.

Редкое присутствие в питании сливочного масла означает недостаточность жирорастворимых витаминов, ненасыщенных жирных кислот. Это приводит к нарушению мембранной стабильности, что усугубляет синдром липидной пероксидации, развивающийся при заболеваниях пародонта. Данное предположение согласуется с данными [11] о недостаточности витаминов – антиоксидантов, как системного фактора в этиопатогенезе заболеваний пародонта.

Частое ежедневное потребление кофе приводит к увеличению ОЭ в группе БП, что

согласуется с данными ВОЗ, выделяющими этот напиток как один из факторов риска развития стоматологических заболеваний [10].

Редкое употребление первых блюд, питание фактически всухомятку не только увеличивает нагрузку на пищеварительную систему, но и способствует возрастанию ОЭ у женщин с БП. Причем динамика этого показателя в группе сравнения максимальна, у больных он увеличивается на 70,88 %, что позволяет говорить о важности соблюдения режима питания для профилактики стоматологических заболеваний.

Оценка изменения ОЭ позволила выделить наиболее значимые факторы риска для развития заболеваний пародонта вследствие максимального увеличения энтропии. К их числу, помимо уже упоминавшегося преимущественного питания всухомятку, должны быть отнесены частое потребление кондитерских изделий (увеличение ОЭ на 48,33 %), черного хлеба (увеличение ОЭ на 40,98 %), макаронных изделий (увеличение ОЭ на 37,06 %), редкое употребление соков (увеличение ОЭ на 32,13 %).

Показатели ОЭ особенностей стоматологического статуса (табл. 2) позволяют говорить об увеличении энтропии в группе женщин с БП по сравнению с группой здоровых.

Наиболее этот процесс выражен для такого симптома, как появление налета на зубах к концу дня. Недостаточная санитарная грамотность, отсутствие знаний о влиянии питания на стоматологическую заболеваемость также существенно повышают уровень энтропии в системе.

Достаточно высокий уровень ОЭ таких клинических признаков, как постоянная подвижность зубов, периодические воспаления десен, подтверждает их информативность и ориентирует специалиста на их выявление и

Таблица 2. Относительная энтропия особенностей стоматологического статуса в группах сравнения, %

| Стоматологический статус | БП | ГЗ |
|---|-------|-------|
| Наличие налета к вечеру | 49,51 | 43,33 |
| Санитарная грамотность | 42,47 | 33,87 |
| Воспаление десен 1 раз в месяц | 31,82 | 0 |
| Постоянная подвижность зубов | 28,48 | 0,08 |
| Воспаление десен раз в полгода | 21,20 | 0,96 |
| Обращения к врачу раз в полгода | 12,94 | 9,86 |
| Воспаление десен раз в квартал | 12,55 | 0 |
| Периодическая подвижность зубов | 12,15 | 0,05 |
| Сохранение запаха изо рта в течение дня | 11,12 | 4,04 |
| Наличие налета в течение дня | 6,90 | 0,33 |
| Кровоточивость при твердой пище | 6,39 | 1,13 |
| Обращения к врачу раз в квартал | 2,01 | 0,95 |

оценку еще на первичных этапах оказания стоматологической помощи. Этот тезис подтверждается и возрастанием ОЭ при редких обращениях к врачу (раз в полгода или ежеквартально), что явно недостаточно для обеспечения эффективной профилактики.

Как и ранее, оценка динамики показателей ОЭ позволила выявить наиболее, на наш взгляд, существенные клинические проявления нарушений состояния пародонта. К ним должны быть отнесены воспаление десен и подвижность зубов разной периодичности, наличие постоянного налета и кровоточивость десен. Все указанные признаки характеризуются увеличением ОЭ не менее чем на 80 %, что подтверждает очень высокий уровень их информативности.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения информационно-энтропийного анализа для выявления факторов риска воспалительных заболеваний па-

родонта. Установленные погрешности алиментарного статуса приводят к снижению надежности организма из-за возрастания энтропии, что дает основания рекомендовать оптимизацию рациона в качестве эффективного профилактического мероприятия. А обнаруженные различия стоматологического статуса в исследованных группах позволяют ориентировать врача-стоматолога на выявление факторов риска развития воспаления пародонта, что существенно повышает действенность медико-санитарной помощи населению. Предлагаемый вариант анкеты может быть использован в качестве скрининга, что позволит еще на доврачебном этапе установить факторы риска и обосновать необходимые профилактические мероприятия.

Это позволяет повысить эффективность мониторинга состояния здоровья данной категории населения, а также будет способствовать разработке целевых профилактических программ.

Литература

1. Постановление Кабинета Министров Украины № 182 от 22.02.2006 г. «Об утверждении Порядка проведения государственного социально-гигиенического мониторинга».
2. Экология и здоровье детей. Под ред. М.Я. Студеникина, А.А. Ефимовой. М.: Медицина, 1998. 384 с.
3. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. К., 2006. 558 с.
4. Собянина Г.Н. Информационно-энтропийный критерий в оценке психосоматического здоровья школьников, обучающихся по инновационной технологии. Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту: Зб. наук. пр. Харків: ХДАДМ, 2007; 3: 129–131.
5. Юшковська О.Г. Вивчення адаптаційних зрушень в організмі спортсменів з позицій теорії інформації. Одеськ. мед. журн. 1999; 5 (55): 13–15.
6. Опритов В.А. Энтропия биосистем. СОЖ 1999; 6: 33–38.
7. Баевский Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии. М.: Медицина, 1979. 282 с.
8. Назарян Р.С., Подригало Л.В., Борисенко А.В. Обґрунтування комплексної системи профілактики запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта з урахуванням аліментарного фону та гомеостатичних особливостей. Актуальные проблемы медицины и биологии: Сб. научн. тр. НМУ им. А.А. Богомольца. К., 2005; 2: 423–427.
9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.
10. Рацион, питание и предупреждение хронических заболеваний. Серия технических докладов. ВОЗ, Женева, 1993. 208 с.
11. Сивовол С.И. Клинические аспекты пародонтологии. Харьков: Фолио, 2001. 168 с.

ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ АЛІМЕНТАРНОГО І СТОМАТОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ В СОЦІАЛЬНО-ГІГІЄНИЧНОМУ МОНІТОРИНГУ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПАРОДОНТА

Л.В. Подригало, Р.С. Назарян, К.М. Сокіл, Н.М. Філатова

За допомогою інформаційно-ентропійного аналізу досліджені особливості аліментарного і стоматологічного статусу осіб, що страждають на запальні захворювання пародонта. З'ясовані основні чинники ризику, підтверджена можливість використання методик, що були застосовані при організації моніторингу здоров'я.

Ключові слова: аліментарний та стоматологічний статус, інформаційно-ентропійний аналіз.

LEARN OF THE PECULIARITY OF ALIMENTARY AND STOMATOLOGICAL STATUS DURING SOCIAL-HYGIENIC MONITORING OF PERIODONTAL INFLAMMATORY DISEASES

L.V. Podrigalo, R.S. Nasaryan, K.M. Sokol, N.M. Filatova

It was learned the peculiarity of alimentary and dentistry status of the person, suffering from the periodontal inflammatory diseases using informational-entropy analysis. It was determined basic risk factors, it was corroborated the possibility of use the methods during the organization of health's monitoring.

Key words: alimentary and dentistry status, informational-entropy analysis.

Поступила 25.12.07

ЭКСПЕРТНАЯ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЛОКСОПОЛИМЕРА ОКИСИ ЭТИЛЕНА И ПРОПИЛЕНА МАРКИ Л-2502-2Б-40

В.И. Жуков, Н.Г. Щербань, Е.А. Шевченко

Харьковский национальный медицинский университет

Изучены параметры токсичности, видовой и половой чувствительности, клинической картины отравления, кумулятивные и аллергенные свойства блоксополимера окиси этилена и пропилена марки Л-2502-2Б-40 в остром санитарно-токсикологическом эксперименте на белых крысах, белых мышах, морских свинках. Вещество отнесено к IV классу опасности.

Ключевые слова: острый опыт, экспериментальные животные, токсичность блоксополимера.

Токсикологическая оценка химических веществ и композиций является одним из важных первоначальных этапов в сложной системе мер разработки и реализации профилактических мероприятий по предотвращению вредного воздействия химических соединений на человека и окружающую среду [1, 2]. Ранее [3] нами в условиях острого санитарно-токсикологического эксперимента на белых крысах, белых мышах и морских свинках была изучена токсичность блоксополимера окиси этилена и пропилена марки Л-2402 «Ц».

Целью настоящей работы было установление параметров токсичности и обоснование класса опасности блоксополимера окиси этилена и пропилена марки Л-2502-2Б-40.

Материал и методы. В эксперименте использованы 42 половозрелые белые крысы популяции Вистар, 36 белых мышей и 16 морских свинок. Среднесмертельные дозы (ДЛ₅₀), кожно-раздражающие, кожно-резорбтивные и аллергенные свойства блоксополимера определили, как и в работе [3], в соответствии с методическими указаниями О.Н. Елизаровой [4], Г.Н. Красовского [5]. Действие на кожу и слизистые изучали на белых крысах и морских свинках. Для изучения кожно-резорбтивного эффекта использовали метод биохемилюминесценции [6, 7]. Предметом изучения служила кровь белых крыс, хвосты которых погружали на 2/3 в пробирки с испытуемым препаратом (опытная группа) и водопроводную воду (контрольная группа). Через 1, 2, 3, 4 часа у животных опытной и контрольной групп забирали кровь из хвостовой вены по 0,1 мл и вносили в пробирку с 2 мл физиологического раствора. Интенсивность сверхслабого свечения образцов растворов крови регистрировали на медицинском био-

хемилюминометре (ХЛМЦ 1-01). Кумулятивные свойства изучали на белых крысах по Г.Н. Красовскому [5]. Использовали следующие дозы: 1/5; 1/10; 1/25; 1/50; 1/100 ДЛ₅₀, что составляло 2,64; 1,32; 0,528; 0,264; 0,132 г/кг массы животного.

Объект изучения – полиоксипропиленоксиэтиленгликоль марки Л-2502-2Б-40, представляет собой прозрачную жидкость светло-желтого цвета, хорошо растворимую в воде и органических растворителях. Вещество по химической структуре относится к классу простых полиэфиров. Статистическая обработка результатов острого опыта проведена по методу Кербера [4].

Результаты и их обсуждение. Среднесмертельные дозы (ДЛ₅₀) при внутрижелудочном введении установлены на уровнях 13,20; 12,48 и 15,0 г/кг массы животного соответственно для белых крыс, белых мышей и морских свинок. Графическим способом определены дозы, приводящие к 16 и 84 % гибели белых крыс и белых мышей в условиях острого воздействия: соответственно 7,5, 7,4 и 18,0, 17,5 г/кг массы животных. Таким образом, полиоксипропиленоксиэтиленгликоль можно отнести к малотоксичным веществам (IV класс опасности), не обладающим видовой чувствительностью.

В клинической картине острого отравления на первый план выступали симптомы нарушения гемодинамики, дыхания и функции ЦНС. Гибель животных отмечалась в 1-е и 2-е сутки наблюдения от момента введения ксенобиотика. Среднеэффективное время гибели (ЕТ₅₀) белых крыс и белых мышей составило 25,2 и 27,8 часа соответственно.

При вскрытии животных макроскопически обнаружено полнокровие внутренних ор-

ганов, вздутие желудка, петель тонкого и толстого кишечника.

Морфологически в большей мере определялись дистрофические и деструктивные изменения в печени, почках, сердце, головном мозге и селезенке.

Коэффициент кумуляции (K_k) на белых крысах установлен на уровне 10,32, что позволило отнести его к слабокумулятивным соединениям (табл. 1).

Не выявлено кожно-раздражающего действия у Л-2502-2Б-40 ни при однократной четырехчасовой экспозиции ксенобиотика в чистом виде, ни при двухнедельном тестировании водных растворов в соотношении 1 : 1. Однократная инстилляционная двухкапельная чистого вещества в конъюнктивальный мешок приводила к незначительной инъекции сосудов слизистой конъюнктивы и склер, что позволяет сделать вывод об отсутствии влияния вещества на слизистые.

Установлено, что интенсивность сверхслабого свечения растворов крови животных опытной группы повышалась во все испытываемые сроки, начиная с первого часа экспозиции (табл. 2).

Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности проникновения вещества через неповрежденную кожу и слизистые. По всей вероятности, в результате поступления вещества в организм экспериментальных животных интенсифицируются окислительно-восстановительные процессы и перекисное свободнорадикальное окисление липидов, которые вызывают повышение интенсивности сверхслабого свечения. Клинических симптомов проявления интоксикации в условиях изучения кожно-резорбтивного действия у животных не отмечалось, что свидетельствует о наличии у блоксополимера

слабых кожно-резорбтивных свойств.

Известно, что алергизация организма возможна при различных путях поступления химических веществ. Многими авторами [3–6] установлено, что дозы, вызывающие токсическое и алергенное действие, не совпадают. Как правило, порог сенсibilизации находится на значительно более низком уровне.

Для выявления алергенного действия использована этапная схема исследований. На первом этапе предусматривалось выявление сенсibilизирующих свойств препарата, на последующих – определение пороговых величин по алергенному эффекту. Эксперимент проведен на морских свинках. Критерием оценки и наличия эффекта сенсibilизации служили кожные проявления и алергологические тесты *in vivo*.

Установлено, что накожные и внутрикожные реакции экспериментальных животных опытных групп не отличались от таковых животных контрольных групп, что свидетельствует об отсутствии у блоксополимера марки Л-2502-2Б-40 сенсibilизирующих свойств при воздействии на организм.

По окончании опыта на 14-е сутки сенсibilизации животных проводились алергологические тесты (*in vitro*) – реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ), реакция специфического повреждения базофилов (РСПБ) и реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ), табл. 3. Как свидетельствуют полученные результаты, количество положительных реакций во всех случаях не достигало 20 %, что в соответствии с методическими указаниями [8] позволяет сделать вывод об отсутствии у ксенобиотика алергенных свойств.

Таблица 1. Параметры токсикометрии блоксополимера Л-2502-2Б-40

| Вид животных | Параметры токсичности | | | | | K_k | ET ₅₀ , ч |
|----------------|-----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------|----------------------|
| | ДЛ ₀ | ДЛ ₁₆ | ДЛ ₅₀ | ДЛ ₈₄ | ДЛ ¹⁰⁰ | | |
| Белые крысы | 5,0 | 7,5 | 13,20 | 18,0 | 20,0 | 10,32 | 25,2 |
| Белые мыши | 5,0 | 7,4 | 12,48 | 17,5 | 20,0 | – | 27,8 |
| Морские свинки | 10,0 | – | 20,00 | – | 30,0 | – | – |

Примечание. Класс опасности – IV.

Таблица 2. Интенсивность сверхслабого свечения растворов крови белых крыс (I) при воздействии на кожу блоксополимера Л-2502-2Б-40

| Группа животных | I, (M±m) имп/с, при экспозиции в течение, ч | | | |
|-----------------|---|---------------|---------------|---------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Контрольная | 961,23±17,20 | 989,75±25,40 | 1021,15±16,30 | 1035,66±23,50 |
| Опытная | 1179,00±35,60 | 1252,70±22,62 | 1344,60±12,68 | 1565,30±34,66 |

Примечание. p<0,05.

Таблиця 3. Оценка сенсибилизирующего и аллергенного действия блоксополимера марки Л-2502-2Б-40

| Группа животных | Показатели in vitro, (M±m) % | | |
|-----------------|------------------------------|---------------|----------------|
| | РСАЛ | РСЛЛ | РСРБ |
| Контрольная | 9,480±0,317 | 1,65±0,05 | 14,500±0,389 |
| Опытная | 12,6200±0,4978 | 2,1880±0,2979 | 16,1900±0,4719 |

Выводы

1. Установлено, что блоксополимер Л-2502-2Б-40 относится к малотоксичным химическим соединениям (IV класс опасности), не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью.

2. Среднесмертельная доза ($ДЛ_{50}$) для белых крыс линии Вистар определена на уровне 13,20 г/кг; для белых мышей – 12,48 г/кг массы животного; коэффициент кумуляции равен 10,32; среднееффективное время гибели животных ($ЕТ_{50}$) составляет 25,2 и 27,8 ч соответственно для белых крыс и мышей. В клинической картине острого отравления

преобладали симптомы нарушения дыхания, гемодинамики и функции ЦНС.

3. Наиболее повреждаемыми органами при пероральном поступлении блоксополимера в организм теплокровных являются печень, почки, сердце, головной мозг и селезенка, которые играют ведущую роль в детоксикации ксенобиотиков.

4. Кожно-раздражающими и аллергенными свойствами блоксополимер Л-2502-2Б-40 не обладает, кожно-резорбтивные свойства присущи в слабой степени. Клинических проявлений симптомов интоксикации при накожных аппликациях вещества не установлено.

Литература

1. Сердюк А.М. Гігієнічні проблеми України на рубежі століть. Гігієнічна наука та практика на рубежі століть: Матер. XIV з'їзду гігієністів України. Т. 1. Дніпропетровськ, 2004: 30–33.
2. Кундиев Ю.И., Трахтенберг И.М. Химическая опасность в Украине и меры профилактики. Там само: 33–36.
3. Щербань Н.Г., Шевченко Е.А. Токсиколого-гигиеническая характеристика блоксополимера окиси этилена и пропилена марки Л-2402 «Ц». Эксперим. і клін. медицина 2007; 4: 145–147.
4. Елизарова О.Н. Определение доз промышленных ядов при пероральном введении. М.: Медицина, 1971. 216 с.
5. Красовский Г.Н. Методологические указания к проведению и оценке результатов острого опыта и их обоснование: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М.: Медгиз, 1965: 46.
6. Щербань Н.Г., Медведев В.М., Коцарь В.Л., Мацкивский В.И. Опыт применения метода хемилюминесценции для интегральной оценки изменений в организме лабораторных животных при гигиеническом нормировании вредных веществ во внешней среде: Хемилюминесцентный метод в биологии и медицине. АН УССР. К., 1978: 61–63.
7. Красовский Г.Н., Жуков В.И., Бондаренко Л.А. и др. Применение метода биофлуоресценции в санитарно-токсикологических исследованиях. Гигиена и санитария 1989; 11: 35–39.
8. Методические указания по изучению аллергенного действия при обосновании предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов. МЗ СССР, № 2185-80. М., 1981: 67.

ТОКСИКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БЛОКСОПОЛІМЕРУ ОКИСУ ЕТИЛЕНУ І ПРОПІЛЕНУ МАРКИ Л-2502-2Б-40

В.І. Жуков, М.Г. Щербань, О.О. Шевченко

Вивчені параметри токсичності, видової і полової чутливості, клінічної картини отруєння, кумулятивні й алергенні властивості блоксополімеру окису етилену і пропілену марки Л-2502-2Б-40 у гострому санітарно-токсикологічному експерименті на білих щурах, білих мишах, морських свинках. Речовину віднесено до IV класу небезпеки.

Ключові слова: гострий дослід, експериментальні тварини, токсичність блоксополімеру.

THE TOXICOLOGIC-HYGIENIC CHARACTERISTIC OF BLOCKSOPOLYMER OF ETHYLENE OXIDE AND PROPYLENE OF MARKING L-2502-2B-40

V.I. Zhukov, N.G. Shcherban, E.A. Shevchenko

The parameters of toxicity, specific and sexual sensitivity, clinical picture, cumulative and allergic features of blocksopolymer of ethylene oxide and propylene marking L-2502-2B-40 were studied on white rats, white mice and guinea pigs during process of acute sanitary-toxicologic experiment. According to the results of investigations this substance has been related to the IV class of danger.

Key words: acute experiment, experimental animals, toxicity of blocksopolymer.

Поступила 18.09.07

ВИДАТНІ ВЧЕНІ ХНМУ

ВЛАДИМИР ПАВЛОВИЧ БОБИН – ВРАЧ,
ОБЩЕСТВЕННЫЙ ДЕЯТЕЛЬ
ХАРЬКОВСКОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБЩЕСТВА
(К 150-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)

В.П. Бобин, 1883 г.

Еще во время учебы в гимназии Владимир Бобин обратил на себя внимание учащихся и преподавателей неожиданным для многих поступком: после смерти отца ему была назначена стипендия. Заявив, что имеет урок и самостоятельно зарабатывает на жизнь, Бобин от стипендии отказался и попросил передать ее одному из беднейших гимназистов. Тогда некоторые посчитали подобный жест позерством, но всей своей последующей жизнью Владимир Павлович доказал его искренность.

В.П. Бобин окончил медицинский факультет Харьковского университета, после этого работал на кафедре общей патологии под руководством проф. И.Н. Оболенского. Владимир Павлович в силу активного характера стремился проверить себя на практике и с ноября 1884 г. начал работать врачом-распорядителем лечебницы, а менее чем через год и больницы ХМО. Сорок три года он руководил деятельностью этой больницы.

Лечебница и больница, созданные харьковскими врачами-общественниками, составили славу ХМО. Они обслуживали население не только Харькова и губернии, но и фактически всей левобережной Украины и близлежащих губерний России. При лечебнице по инициативе В.П. Бобина был организован пункт оказания экстренной помощи. В.П. Бобин, квартира которого находилась при больнице, и днем и ночью оказывал медицинскую помощь пострадавшим. Владимир Павлович так привык к своей роли, что малейший шум, стук в дверь амбулатории среди ночной тишины будил его, и он из своей спальни звонил в электрический звонок, будил спящего в больнице дежурного, требовал к себе, делал распоряжения, чтобы оказать помощь больному или пострадавшему. В отчете о 25-летней деятельности больницы (1910 г.) Владимир Павлович указывал: «Но самым главным и важным преимуществом, которым по справедливости гордится наша больница, служит то обстоятельство, что в ней могут помещаться больные, независимо от каких бы то ни было условностей, в виде места жительства, сословия, вероисповедания и т. д. Другими словами, она удовлетворяет нужды прежде всего больного человека». Из года в год росло количество больных, обращавшихся за помощью в больницу. Так, в 1885 г. в ней лечилось 20 больных, в 1890 – 116, в 1905 – 120,

в 1910 – 160. А всего за 25 лет (1885–1910) – 2 865 больных и 494 роженицы. В лечебнице за это время проходили лечение ежегодно в среднем 11–13 тыс. больных. И были это в основном беднейшие слои населения – рабочие и крестьяне Харьковской и других губерний. Больница ХМО имела в дальнейшем терапевтический и хирургический стационар, которым заведовал второй врач – проф. В.Г. Пржевальский, а также несколько родильных коек; в больницу обращались главным образом тяжелые больные с травмами и ранениями, а также с заболеваниями органов пищеварения, дыхания, кровообращения, инфекционными. Помимо лечебной работы, врачи больницы проводили научные конференции, привлекавшие широкие круги не только практических врачей, но и профессоров-клиницистов Харьковского университета.



Группа студентов медицинского факультета Харьковского университета (второй справа – В.П. Бобин, 1881 г.)

В своих воспоминаниях сын В.П. Бобина Виктор Владимирович, в дальнейшем основоположник Крымской школы морфологов, писал: «Отец был специалистом-терапевтом, но обладал громадными знаниями в области многих отраслей медицины, и в его записях и медицинских календарях постоянно фигурировали рефераты новейших сведений из отечественных и иностранных журналов».

В.П. Бобин вел многогранную деятельность не только как врач, но и как общественный деятель. В 1910–1912 гг. он как руководитель строительной комиссии ХМО вместе с архитектором А.Н. Бекетовым работает над созданием «Дворца медицины», ныне широко известного в нашей стране и за рубежом Харьковского НИИ микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова. Он был председателем попечительского совета Александровской больницы, добился от городской думы выделения средств на строительство гинекологического корпуса и сам возглавил его строительство. В 1892 г. по его предложению в Харькове открыли отделение Санкт-Петербургского общества взаимопомощи. Много лет В.П. Бобин был школьным врачом 3-й Харьковской гимназии и своей деятельностью показал, насколько важна роль школьного врача. Вместе со своим братом Павлом Павловичем в течение ряда лет он исследовал лечебное действие Березовских минеральных вод и доказал важность их применения при лечении многих заболеваний.

Многолетний, самоотверженный, бескорыстный труд В.П. Бобина, его чуткое, внимательное отношение к людям, кристальная честность, активное участие во всех делах и начинаниях медицинского общества снискали ему глубокое уважение, признательность и любовь как медицинских работников, так и широких слоев населения. В 1906 г., когда медицинская общественность Харькова чествовала Владимира Павловича в связи с 25-летним юбилеем его врачебной деятельности, ХМО на своем заседании избрало его своим почетным членом, его именем была названа одна из коек больницы. В адресе юбиляру говорилось: «Как врач-распорядитель бесплатных лечебницы и больницы ХМО Вы своим врачебным опытом и знаниями при участливом и гуманном отношении к больным стяжали себе широкую популярность среди беднейшего городского населения». Доктор А.М. Мамутов, выступая на торжественном

заседании, сказал: «Всякая просьба товарищей – была ли эта просьба медицинского, морального или материального характера – встречала в Вашем сердце самый теплый отклик. Вы никогда не делали разницы между эллином и иудеем, и не делали разницы даже в те времена, когда, увы, это считалось чуть ли не подвигом». Владимира Павловича приветствовали представители городских медицинских и других учреждений. В адрес юбиляра шли приветственные телеграммы из разных городов Украины и России. Интересна телеграмма от рабочих одной из харьковских типографий: «Горячо приветствуем достойного врача-юбиляра!!! Сердечно благодарим за постоянное и теплое участие к нашему брату больному рабочему, искренне желаем «врачу бедных» долгой плодотворной работы на благо нуждающегося человечества. Благодарные рабочие из типографии Зильберга».



В.П. Бобин и медицинский персонал лечебницы ХМО (сидит слева первый)

В ответной речи на этом торжественном заседании Владимир Павлович сказал: «...Я смотрю на настоящее торжественное чествование как на общественное явление. Я полагаю, что в моем лице медицинское общество видит лишь врача, прослужившего обществу 25 лет, и желает показать своей оценкой его труда, что 25-летний врачебный труд – есть тяжелый подвиг, о тяжести которого большое общество может судить не всегда правильно».

После Октябрьской революции Владимир Павлович продолжал руководить лечебницей медицинского общества, преобразованной в 1923 г. в больницу Протозойного института. Нарком Рабоче-крестьянской инспекции поручил ему обследование лечебных учреждений города. Возглавляемая им общественная комиссия внесла ряд предложений, осуществление которых помогло улучшению дела здравоохранения в городе.

Умер Владимир Павлович Бобин 11 ноября 1925 г. после тяжелой болезни. Правление ХМО в письме в Нарком здравоохранения Украины отмечало, что В.П. Бобин «был известен своей бескорыстной и гуманной деятельностью далеко за пределами Украины, его имя было символом высокой честности, добросовестного отношения к врачебному труду, внимательно-го и любовного отношения к больному трудящемуся».

*Профессор Н.И. Хвисюк,
профессор В.В. Бобин,
Г.И. Андреев, В.И. Андреева*

ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА ЗІНЧЕНКО-ГЛАДКИХ ВАЛЕНТИНИ ДМИТРІВНИ



1 січня 2008 р. на 85-му році раптово померла доктор медичних наук, професор Зінченко-Гладких Валентина Дмитрівна, яка довгий час завідувала кафедрою оперативної хірургії та топографічної анатомії Харківського медичного інституту.

Пішла з життя чудовий педагог, видатний вчений, яка за своє життя зробила значний внесок в рішення актуальних питань прикладної морфології.

Зінченко-Гладких Валентина Дмитрівна народилася 12 травня 1923 р. у сім'ї робочих в м. Єнакієвому Донецької області. В 1941 р. стала студенткою Воронежського медичного інституту, потім перевелася на лікувальний факультет Харківського медичного інституту. Після закінчення інституту у 1946 р. Валентина Дмитрівна вступила до аспірантури на кафедру оперативної хірургії та топографічної анатомії ХМІ, яку на той час очолював професор І.М. Фаєрман. У 1951 р. захистила кандидатську дисертацію «Анатомічне обґрунтування оперативних доступів до

люмбального відділу прикордонного стовбура симпатичного нерва». Науковим консультантом був професор С.Л. Мінкін – завідувач кафедри загальної хірургії ХМІ. Після закінчення аспірантури в 1949 р. В.Д. Зінченко-Гладких була обрана асистентом, в 1960 р. – доцентом кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії.

В 1965 р. захистила дисертацію на здобуття вченого ступеня доктора медичних наук. З 1966 по 1975 р. працювала професором кафедри і деканом педіатричного факультету. В 1975–1990 р. – завідувач кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії. З 1990 по 1998 р. – професор цієї ж кафедри. З 1998 р. Валентина Дмитрівна була на заслуженому відпочинку.

Вона – автор понад 220 наукових робіт і співавтор 10 методичних посібників, авторського свідоцтва на винахід «Спосіб лікування евентрацій після лапаротомії у дітей», понад 40 раціоналізаторських пропозицій.

Основним напрямком наукової діяльності В.Д. Зінченко-Гладких було обґрунтування міопластичних операцій на нижній кінцівці, цьому присвячена її докторська дисертація. Валентина Дмитрівна вивчала можливість невротизації паралізованого м'яза за допомогою аксонів м'язового шматка на ніжці, а також вплив лазерного випромінювання на прискорення відновлювання нервово-м'язових зв'язків у частково денервованому м'язі.

Різносторонні знання, велика ерудиція, талант наукового керівника, педагога, великий особистий досвід дозволили Валентині Дмитрівні підготувати тисячі лікарів. Під її керівництвом захистили кандидатські дисертації 7 науковців.

В.Д. Зінченко-Гладких багато років була членом правління Республіканської спілки анатомів, гістологів та ембріологів, членом спеціалізованої ради з захисту докторських і кандидатських дисертацій при ХДМУ.

Валентина Дмитрівна була людиною високої гідності, комунікабельною, простою у спілкуванні, завжди готовою допомогти порадою та ділом.

Пам'ять про Валентину Дмитрівну, яка віддала свої знання, талант справі навчання та виховання медичних кадрів, назавжди залишиться в серцях і ділах її учнів, колег, друзів.

*Професор М.О. Михалін
Доцент Ж.І. Логвінова*

ЮВІЛЕЙ

ЛУПИР ВІКТОР МИХАЙЛОВИЧ
ДО 70-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ

З березня 2008 р. виповнилося 70 років від дня народження та 40 років науково-педагогічної діяльності доктора медичних наук, професора кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету, академіка Міжнародної академії інтегративної антропології та Української академії національного прогресу Лупири Віктора Михайловича.

Віктор Михайлович народився у смт Славгороді Краснопільського р-ну Сумської області. У 1968 р. з відзнакою закінчив лікувальний факультет Харківського медичного інституту і того ж року був зарахований в аспірантуру на кафедру анатомії людини. В 1971 р. закінчив аспірантуру та під керівництвом відомого вченого-анатома професора Р.Д. Синельникова захистив кандидатську дисертацію «Нерви та судини сечоводів людини та деяких тварин», після чого був обраний за конкурсом асистентом, а з 1976 р. – доцентом кафедри анатомії людини. У 1987 р. під науковою консультацією професора В.В. Бобіна захистив докторську дисертацію «Макромікроскопічна анатомія та міелоархітектоніка нервів печінки людини». З 1989 по 1993 р. – професор кафедри анатомії; з 1986 по 1993 р. – проректор університету з навчальної роботи; з 1993 по 2004 р. – завідувач кафедри анатомії людини, а з 2004 р. по теперішній час – професор цієї кафедри. Свої наукові дослідження В.М. Лупир присвятив вивченню макромікроскопічної анатомії периферійного відділу вегетативної та соматичної нервової системи в нормі та під впливом деяких факторів зовнішнього середовища. Ним опубліковано понад 250 наукових праць, у тому числі 6 монографій, 12 навчально-методичних посібників, 3 підручники. Під його керівництвом підготовлено 10 кандидатів та 2 доктори наук. В.М. Лупир має 5 деклараційних патентів на винаходи, є активним учасником багатьох міжнародних і Українських з'їздів і симпозіумів з анатомії та інтегративної антропології. Він – почесний професор ХНМУ, член Президії Українського товариства анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів, член редакційних колегій багатьох наукових журналів України. З 1991 по 2007 р. був Головою спеціалізованої вченої ради при ХДМУ із захисту докторських дисертацій за спеціальностями «Нормальна анатомія» та «Патологічна фізіологія».

Віктор Михайлович – чудовий сім'янин. Разом з дружиною Вірою Василівною, лікарем, яка все життя пропрацювала в практичній охороні здоров'я, вони виховали сина Андрія та доньку Марину. Діти пішли стопами батьків і теж стали лікарями. Андрій – кандидат медичних наук, доцент кафедри ЛОР-хвороб, Марина – аспірант кафедри патологічної фізіології нашого університету. Онука Марія у цьому навчальному році закінчує середню школу і теж мріє стати лікарем.

Колеги та численні учні вітають Віктора Михайловича з ювілеєм і бажають міцного здоров'я, сімейного благополуччя та подальших творчих успіхів.

*Кафедра анатомії людини
Харківське наукове товариство АГЕТ
Президія Українського товариства АГЕТ
Ректорат ХНМУ*