

# ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 616.428-002.2-091.8

*Н.А. Клименко, И.В. Сорокина, М.А. Кучерявченко, Н.И. Горголь*

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ РЕГИОНАРНЫХ И ОТДАЛЁННЫХ ЛИМФОУЗЛОВ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

*Харьковский национальный медицинский университет*

Изучено морфофункциональное состояние регионарных и отдалённых лимфоузлов при вторично хроническом воспалении. Установлено, что клеточность регионарных лимфоузлов уменьшается, а не увеличивается, как при остром воспалении, а отдалённых лимфоузлов – наоборот. В регионарных и отдалённых лимфоузлах при вторично хроническом воспалении по сравнению с острым меньше выражены гуморальные иммунные реакции и больше – клеточные. В клеточных иммунных реакциях менее выражена хелперная и больше супрессорная активность.

**Ключевые слова:** воспаление, иммунная система, лимфоузлы.

Ранее нами было изучено морфофункциональное состояние регионарных и отдалённых лимфоузлов при остром воспалении [1]. То, что в регионарных лимфоузлах клеточность возрастает, а в отдалённых – снижается, свидетельствует о большей активации регионарных лимфоузлов, выражающейся в преобладании пролиферации лимфоцитов над их миграцией в кровь. Иммунные реакции в регионарных и отдалённых лимфатических узлах однотипны по характеру. Отличительными особенностями являются некоторая задержка во времени начала развёртывания иммунной реакции, а также меньшая степень выраженности макрофагальной реакции и плазматизации в отдалённых лимфоузлах.

Значительный теоретический и практический интерес представляет изучение реакций лимфоузлов при различных по течению воспалительных процессах, в частности при вторично хроническом (хронизирующемся) воспалении. Такое воспаление является одним из исходов острого и часто встречается в клинике [2, 3].

Цель исследования – установить особенности и закономерности морфофункциональных изменений в регионарных и отдалённых лимфоузлах при вторично хроническом воспалении.

**Материал и методы.** Эксперимент проведён на 68 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, которых содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Моделью воспаления служило вторично хроническое карагиненовое асептическое воспаление, вызванное подкожным введением 10 мг  $\lambda$ -карагинена («Sigma», США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [4]. В динамике воспаления, начиная с 6-го часа и до 28-х суток, исследовали регионарные и отдалённые лимфатические узлы на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм. Общеморфологические и морфометрические исследования проводили с помощью обзорной окраски гематоксилином и эозином и по ван Гизон [5]. Для характеристики компонентов исследуемых лимфатических узлов на препаратах определяли относительный объём

© Н.А. Клименко и др.

коркового вещества, паракортикальной зоны и мозгового вещества, а также вычисляли плотность клеточных элементов в условных единицах площади диффузного коркового плато, паракортикальной зоны и мозгового вещества. Препараты изучали с помощью микроскопа «Olympus BX-41» (Япония) с последующим фотографированием.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм непрямым и прямым методами Кунса по методике Brosnan [6]. Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител (МКА) фирмы «Serotec» (Великобритания) к различным клонам клеток: CD3 (общие Т-лимфоциты), CD45RA (В-лимфоциты), CD8 (Т-супрессоры), CD4 (Т-хелперы), ED1 (макрофаги/моноциты), а также антисывороток к IgG и IgE. В качестве люминесцентной метки использовали F(ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали и фотографировали в люминесцентном микроскопе «Axioskop 40» (ФРГ). Относительные объёмы основных клонов иммунных клеток также определяли с помощью микроскопа «Axioskop 40».

Статистическую обработку результатов проводили по непарному критерию Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** При вторично хроническом воспалении в регионарных лимфоузлах происходит первоначальное (к 6-му часу) снижение плотности клеточных элементов в коре и паракортикальном слое, сопровождающееся одновременным некоторым её увеличением в мозговом слое. В дальнейшем, начиная с первых суток воспаления, плотность клеточных элементов во всех слоях возрастает по отношению к 6-му часу и держится в коре и паракортикальном слое примерно на одном уровне на протяжении всего эксперимента, снижаясь существенно на 28-е сутки. В мозговом слое прослежены более частые колебания плотности клеток – снижение даже ниже контроля на 7-е–14-е сутки, восстановление на 21-е сутки и вновь снижение на 28-е. К концу эксперимента показатели плотности клеточных элементов во всех слоях оказываются примерно на одном уровне (рис. 1).

Таким образом, в регионарном лимфоузле при вторично хроническом воспалении сначала усиленная миграция Т-клеток в кровь преобладает над активацией пролиферативных процессов, затем эти явления

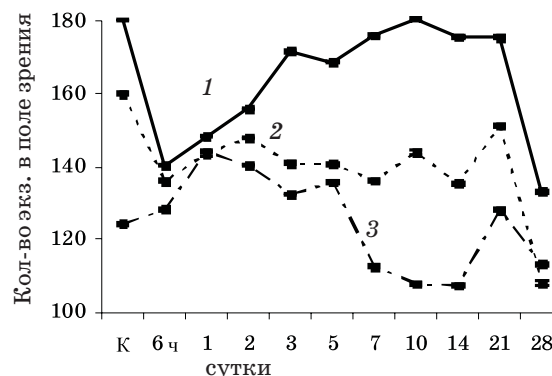


Рис. 1. Плотность клеточных элементов регионарных лимфатических узлов в коре (1), мозговом веществе (2) и паракортикальном слое (3) при вторично хроническом воспалении у крыс

уравновешиваются, так что клеточность коры и клеточность паракортикальной зоны находятся почти на уровне контроля. В мозговом веществе пролиферация преобладает с самого начала воспаления, так что развивается гиперплазия, но на 7-е–14-е сутки отмечается усиленная миграция В-клеток и клеточность в мозговой зоне становится меньше контрольного уровня. К 21-м суткам она восстанавливается, а к 28-м вновь начинает снижаться (рис. 1).

Иными словами, обнаруживаются фазные изменения в клеточности лимфоузлов, что, по-видимому, взаимосвязано с фазностью клеточных реакций в очаге и периферической крови, которая, как известно, характерна для хронического воспаления, обуславливая обострения и ремиссии [7]. Фазность изменений проявляется и со стороны клонального состава иммунных клеток (рис. 2). При этом изменения касаются обоих звеньев иммунного ответа – клеточного в виде снижения Т-хелперной активности и повышения Т-супрессорной, гуморального – в виде как повышения количества В-лимфоцитов, так и усиления продукции IgG и IgE на фоне усиленной макрофагальной реакции.

В отдалённых лимфоузлах происходит первоначальное (к 6-му часу) снижение плотности клеточных элементов в коре и паракортикальном слое с одновременным увеличением плотности в мозговом слое, что совпадает с аналогичными сдвигами в регионарных лимфоузлах. Начиная с первых суток плотность клеточных элементов во всех слоях возрастает относительно 6-го часа и остаётся в мозговом и паракортикальном слоях длительно на одном уровне, близком к контролю, заметно снижаясь на

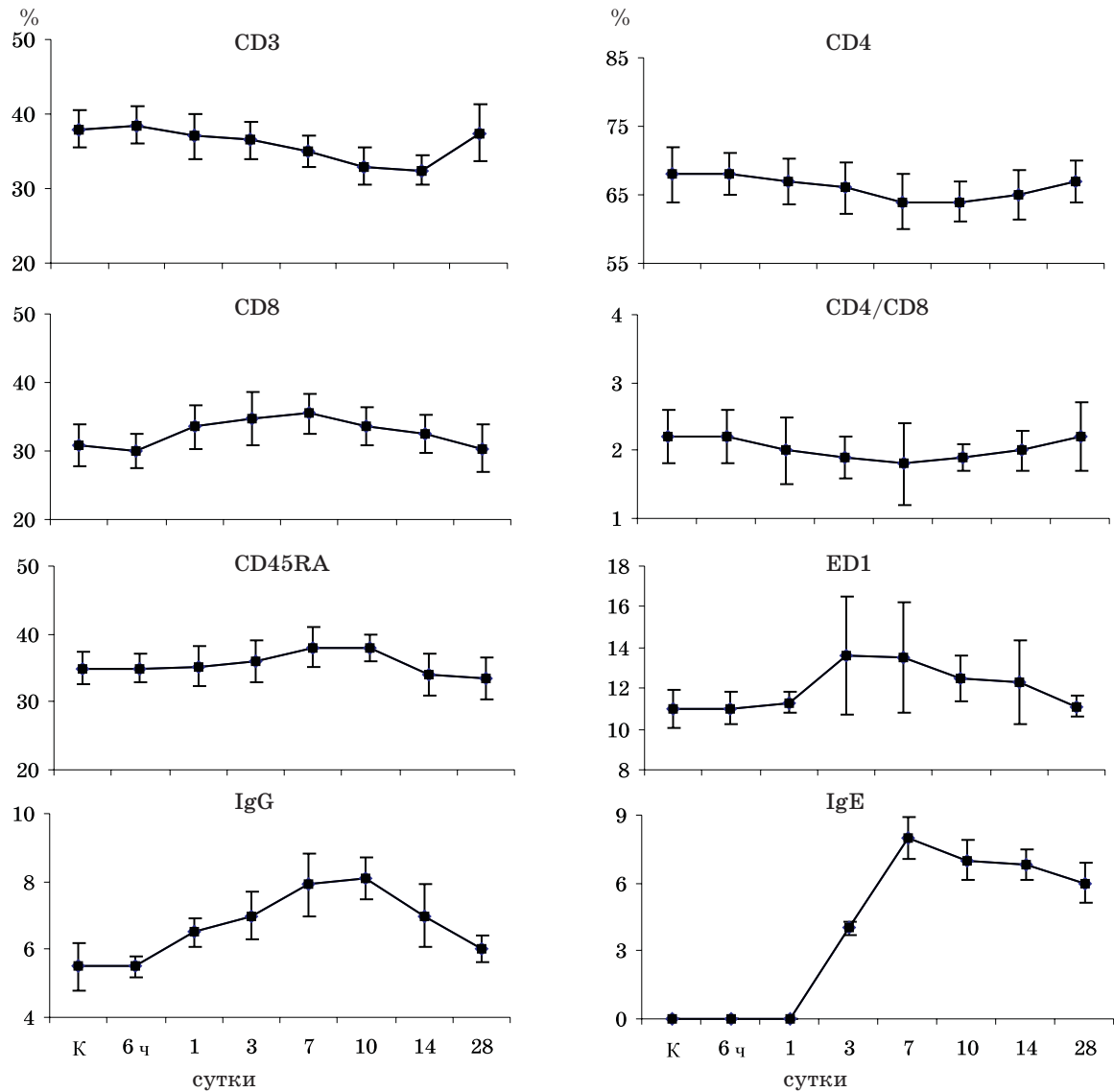


Рис. 2. Относительный объём основных клонов иммунных клеток в регионарных лимфоузлах крыс в динамике вторично хронического воспаления

14-е сутки. В то же время в корковом слое с третьих и до 10-х суток отмечаются гиперпластические процессы, что проявляется высокой плотностью клеточных элементов. Плотность клеточных элементов во всех слоях, особенно в коре, максимальна на 10-е сутки воспаления. На 14-е сутки снижается плотность клеточных элементов во всех исследованных слоях лимфоузлов по сравнению с 10-ми сутками, с подъёмом в паракортикальном и мозговом слоях на 21-е сутки, а в коре на 28-е. На 28-е сутки воспаления показатели плотности клеточных элементов во всех слоях оказываются на уровне контрольных (рис. 3).

Таким образом, в отдалённом лимфоузле при вторично хроническом воспалении

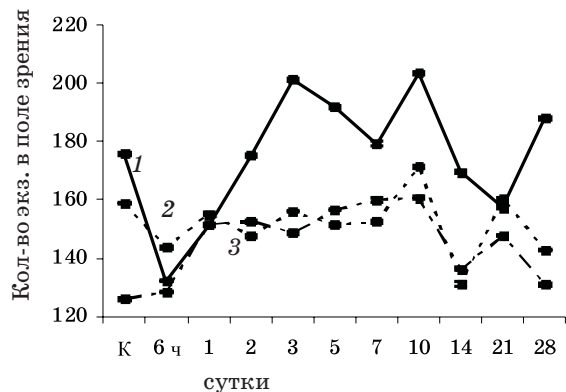


Рис. 3. Плотность клеточных элементов отдалённых лимфатических узлов в коре (1), мозговом веществе (2) и паракортикальном слое (3) при вторично хроническом воспалении у крыс

первоначально усиленная миграция Т-клеток преобладает над активацией пролиферативных процессов, так что клеточность коры и паракортикальной зоны снижается. Затем в коре пролиферативные процессы нарастают, и ко вторым суткам клеточность восстанавливается, а к третьим суткам наблюдается гиперплазия коры. В паракортикальном слое нарастание пролиферативных процессов приводит к восстановлению клеточности к первым суткам практически до значений в контроле и затем с небольшими колебаниями к удержанию её на таком уровне до седьмых суток. В мозговом слое гиперпластические явления отмечаются с самого начала воспаления, так что с первых и практически до 28-х суток наблюдается гиперплазия ткани (рис. 3).

Клеточность отдалённых лимфоузлов в динамике воспаления претерпевает довольно значительные колебания, отражающие, по-видимому, изменения соотношения явлений миграции и пролиферации в связи с фазностью клеточных реакций при хроническом воспалении.

Характер изменений основных клонов иммунных клеток подобен таковому в регионарных лимфатических узлах. Снижается Т-хелперная активность и нарастает Т-супрессорная, повышается количество В-лимфоцитов, а также клеток-продуцентов IgG и IgE, усиливается макрофагальная реакция (рис. 4). По сравнению с регионарными лимфоузлами всё указанное менее выражено и развивается в более поздние сроки воспаления.

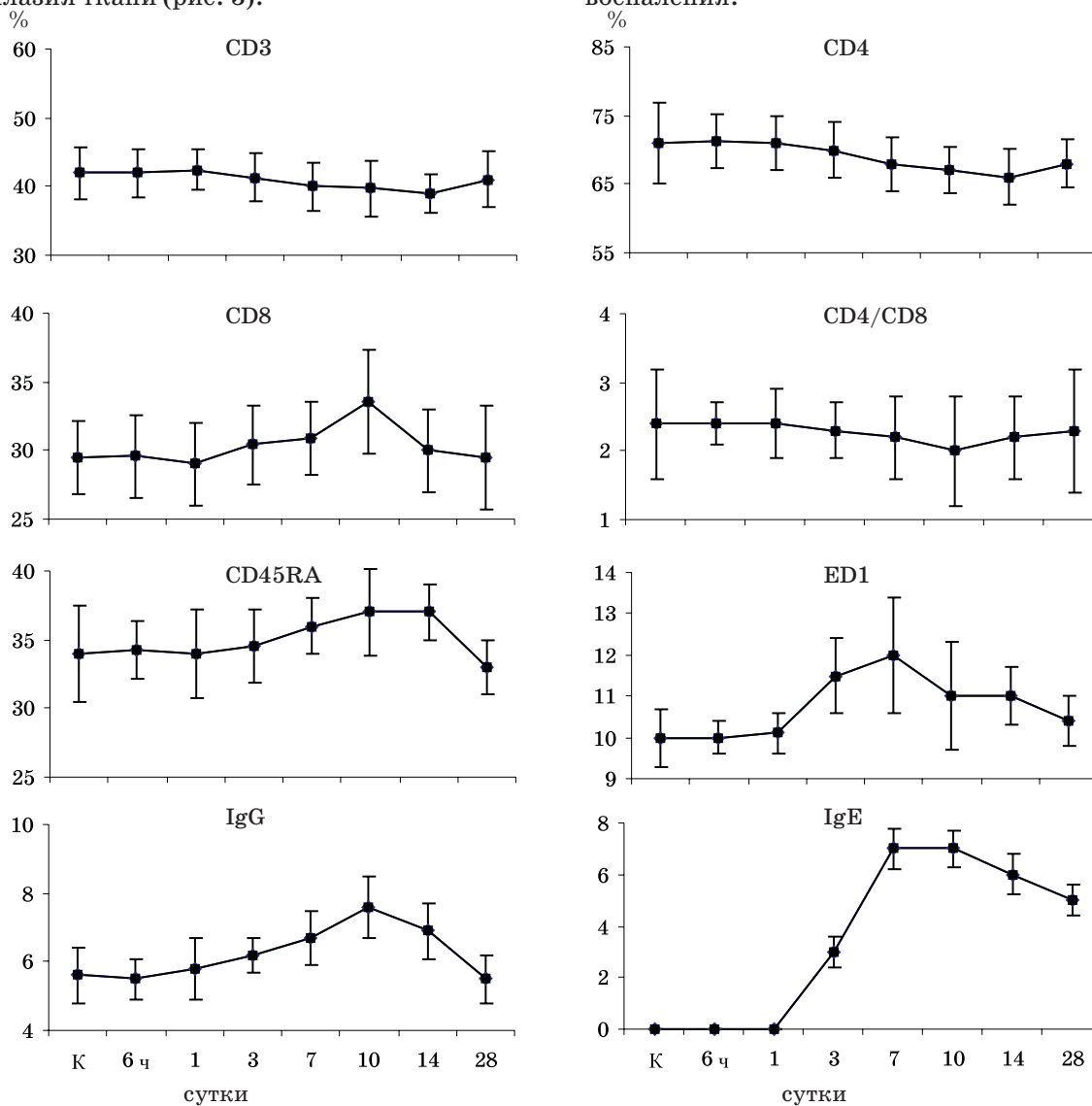


Рис. 4. Относительный объём основных клонов иммунных клеток в отдалённых лимфоузлах крыс в динамике вторично хронического воспаления

При сравнении полученных результатов с таковыми при остром воспалении [1] обнаруживается, что в то время как при остром процессе плотность клеточных элементов в регионарных лимфоузлах в динамике воспаления в основном повышена, при вторично хроническом – снижена, то есть в первом случае пролиферация преобладает над выходом клеток в кровь, а во втором напротив – выход клеток в кровь превалирует над пролиферацией, что, по-видимому, объясняется тем, что при хроническом воспалении происходит более выраженная, чем при остром, эмиграция лимфоцитов в очаг [4, 7].

В отдалённых лимфоузлах при остром воспалении клеточность заметно снижена, в то время как при вторично хроническом в основном повышена, что, по-видимому, свидетельствует о большей активации отдалённых лимфоузлов в связи с более выраженным вовлечением лимфоцитов в последнем случае.

Относительное содержание CD3<sup>+</sup>-клеток в регионарных лимфоузлах при остром воспалении снижается, а CD45RA<sup>+</sup>-клеток увеличивается, что свидетельствует о преимущественном вовлечении гуморального иммунитета. При вторично хроническом воспалении эти изменения выражены меньше, что указывает на меньшее вовлечение гуморального иммунитета и большее – клеточного.

Количество CD4<sup>+</sup>-клеток при остром воспалении возрастает, CD8<sup>+</sup>-клеток уменьшается, а соотношение CD4/CD8 (иммунорегуляторный индекс) увеличивается, что свидетельствует о преобладании хелперной активности в клеточном иммунитете. В то же

время при вторично хроническом воспалении происходят обратные изменения этих показателей, что указывает на ослабление хелперной и усиление супрессорной активности.

В отдалённых лимфоузлах отличия в иммунных реакциях при остром и вторично хроническом воспалении аналогичны по направленности таковым в регионарных. При вторично хроническом воспалении обнаруживаются те же закономерности, что и при остром, при сравнении иммунных реакций регионарных и отдалённых лимфоузлов: однотипность изменений и некоторая задержка во времени начала развёртывания иммунной реакции и меньшая степень её выраженности в отдалённых лимфоузлах.

### Выводы

1. При вторично хроническом воспалении клеточность регионарных лимфоузлов уменьшается, а не увеличивается, как при остром, а в отдалённых лимфоузлах наоборот.

2. По данным относительных объёмов основных клонов иммунных клеток, в регионарных и отдалённых лимфоузлах при вторично хроническом воспалении по сравнению с острым меньше выражены гуморальные иммунные реакции и больше – клеточные, в клеточных иммунных реакциях менее выражена хелперная и больше супрессорная активность.

3. При вторично хроническом воспалении, как и при остром, в регионарных и отдалённых лимфоузлах происходят однонаправленные изменения иммунных реакций с некоторой задержкой начала и меньшей степенью выраженности иммунных реакций в отдалённых лимфоузлах по сравнению с регионарными.

### Литература

1. Морфофункциональное состояние регионарных и отдалённых лимфоузлов при остром инфекционном воспалении / Н.А. Клименко, И.В. Сорокина, М.А. Кучерявченко, Н.И. Горголь // Медицина сьогодні і завтра. – 2010. – № 1. – С. 4–9.
2. Клименко Н.А. Современные аспекты общей патологии воспаления / Н.А. Клименко // Эксперим. і клін. медицина. – 1998. – № 1. – С. 8–14.
3. Хаитов Р.М. Современные представления о защите организма от инфекции / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – № 1. – С. 61–64.
4. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления / Н.А. Клименко, С.В. Татарко, А.Н. Шевченко, Г.И. Губина-Вакулик // Эксперим. і клін. медицина. – 2007. – № 2. – С. 24–28.
5. Меркулов Г.А. Курс патогистохимической техники / Г.А. Меркулов. – Л.: Медгиз, 1961. – С. 340.
6. Brosman M. Immunofluorescence vysetrovanie formalinovego material / M. Brosman // Čs. Patol. – 1979. – V. 15, № 4. – P. 215–220.
7. Клименко Н.А. Клеточный состав и экспрессия адгезивных молекул очага подкожного карагиненового асептического воспаления у крыс в динамике / Н.А. Клименко, А.Н. Шевченко // Укр. морфол. альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 30–32.

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

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РЕГІОНАРНИХ І ВІДДАЛЕНИХ ЛІМФОВУЗЛІВ ПРИ ВТОРИННО ХРОНІЧНОМУ ЗАПАЛЕННІ**

Вивчено морфофункціональний стан регіонарних і віддалених лімфатичних вузлів при вторинно хронічному запаленні. Встановлено, що клітинність регіонарних лімфовузлів зменшується, а не збільшується, як при гострому запаленні, а у віддалених лімфовузлах – навпаки. У регіонарних і віддалених лімфовузлах при вторинно хронічному запаленні в порівнянні з гострим менше виражені гуморальні імунні реакції і більше – клітинні. У клітинних імунних реакціях менш виражена хелперна і більше супресорна активність.

**Ключові слова:** запалення, імунна система, лімфовузли.

*N.A. Klimenko, I.V. Sorokina, M.A. Kucheryavchenko, N.I. Gorgol'*

**MORPHOFUNCTIONAL STATE OF REGIONAL AND PERIPHERAL LYMPHONODES AT SECONDARY CHRONIC INFLAMMATION**

The morphofunctional state of regional and peripheral lymphonodes is studied at secondary chronic inflammation. It is established, that in regional lymphonodes cellularity decreases instead of increasing as at an acute inflammation, and in peripheral lymphonodes there are opposite changes. In regional and peripheral lymphonodes at secondary chronic inflammation in comparison with acute infections inflammation there are less expressed humoral immune reactions and more expressed cellular ones. In cellular immune reaction there is less expressed helper activity and more expressed supressor one.

**Key words:** inflammation, immune system, lymphonodes.

*Поступила 21.04.10*

УДК 616-018.46-053.1./ .31-091.8:618.3-06:616.8-009.24

*Д.И. Галата*

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОСТНОГО МОЗГА ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЁННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

*Харьковский национальный медицинский университет*

Показана зависимость морфологического состояния костного мозга плодов и новорождённых как от степени зрелости плода и новорождённого, так и от тяжести преэклампсии матери.

**Ключевые слова:** плод, новорождённый, костный мозг, преэклампсия.

Мать–плацента–плод – единая система, деятельность которой направлена на осуществление главной репродуктивной задачи – вынашивание и рождение здорового ребёнка [1]. Патологические изменения при преэклампсии происходят во всех элементах данной функциональной системы [2]. Здоровье новорождённого в значительной мере определяется течением антенатального и перинатального периодов развития человека. В первой половине беременности происходит закладка органов иммунной системы и появление в них функционально активных иммунокомпетентных клеток. Сразу после рождения новорождённый испытывает на себе воздействие внешнего мира с его разнообразием физиологических и патологических антигенов, на которые иммунная система ребёнка должна реагировать чётко выраженными иммунными реакциями [3].

Особое место в иммунной системе новорождённого занимает лимфоидный росток костного мозга. Именно костный мозг является центральным органом гуморального иммунитета, также он необходим для функционирования иммунной системы в целом, в том числе для становления и поддержания иммунологической компетенции организма в дальнейшем онтогенезе [4].

Цель настоящего исследования – выявление морфологических особенностей лимфоидного ростка костного мозга плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией в зависимости от степени тяжести преэклампсии с учётом степени зрелости мертворождённых и умерших новорождённых.

**Материал и методы.** Материалом исследования служили 67 мертворождённых и умерших новорождённых от матерей, беременность которых была осложнена преэклампсией. В группу сравнения (контроля) вошли 19 плодов и умерших новорождённых от здоровых матерей. Все плоды погибли интранатально вследствие острого нарушения пуповинно-плацентарного кровообращения (преждевременная отслойка плаценты) или от родовой травмы. Новорождённые погибли от постнатальной асфиксии. Все плоды и новорождённые от матерей с преэклампсией были разделены на три группы в зависимости от тяжести преэклампсии. В 1-ю группу вошёл 21 плод и новорождённый от матерей с преэклампсией лёгкой степени тяжести (группа ПЭ-1), во 2-ю – 26 плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией средней тяжести (группа ПЭ-2) и в 3-ю – 20 плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией тяжёлой степени (группа ПЭ-3). Внутри каждой группы материал разделили на доношенных (срок гестации 37–41 неделя) и недоношенных (срок гестации 31–36 недель) плодов и новорождённых. Материал собран в период 1998–2008 гг. в перинатальной пренекторке 1-й городской больницы г. Харькова. Во время вскрытия плоды взвешивали, измеряли их длину, оценивали соответствие морфологических показателей сроку гестации. Из грудины вырезали кусочек с костным мозгом. Материал фиксировали в 10% -ном нейтральном формалине. После спиртовой проводки и заливки в целлоидин-парафин изготавливали серийные

© Д.И. Галата.

срезы толщиной 5–6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, а также использовали для иммуногистохимического исследования по непрямому методу Кунса в модификации Brosnan (1979). Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител (МКА) к различным типам клеток (СПА). Выявляли CD22, HLA-Dr, IgM. В качестве люминесцентной метки использовали F(ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе «Axioscop 40», а также «Olympus BX-41» с последующим видеомикроскопическим фотографированием. Комплекс морфометрических исследований проводили на серийных срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, на микроскопе «Olympus BX-41». С помощью сетки и линейки Г.Г. Автандилова на срезах, обработанных МКА, определяли относительные объёмы основных клонов иммунных клеток. Плотность клеток подсчитывали в 1 мм<sup>2</sup>. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента с соблюдением условия ( $n_1+n_2-2$ ) при степени вероятности  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Гистологическая структура костного мозга во всех исследуемых группах была сходной и представляла собой соединительнотканную строму с расположенными в петлях клеточными элементами миелоидной ткани, что не противоречит данным [5]. Строма костного мозга во всех группах была представлена коллагеновыми и ретикулярными волокнами, фибробластами, эпителиоретикулоцитами, единичными макрофагами, остеогенными элементами и жировыми клетками. Среди миелоидных клеточных элементов определены эритроциты, мегакариоциты, которые являются предшественниками тромбоцитов, а также не дифференцируемые при стандартных окрасках другие клеточные клоны. В связи с этим для дальнейшего изучения гистологической структуры костного мозга использовали метод [4]. Сначала подсчитали плотность ядерных клеточных элементов в условной единице площади, исключая мегакариоциты, после чего выделили В-клеточную популяцию, используя иммуногистохимический метод. При этом среди клеток, реагирующих с МКА против антигенов В-лимфоцитов, были выделены зрелые В-лимфоциты (клетки

с антигеном CD22), миелоциты с антигеном HLA-Dr – клетки различной степени дифференцировки, а также пре-В-лимфоциты, несущие антиген IgM.

Углублённое морфометрическое и иммуногистохимическое исследование миелоидной ткани доношенных плодов и новорождённых показало, что при преэклампсии лёгкой степени тяжести плотность клеток в лимфоидном ростке костного мозга практически не отличалась от таковой в группе контроля (табл. 1). Однако отмечается небольшое увеличение относительного объёма всех клонов В-клеток, что свидетельствует о незначительной пролиферации В-лимфоидного ростка костного мозга. Также выявля-

*Таблица 1. Плотность клеток в лимфоидном ростке костного мозга доношенных и недоношенных плодов и новорождённых*

Группа	n	Плотность клеток (M±m)
<i>Доношенные</i>		
Контроль	12	7876±5,90
ПЭ-1	13	7902±5,14
ПЭ-2	16	8023±4,90*
ПЭ-3	2	6349±51,99*
<i>Недоношенные</i>		
Контроль	7	7765±13,30
ПЭ-1	8	7766±7,10
ПЭ-2	10	7978±6,60*
ПЭ-3	18	7887±4,90*

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

но изменение соотношения между В-лимфоцитами в сторону увеличения незрелой популяции (табл. 2). Плотность клеточных элементов, равно как и относительный объём клеток, реагирующих с МКА против антигенов В-клеток, оказалась максимальной в группе ПЭ-2, что свидетельствует о нарастании пролиферативных процессов в лимфоидном ростке костного мозга. При этом, несмотря на то, что относительный объём зрелых форм (CD22) увеличен, удельный объём их по сравнению с созревающими и незрелыми клетками уменьшен. При тяжёлой преэклампсии выявлено достоверное снижение плотности клеточных элементов в миелоидной ткани доношенных плодов и новорождённых. Однако при этом показатель относительного объёма всех В-клеточных форм достаточно высок. Среди них значительно увеличена популяция созревающих клеток и уменьшена зрелых,

Таблиця 2. Клональний состав В-клеточной популяции костного мозга у доношенных и недоношенных плодов и новорождённых ( $M \pm t$ )

Группа	Клетки, реагирующие с МКА против антигенов В-клеток (%)	Из них относятся к популяциям			Соотношение IgM:HLA-Dr:CD22
		CD22	HLA-Dr	IgM	
<i>Доношенные</i>					
Контроль	77±3,07	62,00±3,25	11,00±1,23	4,00±0,30	1,0:2,75:15,5
ПЭ-1	79±2,80	63,00±3,00	11,50±1,06	4,50±0,30	1,0:2,55:14,0
ПЭ-2	86±2,82*	64,00±2,50*	16,00±1,05*	6,00±0,26*	1,0:2,66:10,6
ПЭ-3	82±21,00*	58,00±9,00*	18,00±7,00*	6,00±1,00*	1,0:3,00:9,66
<i>Недоношенные</i>					
Контроль	74±4,70	60,00±3,70	10,00±1,40	4,00±0,60	1,0:2,5:15,0
ПЭ-1	76±4,20	62,00±3,30*	10,00±1,24	4,00±0,40	1,0:2,5:15,5
ПЭ-2	78±3,30*	61,00±2,62	12,00±1,13*	5,00±0,42*	1,0:2,4:12,2
ПЭ-3	72±2,40*	53,60±2,02*	13,00±0,86*	5,40±2,44*	1,0:2,4:9,92

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

что подтверждается соотношением этих клонов.

Таким образом, умеренное антигенное влияние при лёгкой и среднетяжёлой преэклампсии стимулирует пролиферативные процессы в костном мозге, а сильное воздействие антигенов, которому детский организм подвергается при тяжёлой преэклампсии, приводит к снижению пролиферации миелоидных клеточных элементов. В то же время сильная антигенная стимуляция, по-видимому, вызывает миграцию зрелых В-лимфоцитов в периферические органы, что также возможно в результате усиленного апоптоза клеток.

Исследование миелоидной ткани недоношенных плодов и новорождённых показало, что плотность клеток в группе контроля и при преэклампсии лёгкой степени тяжести практически не отличается от таковой у доношенных детей, что свидетельствует о раннем и полноценном заселении костного мозга (см. табл. 1). При лёгкой преэклампсии клоновый состав В-клеточной популяции близок к контролю. Однако даже выявляемая тенденция к увеличению всех клонов приводит к изменению соотношения между клетками в сторону уменьшения зрелой популяции (табл. 2).

Имеются сведения, что среди миелоцитов незрелые клетки и единичные бласты наблюдаются и в норме, однако при этом в крови встречаются только зрелые формы. У недоношенных детей в раннем периоде новорождённости может отмечаться небольшое увеличение количества незрелых кле-

ток в лимфоидном ростке костного мозга. Иммуногистохимическое исследование выявило некоторое увеличение популяции лимфоидного ростка костного мозга при среднетяжёлой преэклампсии. Однако, несмотря на то, что при этом относительный объём зрелых клеток увеличен по сравнению с созревающими и незрелыми, удельный их объём уменьшен. Несмотря на недоношенность плодов и новорождённых, клоновая картина В-клеточной популяции очень близка к таковой у доношенных. Возможно, это связано с ранним заселением лимфоидного ростка костного мозга, и, по-видимому, после 31-й недели гестации эта популяция уже значительно не меняется. Как известно, основные изменения в ней происходят после рождения ребёнка и адаптации его к внеутробному существованию [6]. При тяжёлой преэклампсии лимфоидный росток остаётся густоклеточным. При этом достоверно увеличены популяции частично дифференцированных и пре-В-лимфоцитов и уменьшено количество зрелых форм (CD22), что подтверждается соотношением этих клонов. Значительное увеличение незрелых клонов В-клеточной популяции в этой группе, возможно, является следствием снижения гормонопродуцирующей активности эпителиального компонента тимуса. Как известно, гормональная активность тимуса стимулирует созревание миелоидных популяций лимфоцитов [7, 8]. По сравнению с этой группой доношенных плодов лимфоидный росток – более густоклеточный, по-видимому, из-за торможения миграции.

**Выводы**

1. Преэклампсия матери влияет на морфофункциональное состояние В-лимфоидного ростка костного мозга мертворождённых и умерших новорождённых в виде усиления пролиферации и нарушения процессов созревания.

2. При лёгкой степени преэклампсии у плодов и новорождённых не формируются существенные морфологические изменения в миелоидной ткани, при среднетяжёлой – наблюдается напряжение процессов проли-

ферации на фоне снижения интенсивности созревания В-лимфоидных клонов костного мозга, при тяжёлой – формируются разнонаправленные морфологические изменения в миелоидной ткани.

3. У доношенных детей отмечается снижение лимфоцитомиелопоэза, а при недоношенности эта функция усилена. Однако, независимо от степени зрелости плодов и новорождённых, тяжёлая преэклампсия матери вызывает у них задержку созревания лимфоидного ростка костного мозга.

**Литература**

1. Ушакова Г.А. Регуляторные и адаптивные процессы в системе мать–плацента–плод при гестозе различной степени тяжести / Г.А. Ушакова, Ю.В. Рец // Акуш. и гинекол. – 2008. – № 4. – С. 11–16.
2. Кулида Л.В. Роль плацентарных факторов в формировании патологии при различных степенях тяжести гестоза / Л.В. Кулида, И.А. Панова, Л.П. Перетятко // Архив патол. – 2005. – № 1. – С. 17–21.
3. Рябчиков О.П. Иммунная система плода человека в перинатальный период развития в норме и при некоторых заболеваниях матери / О.П. Рябчиков, З.С. Хлыстова // Вестник АМН СССР. – 1991. – № 5. – С. 18–22.
4. Яковцова А.Ф. Иммунная система плода человека при крупноплодии и ЗВРП / А.Ф. Яковцова, И.В. Сорокина, И.Е. Алещенко. – Харьков: Антика, 2004. – 216 с.
5. Хэм А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. – М.: Мир, 1983. – Т. 2. – С. 170–188.
6. Василейский С.С. Актуальные проблемы молекулярной иммунологии перинатального периода / С.С. Василейский // Акуш. и гинекол. – 1983. – № 5. – С. 6–10.
7. Low T.L. Thymosin and other thymic hormones and their synthetic analogues / T.L. Low, A.L. Goldstein // Springer Seminars in immunopathology. – 1979. – № 2. – P. 169–189.
8. Иммунобиология гормонов тимуса / под ред. Ю.А. Гриневича, В.Ф. Чеботарева. – К.: Здоров'я, 1979. – 151 с.

**Д.І. Галата****МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КІСТКОВОГО МОЗКУ ПЛОДІВ І НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД МАТЕРІВ З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ**

Показана залежність морфологічного стану кісткового мозку плодів і новонароджених від ступеня зрілості плода й новонародженого, а також від тяжкості преєклампсії матері.

**Ключові слова:** новонароджений, плід, кістковий мозок, преєклампсія.

**D.I. Galata****BONE MARROW MORPHOFUNCTIONAL PECULIARITIES IN FETUSES AND NEWBORNS FROM MOTHERS WITH PREECLAMPSIA**

It was shown the dependency of morphological peculiarities of the bone marrow of fetuses and newborns as from degree of maturity of the fetus and newborn, so and from the severity of preeclampsia.

**Key words:** newborn, fetus, bone marrow, preeclampsia.

Поступила 03.06.10

УДК 616.36-053.1/.31-091.8-02:618.3-06:616.8-009.24

*И.В. Сорокина, Е.С. Проценко\*, Н.А. Ремнева\*, С.А. Шерстюк\**

## АНАЛИЗ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕПАТОЦИТОВ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЁННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

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

Изучены морфометрические показатели гепатоцитов плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией. Установлено, что степень выраженности морфометрических изменений гепатоцитов новорождённых зависит от тяжести преэклампсии матери. По мере нарастания степени тяжести преэклампсии развиваются венозное полнокровие, жировая дистрофия и склеротические изменения. Максимальные изменения отмечаются в гепатоцитах новорождённых от матерей с преэклампсией средней степени тяжести, тогда как при преэклампсии тяжёлой степени они истощены.

**Ключевые слова:** *печень, гепатоциты, новорождённый, плод, преэклампсия.*

Экстрагенитальной патологии беременных всегда уделяли повышенное внимание, поскольку новорождённые от матерей с преэклампсией входят в группу риска, особенно в период постнатальной адаптации [1–5]. Анализ литературы свидетельствует, что при преэклампсии беременных адаптивные реакции плода завершаются развитием дезадаaptации, что ведёт к нарушению функционирования органов и систем [1, 6–9]. Гепатоцитам присуща ранняя дифференцировка и раннее проявление морфофункциональной активности. В связи с этим воздействием различных патогенных факторов на этапах раннего онтогенеза может приводить к нарушению структуры печени и становления морфофункциональной активности гепатоцитов [7, 10, 11].

Анализ последних исследований выявил неблагоприятное влияние преэклампсии матери на формирование сердечно-сосудистой и эндокринной систем плода [12–15]. Данные о морфологических изменениях печени плодов и новорождённых при преэклампсии матери отсутствуют.

В связи со сказанным целью настоящего исследования явилось изучение морфометрических показателей гепатоцитов плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией.

**Материал и методы.** Материалом исследования служили кусочки ткани печени плодов и новорождённых от матерей, беременность которых была осложнена пре-

эклампсией (62 случая). В зависимости от степени тяжести преэклампсии исследуемый материал разделили на группы: G<sub>1</sub> – новорождённые от матерей с преэклампсией лёгкой степени тяжести (17 случаев), G<sub>2</sub> – новорождённые от матерей с преэклампсией средней степени тяжести (21 случай), G<sub>3</sub> – новорождённые от матерей с преэклампсией тяжёлой степени (24 случая). Группу контроля (К) составили новорождённые, выношенные в условиях физиологически протекавшей беременности и погибшие в результате острого нарушения маточно-плацентарного и пуповинного кровообращения (22 случая).

Кусочки ткани печени вырезали из трёх зон, фиксировали в 10% -ном растворе нейтрального формалина. Затем материал подвергали стандартной проводке через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% -ный спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ, после чего заливали целлоидин-парафином. Из приготовленных таким образом блоков делали серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Морфологически печень изучали с использованием гистологического (гематоксилином и эозином, по методу Маллори) и гистохимического (ШИК-реакция) окрашивания. Для оценки уровня морфофункциональной активности гепатоцитов на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли:

© *И.В. Сорокина и др.*

• диаметр ( $d_{я}$ ) и объём ( $V_{я}$ ) ядер гепатоцитов по формуле

$$V_{я} = 4/3\pi r^3,$$

где  $r$  – радиус ядра, который равен  $1/2d_{я}$ ;

• диаметр ( $d_r$ ) и объём ( $V_r$ ) гепатоцитов по формуле

$$V_r = 4/3\pi r^3,$$

где  $r$  – радиус ядра, который равен  $1/2d_r$ ;

• объём цитоплазмы ( $V_{ц}$ ) гепатоцитов по формуле

$$V_{ц} = V_r - V_{я};$$

• ядерно-цитоплазматический индекс (ИЯЦ) по формуле

$$\text{ИЯЦ} = V_{я}/V_{ц}.$$

Комплекс морфометрических исследований выполнен на микроскопе «Olympus DR-Soft» (Япония). Полученные данные обработаны методами математической статистики с использованием вариационного, альтернативного и корреляционного анализов. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия ( $n_1 + n_2 - 2$ ) при степени вероятности  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Исследования показали, что в печени новорожденных группы контроля гистоархитектоника сохранена, балочно-радиарное строение прослеживается четко. В центральных венах отмечается умеренное полнокровие, синусоиды неравномерно расширены. Гепатоциты с эозинофильной зернистой цитоплазмой и округлым базофильным ядром (рис. 1). Показатель оптической плотности ШИК-позитивного вещества в цитоплазме гепатоцитов составил  $(0,061 \pm 0,008)$  усл. ед. Морфометрические показатели гепатоцитов новорожденных представлены в таблице.

В печени плодов и новорожденных группы  $G_1$  существенных морфологических

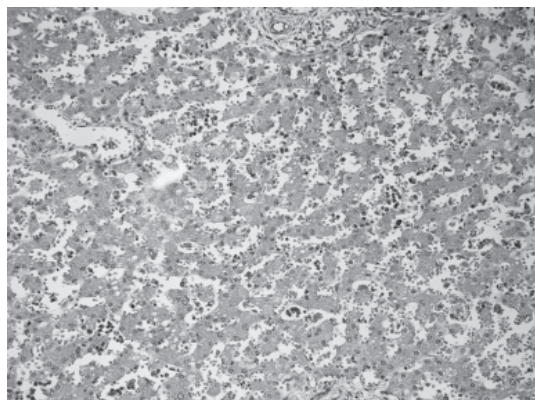


Рис. 1. Печень новорожденного группы контроля. Сохранённая гистоархитектоника, умеренное полнокровие синусоидов. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

отличий от группы контроля не обнаружено, однако венозное полнокровие центральных вен и синусоидов более выражено (рис. 2). Показатель оптической плотности ШИК-позитивного вещества в цитоплазме гепатоцитов составил  $(0,082 \pm 0,001)$  усл. ед.,

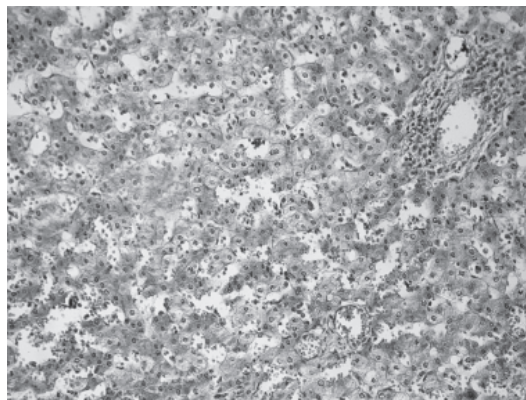


Рис. 2. Печень новорожденного от матери с преэклампсией лёгкой степени тяжести. Гепатоциты со светлой пенистой цитоплазмой, умеренная пролиферация портальной стромы. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

что достоверно выше аналогичного показателя группы контроля и указывает на задержку метаболизма и повышенное содержание гликогена в печени (таблица).

В гепатоцитах достоверно увеличен диаметр клетки по сравнению с контрольной группой за счёт увеличения объёма цитоплазмы, что соответствует повышенному уровню морфофункциональной активности. Указанное свидетельствует, что уже при лёгкой степени преэклампсии в печени плода развиваются морфологические изменения, направленные на поддержание постоянства внутренней среды и клеточного гомеостаза органа, что, как правило, развивается при условии антигенной стимуляции [16]. Наличие антигенной стимуляции при преэклампсии лёгкой степени подтверждается морфологическими изменениями со стороны тимуса плодов от матерей с преэклампсией, выявленными авторами [17].

В печени плодов и новорожденных группы  $G_2$  отмечается нарушение гистоархитектоники в виде неравномерной дисконфлексии балочно-радиарного строения. В центральных отделах гепатоциты зачастую в состоянии белковой дистрофии, а перипортально в гепатоцитах обнаруживаются жировые вакуоли в виде оптических пустот при окраске гематоксилином и эозином (рис. 3), что, по-видимому, обусловлено гипоксией вследствие нарушения маточно-

*Морфометрические показатели и ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ) гепатоцитов плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией ( $M \pm t$ )*

Показатель	Группы сравнения			
	K	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>
Диаметр ядра, мкм	7,12±0,06	6,62±0,02	6,12±0,04*	10,62±0,11* <sup>^</sup> #
Объём ядра, мкм <sup>3</sup>	103,15±4,81	95,90±3,86	88,66±3,72*	121,96±8,03* <sup>^</sup> #
Диаметр клетки, мкм	21,10±0,03	22,50±0,04*	22,80±0,06* <sup>^</sup>	15,40±0,12* <sup>^</sup> #
Объём клетки, мкм <sup>3</sup>	167,11±8,44	178,19±7,56	180,57±8,32*	144,18±5,49* <sup>^</sup> #
Объём цитоплазмы, мкм <sup>3</sup>	63,66±2,32	82,29±3,01*	91,91±3,92* <sup>^</sup>	22,22±4,01* <sup>^</sup> #
ЯЦИ	0,61±0,02	0,53±0,02*	0,49±0,01* <sup>^</sup>	0,84±0,01* <sup>^</sup> #

*Примечание.*  $p < 0,05$ ; \* по сравнению с аналогичными показателями группы K, <sup>^</sup> группы G<sub>1</sub>, # группы G<sub>2</sub>.

плацентарного кровообращения, развивающегося, как известно, в организме плода при преэклампсии [18]. В гепатоцитах достоверно уменьшен диаметр ядра и достоверно увеличен диаметр клетки по сравнению с группой G<sub>1</sub> за счёт увеличения объёма цитоплазмы, а также достоверно увеличены все морфометрические показатели, кроме диаметра и объёма ядра, по сравнению с таковыми контрольной группы, что соответствует повышению уровня морфофункциональной активности (таблица).

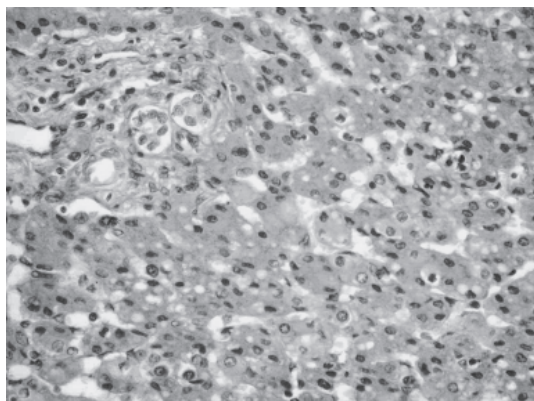


Рис. 3. Печень новорождённого от матери с преэклампсией средней степени тяжести. Дискомплексація балок, мелкие жировые вакуоли в виде оптических пустот в гепатоцитах. Окраска гематоксилином и эозином, ×200

В печени плодов и новорождённых группы G<sub>3</sub> отмечается нарушение гистоархитектоники в виде дисконкомплексации балок и разрастания портальной стромы, что связано с выраженной гипоксией, развивающейся при преэклампсии тяжёлой степени [19]. Гепатоциты часто пикнотичны, с пенистой эозинофильной цитоплазмой и гипохромными ядрами (рис. 4). Указанные альтеративно-склеротические изменения обуслов-

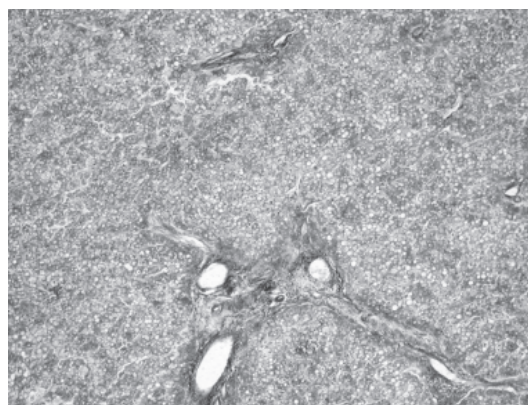


Рис. 4. Печень новорождённого от матери с преэклампсией тяжёлой степени. Дискомплексація балок, мелкие жировые вакуоли в виде оптических пустот в гепатоцитах, пролиферация портальной стромы. Окраска по методу Маллори, ×100  
лены комбинированным влиянием гипоксии и тяжёлых метаболических нарушений, что является характерным для преэклампсии тяжёлой степени. Также в гепатоцитах встречаются крупные жировые вакуоли в виде оптических пустот при окраске гематоксилином и эозином. Показатель оптической плотности ШИК-позитивного вещества в цитоплазме гепатоцитов составил  $(0,191 \pm 0,011)$  усл. ед., что достоверно выше аналогичных показателей групп контроля, G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub> и указывает на резкое увеличение содержания гликогена в печени, по-видимому, за счёт декомпенсации метаболических процессов в гепатоцитах. В гепатоцитах достоверно снижены все морфометрические показатели, кроме диаметра и объёма ядра, как по сравнению с контрольной группой, так и с группами G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub>, что указывает на декомпенсацию и резкое снижение уровня морфофункциональной активности гепатоцитов при преэклампсии тяжёлой степени.

Таким образом, степень выраженности выявленных морфологических изменений в печени плодов зависит от степени тяжести преэклампсии матери, что вполне закономерно, учитывая защитную функцию печени. Известно, что в процессе развития человека при постоянном наличии контакта и взаимодействия с окружающей средой обитания у него сформировались две мощные защитные системы, предохраняющие внутреннюю эндогенную среду от повреждающего действия этих факторов: филогенетически более древняя монооксидная детоксицирующая система печени и более молодая иммунная система. Между этими системами существует тесная функциональная взаимосвязь. Как окислительная, так и иммунная система печени играют большую роль в элиминации эндотоксинов и балластных продуктов обмена [16], накапливающихся в организме женщины при преэклампсии [19]. Рецепторный аппарат плода, расположенный в стенках воротной вены, в устьях печёночных вен, аранцевого протока, имеет важное значение в деятельности функциональной системы мать–плацента–плод. Информация об изменениях гомеостаза плода непрерывно поступает в регуляторные нервные аппараты как матери, так и плода, вызывая соответствующие реак-

ции, направленные на коррекцию возникающих нарушений, что и приводит к формированию выявленных нами структурных особенностей печени плода.

#### Выводы

1. Преэклампсия беременных неблагоприятно влияет на морфологическое состояние паренхимы печени плодов, вызывая развитие венозного полнокровия, жировой дистрофии и склеротических изменений.

2. Морфофункциональная активность гепатоцитов плодов и новорождённых увеличивается при преэклампсии матери лёгкой и средней степени тяжести и снижается при тяжёлой.

3. Максимальное напряжение адаптационно-приспособительных реакций отмечается в печени плодов и новорождённых от матерей с преэклампсией средней степени тяжести, тогда как при преэклампсии тяжёлой степени они истощены.

4. Нарушения метаболизма гликогена в гепатоцитах плодов и новорождённых зависят от степени тяжести преэклампсии.

Перспективным является иммуногистохимическое исследование макрофагальной системы печени плодов от матерей с преэклампсией, что позволит раскрыть морфогенетические механизмы развития описанных морфологических изменений.

#### Литература

1. *Пикаускайте Д.О.* Преэклампсия: этиология, патогенез, клиника, генетика / Д.О. Пикаускайте // Мед. генетика. – 2006. – Т. 5, № 7. – С. 9–20.
2. *Салямова С.Ш.* Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза при тяжелой преэклампсии, осложненной HELLP-синдромом: научное издание / С.Ш. Салямова, Н.А. Мирзахмедова, Ю.А. Азизова // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья. – 2008. – № 1. – С. 72–73.
3. *Richter C.* Eclampsia complicated by abdominal compartment syndrome / C. Richter // Am. J. Perinatology. – 2009. – V. 26, № 10. – P. 751–753.
4. Эклампсия. Причины ее развития (сообщение 1) / Х.Х. Хапий, Ю.С. Подольский, Н.Х. Хапий, Д.А. Хисматулин // Вестн. интенсив. терапии. – 2005. – № 4. – С. 28–29.
5. *Delic R.* Optimal laboratory panel for predicting preeclampsia / R. Delic, M. Stefanovic // J. Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. – 2010. – V. 23, № 1. – P. 96–102.
6. *Тоточиа Н.Э.* Проблема профилактики преэклампсии (гестоза) и гипотрофии плода: перспективы применения микронутриентов / Н.Э. Тоточиа, И.Я. Конь, А.В. Мурашко // Вопросы детской диетологии. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 73–76.
7. Иммуногистохимическая оценка распределения фактора роста эндотелия сосудов в плаценте, плацентарном ложе матки при нормальной беременности и у женщин с преэклампсией / А.П. Милованов, И.С. Сидорова, А.Н. Солоницын, Е.И. Боровкова // Архив патологии. – 2008. – Т. 70, № 3. – С. 12–18.
8. *Патсаев Т.А.* Продукция плацентарного фактора роста и морфологические особенности плацентарного ложа матки у пациенток с преэклампсией / Т.А. Патсаев, Н.М. Мамедалиева // Журн. акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. 55, № 3. – С. 35–38.
9. *Adam G.K.* Maternal and perinatal outcomes of eclampsia in Gadarif hospital, Sudan / G.K. Adam, K.H. Bakheit, I. Adam // J. Obstetrics and Gynaecology. – 2009. – V. 29, № 7. – P. 619–620.
10. Increased levels of cell-free hemoglobin, oxidation markers, and the antioxidative heme scavenger  $\alpha$ 1-microglobulin in preeclampsia / M.G. Olsson, M. Centlow, S. Rutardottir et al. // Free Radical Biology and Medicine. – 2010. – V. 48, № 2. – P. 284–291.

11. *Sankaralingam S.* Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia / S. Sankaralingam, H. Xu, S.T. Davidge // *Cardiovasc. Res.* – 2010. – V. 85, № 1. – P. 194–203.
12. *Cudihy D.* The pathophysiology of preeclampsia: Current clinical concepts / D. Cudihy, R.V. Lee // *J. Obstetrics and Gynecology.* – 2009. – V. 29, № 7. – P. 576–582.
13. *Дацун І.Г.* Судинне русло плаценти у вагітних жінок із преєклампсією легкого та середнього ступеня / І.Г. Дацун, М.А. Лизин, Т.М. Лизин // *Кровообіг та гемостаз.* – 2006. – № 2. – С. 43–46.
14. Preeclampsia, soluble fms-like tyrosine kinase 1, and the risk of reduced thyroid function: nested case-control and population based study / R.J. Levine, L.J. Vatten, G.L. Horowitz et al. // *British Med. J.* – 2009. – V. 339, № 7734. – P. 1355–1359.
15. Novel approaches for mechanistic understanding and predicting preeclampsia / S. Kalkunte, Zh. Lai, W.E. Norris et al. // *J. Reproductive Immunology.* – 2009. – V. 83, № 1/2. – P. 134–138.
16. *Агаджанян Н.А.* Адаптационная медицина и здоровье / Н.А. Агаджанян // *Вестник Уральск. мед. акад. науки / Средне-Уральск. научн. центр РАМН и правительства Свердловск. обл.* – 2005. – № 2. – С. 10–18.
17. Иммунофенотипические особенности лимфоидной популяции тимуса новорожденных, умерших от врожденной пневмонии / И.В. Сорокина, Л.С. Куприянова, Д.И. Михайлова, В.Н. Закревский // *Эксперим. і клін. медицина.* – 2006. – № 3. – С. 24–28.
18. «At fingers' ends»: risk factors and perinatal outcome of pregnancies complicated by digital malformations / T. Tzur, E. Sheiner, A.Y. Weintraub et al. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2009. – Nov. – P. 294–301.
19. *Young B.C.* Pathogenesis of preeclampsia / B.C. Young, R.J. Levine, S.A. Karumanchi // *Annu. Rev. Pathol.* – 2010. – V. 5. – P. 173–192.

***I.V. Sорокина, O.C. Проценко, Н.О. Ремньова, С.О. Шерстюк***

**АНАЛІЗ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ГЕПАТОЦИТІВ ПЛОДІВ І НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД МАТЕРІВ З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ**

Вивчено морфометричні показники гепатоцитів плодів і новонароджених від матерів з преєклампсією. Встановлено, що ступінь вираженості морфометричних змін гепатоцитів новонароджених залежить від тяжкості преєклампсії матері. По мірі наростання ступеня тяжкості преєклампсії розвиваються венозне повнокров'я, жирова дистрофія і склеротичні зміни. Максимальні зміни відзначаються в гепатоцитах новонароджених від матерів з преєклампсією середнього ступеня тяжкості, тоді як при преєклампсії тяжкого ступеня вони виснажені.

**Ключові слова:** печінка, гепатоцити, новонароджений, плід, преєклампсія.

***I.V. Sorokina, E.S. Protsenko, N.A. Remnyova, S.A. Sherstiuk***

**ANALYSIS OF MORPHOMETRIC ALTERATIONS OF LIVER IN FETUSES AND NEWBORNS DELIVERED FROM MOTHERS WITH PREECLAMPSIA**

Morphometric alterations of liver in fetuses and newborns delivered from mothers with preeclampsia were studied. It was identified that the morphometric alterations of liver severity level depends on the severity of mother's preeclampsia. Along with the increase of preeclampsia severity the accumulation of venous blood in vessels, the lipid dystrophy and sclerotic changes are developing. Maximal changes are seen in the liver of the newborns, delivered from mothers with moderate severity preeclampsia, while in severe preeclampsia they are exhausted.

**Key words:** liver, hepatocytes, newborn, fetus, preeclampsia.

*Поступила 03.02.10*

УДК 616.44-002+616.44-006

*О.В. Мужичук, Н.І. Афанасьєва\*, І.І. Яковцова\*\*,  
В.В. Мужичук\*\*\*, О.В. Долгая\*\*, О.А. Радченко\**

## МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТИРЕОЇДНОЇ МІКРОКАРЦИНОМИ

*Харківський національний медичний університет*

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

*\*\*Харківська медична академія післядипломної освіти*

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

Морфологічні властивості тиреоїдної мікрокарциноми були вивчені в мікропрепаратах видаленої щитовидної залози 75 пацієнтів та порівняні з такими у 44 хворих з карциномою розміром від 1,1 до 2,0 см. У переважній більшості хворих (86,7 %) тиреоїдна мікрокарцинома виникла на тлі доброякісних змін у щитовидній залозі. Однак часто з пухлинами більш великого розміру мікрокарцинома мала такі ознаки агресивного росту, як інвазія в капсулу пухлини, навколишню тиреоїдну тканину, білатеральність ураження та внутрішньоорганні метастази, які згодом при неадекватному лікуванні можуть визвати пухлинну прогресію, розвиток регіонарних чи віддалених метастазів. Відсутність доопераційної діагностики мікрораку веде до повторних хірургічних втручань у 18 % хворих, що збільшує ризик можливих ускладнень.

*Ключові слова: щитовидна залоза, мікрокарцинома, морфологія.*

Відповідно до класифікації ВООЗ мікрокарциномою щитовидної залози вважають рак, класифікований як папілярний, з найбільшим діаметром 10 мм або менше [1]. Частість діагностики прихованого раку при аутопсії коливається, за різними даними, від 5 до 36 % [1, 2] і навіть 48 % випадків серед оперованих хворих на тиреоїдний рак [3, 4]. Тиреоїдна мікрокарцинома при аутопсіях зустрічається в 100–1000 разів частіше, ніж клінічний рак, переважно у пацієнтів віком 40–59 років і не залежить від статі і йодної забезпеченості [5].

Погляди науковців на характер перебігу мікрораку щитовидної залози не є однозначними. Існують свідчення як про сприятливий характер перебігу мікропухлинного процесу, так і про його виражену агресивність [6, 7]. Але поряд з фактами, що свідчать про неагресивний перебіг захворювання, є дані про те, що мікрокарцинома часто характеризується мультифокальним ростом, білатеральністю ураження, втягненням у неопластичний процес лімфовузлів ший та навіть віддаленим метастазуванням і супроводжується рецидивами при нерадикальному хірургічному лікуванні [3, 8–12].

Серед гістологічних варіантів мікрокарциноми виділяють інкапсульовану і частково інкапсульовану папілярну карциному, обмежену мікрокарциному й окультну склерозуючу карциному [2]. І хоча взагалі за гістологічною будовою переважають папілярні мікрокарциноми (88 %), зустрічаються мікрокарциноми й фолікулярної будови (12 %) [13].

Перебіг будь-якого ракового захворювання обумовлюється морфологічними характеристиками відповідної пухлини – ступенем мультицентричного росту, проростанням у капсулу пухлини та поширенням поза її межі, наявністю внутрішньоорганних метастазів, інвазією у судини [13]. Всі ці характеристики досить детально вивчені стосовно як тиреоїдного раку розміром більше 2,0 см, так і мікрокарциноми. Разом з тим результати досліджень щодо агресивної здатності останньої є суперечливими.

Безумовно, тактика лікування тиреоїдної мікрокарциноми залежить від ознак її агресивності. Наведені в літературі дані щодо особливостей клінічного перебігу мікрокарциноми щитовидної залози свідчать як на користь того, що тиреоїдний мікрорак,

© О.В. Мужичук та ін.

очевидно, має розглядатися як «повноцінна» форма раку з усіма наслідками, що входять з цього [14–16], так і протилежного плану з рекомендаціями банального спостереження за хворим без використання будь-яких лікувальних заходів [17–18]. Тому цілком зрозуміло, що необхідні більш детальні дослідження, спрямовані на всебічне вивчення ознак агресивності тиреоїдної мікрокарциноми, на яких могли б ґрунтуватися ті чи інші лікувальні рекомендації.

Мета роботи – визначення морфологічних критеріїв агресивності тиреоїдної мікрокарциноми й порівняння їх з такими пухлин більшого розміру.

**Матеріал і методи.** Морфологічні властивості тиреоїдної мікрокарциноми були вивчені в мікропрепаратах видаленої щитовидної залози 75 пацієнтів й порівняні з такими у 44 хворих з карциномою розміром T<sub>1</sub> (від 1,1 до 2,0 см), які склали групу контролю. Розмір пухлини визначали згідно з міжнародною класифікацією злоякісних пухлин TNM-6 перегляду 2002 р. [19].

Для визначення морфологічної характеристики мікрокарциноми й тиреоїдних диференційованих пухлин більшого розміру (група контролю) при дослідженні гістологічних препаратів і аналізі опису видаленого макропрепарату щитовидної залози з пухлиною оцінювали стан параканкрозної тиреоїдної паренхіми (наявність і характер доброякісної тиреоїдної патології або її відсутність), локалізацію пухлини (в правій, лівій частках або перешийку залози), морфологічний варіант пухлини, її розміри (в досліджуваній групі). Окремо вивчали частість інвазії пухлиною її капсули і капсули щитовидної залози, мультицентричний ріст пухлини, наявність внутрішньоорганних метастазів, білатеральність ураження, метастази у лімфовузлах, виділяли склерозуючу форму пухлини.

Таблиця 1. Локалізація і гістологічний варіант тиреоїдної мікрокарциноми

Локалізація пухлини	Групи хворих			
	мікрокарцинома (n=75)		T <sub>1</sub> (n=44)	
	n	(P±p) %	n	(P±p) %
Права частка	35	46,7±5,8	19	43,2±7,6
Ліва частка	18	24,0±5,0	9	20,5±6,2
Перешийок	2	2,7	2	4,5
Не встановлено	20	26,7±5,1	14	31,8±7,1
Папілярний рак	67	89,3±3,6	37	84,1±5,6
Фолікулярний рак	6	8,0±3,6	4	9,1±4,4
Папілярний рак фолікулярного варіанта	2	2,7	3	6,8

**Результати.** При вивченні локалізації тиреоїдної мікрокарциноми встановлено, що в переважній кількості випадків вона розташовувалась у правій частці щитовидної залози – 35 (46,7 %), майже вдвічі рідше в лівій – 18 (24 %), лише в двох випадках пухлина локалізувалась у перешийку (табл. 1). В 20 випадках (26,7 %) за матеріалами виписувань і опису гістологічного дослідження встановити локалізацію осередку раку не вдалося. Частота розташування тиреоїдного раку в групі контролю практично не відрізнялася від частоти розташування в досліджуваній групі за переліченими ознаками: 43,2; 20,5; 4,5 та 46,7; 24,0; 2,7 % відповідно.

Аналіз морфологічного варіанта тиреоїдного мікрораку показав, що в 67 випадках (89,3 %) він був папілярної будови, у двох (2,7 %) визначено папілярний рак фолікулярного варіанта, а в 6 (8 %) випадках мікрокарцинома мала фолікулярну будову. Аналіз цих же показників у групі контролю свідчить, що диференційований рак розміром більше 1,0 см мав такі ж частоти гістологічні ознаки, як і мікрораку, за винятком папілярного раку фолікулярного варіанта, який в групі контролю спостерігався удвічі частіше, ніж у досліджуваній групі, – 6,8 і 2,7 % відповідно.

При вивченні частоти ознак агресивного росту, таких як інвазія пухлиною її капсули і капсули щитовидної залози, мультицентричний ріст пухлини, наявність внутрішньоорганних метастазів, білатеральність ураження, метастази в лімфовузлах, нами встановлено, що одна ознака мала місце у 30 (40 %) хворих з мікрокарциномою і 20 (45,4 %) пацієнтів групи контролю, тобто практично однаково часто (табл. 2). У 16 (21,3 %) пацієнтів з мікрокарциномою і 9 (20,4 %) з групи контролю морфолог при вивченні гістологічних препаратів визначав наявність двох і більше ознак агресії в од-

Таблиця 2. Частота морфологічних ознак агресивного росту при тиреоїдній мікрокарциномі

Ознака	Групи хворих			
	мікрокарцинома (n=75)		T <sub>1</sub> (n=44)	
	n	(P±p) %	n	(P±p) %
Одна ознака агресивного росту	30	40,0±5,7	20	45,5±7,6
Дві і більше ознак агресивного росту	16	21,3±4,8	9	20,5±6,2
Склерозуючий ріст	10	13,3±4,0	–	–
Метастази в лімфовузлі	7	9,3±3,4	7	15,9±5,6

ного хворого, таких як інвазія пухлини у власну капсулу, продовження росту в паренхіму щитовидної залози та капсулу самої залози, інвазія у судини, мультицентричний ріст, білатеральне ураження та наявність внутрішньоорганних метастазів, що поєднувались у різних варіантах.

Треба відзначити, що такі множинні ознаки агресивного росту, як правило, завжди поєднувались з інвазією пухлини у власну капсулу. З цього можна зробити висновок, що як рак більших розмірів, так і мікрокарцинома практично однаково часто мали ознаки агресивного росту, які згодом можуть визвати пухлинну прогресію або регіонарні чи віддалені метастази при неадекватному лікуванні. Разом з тим необхідно підкреслити, що у пацієнтів з групи контролю частіше зустрічалось метастатичне ураження лімфовузлів – 7 (15,5 %), ніж у досліджуваній групі – 7 (9,3 %). Навпаки, склерозуючий варіант раку, який за морфологічною будовою свідчить про розростання сполучної тканини в пухлині, яка перешкоджає розповсюдженню останньої в паренхіму залози, у 10 (13,3 %) випадках зустрічався при мікрораку і в жодному при раку з групи контролю.

Найчастішою ознакою агресивного пухлинного росту при мікрокарциномі у пацієнтів з однією ознакою агресивності була інвазія пухлини у власну капсулу [26 (86,7 %)], у групі контролю також ця ознака була

найчастішою, але визначалася вона в 19 (65,5 %) випадках, тобто рідше (табл. 3).

Ізольований мультицентричний ріст спостерігався в 3 (10 %) випадках в досліджуваній групі і в жодному разі не був виявлений в групі контролю. Як правило, ця ознака поєднувалась з іншими характеристиками агресивності. Ізольована білатеральність ураження однаково часто спостерігалась як в досліджуваній [1 (3,3 %)], так і в контрольній [1 (3,4 %)] групі і також, як правило, поєднувалась з іншими характеристиками злоякісності.

Аналіз величини пухлинного осередку показав, що розміри мікрокарциноми коливались від 1 до 10 мм, причому найчастіше пухлина мала діаметр 5 мм (20 випадків, 26,7 %), 10 мм (14 випадків, 18,7 %) та 8 мм (12 випадків, 16 %) (табл. 4). Якщо визначити частість пухлин з діаметром 1–5 і 6–10 мм, то стає очевидним, що мікрокарциноми з такими розмірами зустрічались однаково часто – в 38 (50,6 %) і 37 (49,4 %) випадках відповідно.

Морфологічний аналіз навколишньої тиреоїдної паренхіми, на якому виник мікрорак, свідчить, що в 66 з 75 випадків (86,7 %) мікрорак розвивався на фоні іншої доброякісної тиреоїдної патології, тобто так само часто, як і рак в групі контролю – 38 (86,4 %), табл. 5.

Слід зазначити, що у 25 (37,9 %) хворих досліджуваної групи і 10 (26,3 %) групи

Таблиця 3. Характеристика морфологічних ознак агресивного раку при тиреоїдній мікрокарциномі в осіб з однією ознакою агресивного раку

Ознака	Групи хворих			
	мікрокарцинома (n=30)		T <sub>1</sub> (n=29)	
	n	(P±p) %	n	(P±p) %
Інвазія в капсулу пухлини	26	86,7±6,3*	19	65,5±9,0
Мультицентричний ріст	3	10,0±5,6	–	–
Білатеральність ураження	1	3,3	1	3,4

Примітка. \* Тенденція до вірогідності різниці (p=0,052).

Таблиця 4. Розміри мікрокарциноми

Розмір мікрокарциноми, см	Мікрокарцинома (n=75)	
	n	(P±p) %
0,1	3	4,0
0,2	2	2,7
0,3	8	10,7±3,6
0,4	5	6,7±2,9
0,5	20	26,7±5,1
0,6	6	8,0±3,2
0,7	2	2,7
0,8	12	16,0±4,3
0,9	3	4,0
1,0	14	18,7±4,5

Таким чином, у переважній кількості хворих (86,7 %) тиреоїдна мікрокарцинома виникла на фоні доброякісних змін у щитовидній залозі. Як правило, ці хворі не отримували відповідного лікування і далеко не завжди знаходилися під наглядом лікаря. Вузлові утвори були виявлені випадково, або за ними невиправдано довго спостерігали, а хірургічне лікування переважно було проведено з приводу доброякісної вузлової патології, і тільки експрес-гістологічне дослідження дозволило вчасно встановити діагноз мікрораку. Аналогічна ситуація спостерігається у пацієнтів групи контролю.

Саме тому у більшості хворих було виконано хірургічне лікування в обсязі тиреоїдектомії після проведення експрес-гістологічного дослідження – 45 випадків (60 %),

Таблиця 5. Частота і вид доброякісної патології щитовидної залози (ДПЩЗ) при тиреоїдній мікрокарциномі

Вид ДПЩЗ	Мікрокарцинома (n=75)		T <sub>1</sub> (n=44)	
	n	(P±p) %	n	(P±p) %
АІТ	14/41	34,1±7,5	7/28	25,0±8,3
ММКЗ	22/41	53,6±7,9	19/28	67,9±9,0
Аденома	4/41	9,7±4,7	1/28	3,6
Кісти	1/41	2,4	1/28	3,6
Всього з одною ДПЩЗ	41/75	54,7±5,8	28/44	63,6±7,3
Дві та більше ДПЩЗ	25/66	37,9±6,0	10/38	26,3±7,2
Всього з ДПЩЗ	66/75	88,0±3,9	38/44	86,4±5,2

контролю морфолог визначав наявність двох і більше видів доброякісних захворювань щитовидної залози в одного пацієнта, наприклад, на фоні макромікрофолікулярного колоїдного зоба (ММКЗ) спостерігались аденоматозна, кістозна трансформація щитовидної залози й ознаки АІТ.

Найчастішою фоновою доброякісною патологією (серед хворих з одним фоновим видом доброякісної тиреоїдної патології) в досліджуваній і контрольній групах був макромікрофолікулярний колоїдний зоб – 22 (53,5 %) і 19 (67,8 %) випадків відповідно. АІТ як фон раку визначався у 14 (34,1 %) хворих досліджуваної групи і 7 (25 %) хворих групи контролю. Майже в три рази частіше серед пацієнтів з мікрокарциномою фоном розвитку пухлини були аденоми різної будови порівняно з групою контролю, а кістозне переродження щитовидної залози в обох групах зустрічалось практично однаково часто – в 2,3 і 3,6 % відповідно.

субтотальна резекція щитовидної залози була виконана 11 (14,7 %) хворим, гемістерумектомія – 5 (6,7 %), табл. 6. Двічі були прооперовані 14 пацієнтів (18,7 %), причому останньою операцією була остаточна тиреоїдектомія, яку виконано після отримання планового гістологічного висновку про злоякісний характер видаленої пухлини. З цих 14 хворих морфологічні ознаки агресивного росту були притаманні 10 пухлинам (2/3), які характеризувалися інвазією в капсулу пухлини, судини, паренхіму щитовидної залози, капсулу залози, мультицентричним ростом і білатеральністю пухлинного ураження. За винятком лише одного випадку, в цих 14 пацієнтів мікрокарцинома виникла на фоні доброякісної вузлової тиреоїдної патології.

Треба зазначити, що 5 (6,7 %) пацієнтів були оперовані декілька років тому з приводу вузлового зоба, але не отримували замісної гормонотерапії і згодом були прооперовані вдруге з приводу рецидиву вузлового

Таблиця 6. Вид хірургічного лікування пацієнтів з тиреоїдною мікрокарциномою

Вид лікування	Мікрокарцинома (n=75)		T <sub>1</sub> (n=44)	
	n	(P±p) %	n	(P±p) %
Тиреоїдектомія	45	60,0±6,0	28	63,6±7,3
Субтотальна резекція ЩЗ	11	14,7±4,1	5	11,4±4,8
Геміструмектомія	5	6,6±2,9	2	4,5
Дві операції, остання з яких тиреоїдектомія	14	18,7±4,5	8	18,2±5,9
Резекція ЩЗ з вузлом і перешийком	–	–	1	2,3
Лімфаденектомія	23	30,7±5,4	18	40,9±7,5

Примітка. ЩЗ – щитовидна залоза.

зоба (клінічний діагноз). При морфологічному дослідженні у них була виявлена тиреоїдна мікрокарцинома.

В групі контролю також переважно виконувалась тиреоїдектомія – 28 (63,6 %) випадків, але у цих пацієнтів частіше, ніж у пацієнтів досліджуваної групи, діагноз тиреоїдного раку встановлювали на доопераційному етапі обстеження і рідше виконували експрес-гістологічне дослідження, очевидно, із-за більших розмірів пухлин (табл. 6). Кількість виконаних субтотальних резекцій щитовидної залози та геміструмектомій – 6,7 і 45 % – не різнилась у групі дослідження та в контролі. Однаково часто в обох групах – 18,7 і 18,2 % – пацієнти оперувалися двічі, з виконанням остаточної тиреоїдектомії. Лише в одній пацієнтки з групи контролю було виконано вкрай нерадикальну для тиреоїдного раку операцію в обсязі резекції щитовидної залози з вузлом і перешийком. Лімфадисекція ший з видаленням лімфовузлів проведена у 23 (30,7 %) і 18 (40,9 %) хворих досліджуваної та контрольної груп відповідно. Це цілком зрозуміло, виходячи з того, що у пацієнтів групи контролю ураження лімфовузлів ший

спостерігали у 1,7 раза частіше, ніж у хворих з мікрокарциномою (див. табл. 2).

#### Висновки

1. У переважній кількості випадків (75 %) мікрорак був виявлений випадково при експрес-гістологічному дослідженні.

2. За ознаками агресивного пухлинного росту тиреоїдна мікрокарцинома не поступається раку розміром 1,1–2,0 см, але метастази в лімфовузлі ший зустрічаються в 1,7 раза рідше, ніж при раку більшого розміру.

3. Тиреоїдна мікрокарцинома так само, як і рак більшого розміру, переважно (у 87 %) розвивається на фоні доброякісної тиреоїдної патології, яка здатна маскувати його виникнення і утруднює його своєчасну діагностику.

4. Відсутність доопераційної діагностики тиреоїдного мікрораку у 18 % хворих призвела до необхідності повторного хірургічного втручання, що, безумовно, збільшує ризик можливих ускладнень.

Для отримання більшої інформації про біологічні властивості тиреоїдного мікрораку та визначення обґрунтованих обсягів його лікування в перспективі необхідно вивчити його молекулярно-генетичні характеристики.

#### Література

1. Thyroid microcarcinoma: prevalence, prognosis, and management / F.R. Arem, S.J. Padayatty, A.H. Saliby, S.I. Sherman // *Endocr. Pract.* – 1999. – V. 5, № 3. – P. 148–156.
2. Papillary microcarcinoma of the thyroid: a clinico-pathologic and prognostic review / A. Nasir, A.Z. Chaudhry, J. Gillespie, H.E. Kaiser // *In Vivo.* – 2000. – V. 14, № 2. – P. 367–376.
3. Surgical treatment of differentiated microcarcinomas of the thyroid / M. Ruggieri, M. Genderini, P. Gargiulo et al. // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2001. – V. 5, № 3. – P. 85–89.
4. Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: results of a retrospective study in 243 patients / E. Roti, R. Rossi, G. Trasforini et al. // *J. Clin. Endocrine Society.* – 2006. – V. 91, № 6. – P. 2171–2178.
5. Epidemiology of thyroid microcarcinoma found in autopsy series conducted in areas of different iodine intake / G.L. Kovacs, G. Gonda, G. Vasdasz et al. // *Thyroid.* – 2005. – V. 15, № 2. – P. 152–157.
6. Treatment for microcarcinoma of the thyroid. Clinical experience / G. Conzo, M.G. Esposito, M.Di Marzo et al. // *Tumori.* – 2003. – V.89, (4 Suppl). – P. 210–211.

7. II microcarcinoma tiroideo nelle tiroideo nelle tireopatie benigne / M. Costanzo, L.A.M. Caruso, D.C. Messina et al. // *Annali Italiani di Chirurgia*. – 2005. – V. 76, № 2. – P. 119–122.
8. Extracapsular invasion of lymph nodes metastases: a good indicator of disease recurrence and poor prognostic on patients with thyroid microcarcinoma / H. Yamashita, S. Noguchi, N. Murakami et al. // *Cancer*. – 1999. – V. 86. – P. 842–849.
9. Yang G.C. Thyroid microcarcinoma: fine-needle aspiration diagnosis and histologic follow-up / G.C. Yang, V.A. LiVolsi, Z.W. Baloch // *Int. J. Surg. Pathol.* – 2002. – V. 10, № 2. – P. 133–139.
10. Dietlein M. Overtherapy or undertherapy for papillary thyroid microcarcinoma? Therapeutic considerations for radioiodine ablation / M. Dietlein, O. Schober, H. Schicha // *Nuklearmedizin*. – 2004. – V. 43, № 4. – P. 107–114.
11. Outcome after treatment of papillary thyroid microcarcinoma / M. Appetecchia, G. Scarcello, E. Pucci, A. Procaccini // *J. Exp. Clin. Cancer. Res.* – 2002. – V. 21. – P. 159–164.
12. Rodier J.F. Cervical lymphadenopathy revealing differentiated thyroid cancer. Review of the literature and therapeutic approach / J.F. Rodier, J.C. Janser // *Ann. Chir.* – 1998. – V. 52, № 9. – P. 922–926.
13. Microcarcinoma of the thyroid gland the Gustave-Roussy institute experience / E. Baudin, J.P. Travagly, J. Ropers et al. // *Cancer*. – 1997. – V. 83, № 3. – P. 553–559.
14. Papillary microcarcinomas of the thyroid gland and immunohistochemical analysis of expression of p53 protein in papillary microcarcinomas / D. Corapcoglu, S.D. Sark, T. Delibasi et al. // *J. Translational medicine*. – 2006. – V. 4, № 28. – P. 1186–1194.
15. Elizabeth N. Papillary thyroid microcarcinoma outcomes and implications for treatment / N. Elizabeth, L.E. Braverman // *J. Clin. Endocrinol. Metabolism*. – 2004. – V. 89, № 8. – P. 3710–3712.
16. Aggressive papillary thyroid microcarcinoma / C. Page, A. Biet, P. Boute et al. // *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laring.* – 2009. – V. 266, № 12. – P. 1959–1963.
17. Diagnosis and therapeutic strategy for papillary thyroid microcarcinoma / J.D. Lin, S.T. Chen, T.C. Chao et al. // *Arch. Surg.* – 2005. – V. 140. – P. 940–945.
18. Mazzaferri E.L. Management of low-risk differentiated thyroid cancer / E.L. Mazzaferri // *Endocr. Pract.* – 2007. – V. 13. – P. 498–512.
19. Sobin L.H. TNM classification of malignant tumors 6 Ed. / L.H. Sobin, C.L. Wittekind. – N. Y.: Wiley, 2002.

**А.В. Мужичук, Н.И. Афанасьева, И.И. Яковцова, В.В. Мужичук, О.В. Долгая, А.А. Радченко**  
**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТИРЕОИДНОЙ МИКРОКАРЦИНОМЫ**

Морфологические особенности тиреоидной микрокарциномы были изучены в микропрепаратах удалённой щитовидной железы 75 больных, которые сравнили с показателями у 44 пациентов с карциномой размером 1,1–2,0 см. У большинства больных (86,7 %) тиреоидная микрокарцинома была выявлена на фоне доброкачественных изменений в щитовидной железе. С одинаковой частотой микрокарцинома и рак большего размера имели признаки агрессивного роста – инвазию в капсулу опухоли, окружающую тиреоидную ткань, билатеральность поражения, наличие интраорганных метастазов, которые в дальнейшем при неадекватном лечении способны привести к опухолевой прогрессии, возникновению регионарных или отдалённых метастазов. Отсутствие дооперационной диагностики микро рака щитовидной железы ведёт к необходимости повторных хирургических вмешательств у 18 % больных, что увеличивает риск возможных осложнений.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, микрокарцинома, морфология.

**A.V. Muzhichuk, N.I. Afanasyeva, I.I. Yakovtsova, V.V. Muzhichuk, O.V. Dolgayaya, A.A. Radchenko**  
**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THYROID MICROCARCINOMA**

The morphological characteristics of thyroid microcarcinoma was studied in removed thyroid samples of 75 patients compared with that in 44 patients of control group (tumor size 1.1–2.0 cm). Thyroid microcarcinoma in most patients (86.7 %) was detected on background of benign thyroid diseases. With the same frequency microcarcinoma and «large-size» cancer had the aggressive growth signs – capsule and surrounding thyroid tissue tumor invasion, bilateral growth, presence of intraorgan metastases. In the event of inadequate treatment, this can lead to tumor progression and appearance of regional or distant metastases. Preoperative undiagnosed thyroid microcarcinoma leads to repeated surgical treatment in 18 % of patients that increases the risk of possible complications.

**Key words:** thyroid microcarcinoma, morphology.

Поступила 16.03.10

УДК 616-097:612.084]-08:612.018.2

*Р.М. Борис, О.Л. Кухарчук*

## ВПЛИВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ПРОГЕНІТОРНИХ КЛІТИН НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ З КОЛОНОГЕННИМ ПЕРИТОНИТОМ

*Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин МОЗ України, м. Київ  
ТОВ «Інститут клітинної терапії», м. Київ  
ТОВ «EmProCell Clinical Research», м. Мумбаї, Індія*

В експерименті на щурах встановлено, що трансплантація ембріональних прогеніторних клітин у ранньому періоді колоногенного перитоніту сприяє значному підвищенню діурезу за рахунок збільшення швидкості клубочкової фільтрації, що суттєво знижує вміст креатиніну в плазмі крові. Показники канальцевого транспорту іонів натрію і калію після введення тваринам з колоногенним перитонітом ембріональних прогеніторних клітин відповідають контролю на тлі більш низького, ніж у тварин контрольної групи, фільтраційного завантаження нефронів та при значному збільшенні кліренсу безнатрієвої води. Суттєво підвищується проксимальна реабсорбція іонів натрію. Дистальний транспорт іонів натрію значно збільшується і перевищує контрольні показники. Висока інтенсивність процесів ацидифікації сечі при призначенні трансплантації ембріональних прогеніторних клітин зберігається. Водночас спостерігається деяке зміщення механізмів ниркового кислотовиділення у бік переважання виведення іонів водню внаслідок амоніогенезу, що призводить до незначного підвищення рН сечі.

**Ключові слова:** перитоніт, нирки, функція, ембріональні прогеніторні клітини, трансплантація.

Фундаментальні дослідження останніх років довели здатність трансплантації стовбурових клітин суттєво впливати на перебіг багатьох патологічних процесів, що вказує на перспективу застосування даного методу для лікування хвороб людини [1–3]. Проте лікування за допомогою пересадки стовбурових клітин, як і всі нові методи терапії, потребує ретельного доклінічного вивчення і патофізіологічного обґрунтування.

Одним із тяжких захворювань є перитоніт – гострий запальний процес у черевній порожнині, що характеризується інтоксикацією і прогресуючим ураженням життєво важливих органів [4]. Діагностика і лікування ускладнених форм перитоніту до теперішнього часу залишаються актуальними. Останніми роками наголошується на необхідності більш широкого застосування новітніх методів детоксикації в комплексному лікуванні перитоніту, оскільки чітко визначилась тенденція до тяжкого перебігу навіть місцевих форм перитоніту з розвитком

глибокої ендогенної інтоксикації, яка супроводжується дисемінованим внутрішньосудинним згортанням крові [5]. Смертність від перитоніту залишається високою і досягає в різних вікових групах в залежності від етіології від 22,5 до 54,5 %, що зумовлено розвитком в післяопераційному періоді синдрому ендогенної інтоксикації з поліорганною недостатністю. Все це свідчить про необхідність подальшого удосконалення лікувальної тактики з використанням новітніх досягнень теоретичної і практичної медицини.

Метою роботи було з'ясувати особливості впливу трансплантації ембріональних прогеніторних клітин на екскреторну, кислотвидільну функцію нирок і канальцевий транспорт іонів натрію у щурів з експериментальним колоногенним перитонітом.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на 45 самцях білих щурів з масою тіла 170–300 г, розподілених на три групи: 1-ша – контроль (несправжня операція);

© Р.М. Борис, О.Л. Кухарчук.

2-га – колоногенний перитоніт; 3-тя – колоногенний перитоніт + трансплантація ембріональних прогеніторних клітин (дослідна група). Усі операційні втручання проводились відповідно до вимог гуманного відношення до лабораторних тварин, в асептичних умовах, під уретановим наркозом (1000 мг на 1 кг маси тіла). Після серединної лапаротомії по *linea alba* моделювання стандартизованого поранення товстої кишки виконували очними ножицями, розсікаючи її стінку поперек на 1/2 діаметра. Довжина розрізу становила 2 мм. Після поранення товстої кишки негайно перев'язували травмовані судини, щоб запобігти кровотечі, на розріз черевної порожнини накладали 5 швів (шовк). Ембріональні прогеніторні клітини вводили внутрішньовенно через 12 год після операційного втручання.

Для виділення ембріональних прогеніторних клітин вагітних самок вводили в наркоз (натрію етамінал – 40 мг на 1 кг маси тіла) на 11-й–13-й стадіях розвитку ембріонів за Астауровим. Після асептичної обробки операційного поля (96° етиловий спирт, йод) виконували серединну лапаротомію. Обидва роги матки виводили в операційну рану і розрізали стерильними ножицями поперек (біля ембріонів). Останні вилущували у стерильну чашку Петрі з охолодженням до 4 °С середовищем Хенкса з гентаміцином (кінцева концентрація 0,001 %). Після потрійної промивки з ембріонів виділяли ембріональні прогеніторні клітини за розробленою нами методикою [6]. Суспензію ембріональних прогеніторних клітин профільтровували через капроновий фільтр (200 мкм). Життєздатність клітин контролювали шляхом світлової мікроскопії при забарвленні клітин трипановим синім. Щурам дослідної групи ембріональні прогеніторні клітини вводили в яремну вену (венедекція під нембуталовим наркозом: натрію етамінал, 40 мг на 1 кг маси тіла) в дозі  $3,5 \cdot 10^7$ /мл на 0,1 кг маси тіла.

Дослідження проводили в умовах водного навантаження – в період напруженої роботи нирок, спрямованої на збереження сталості внутрішнього середовища організму. Форсований діурез створює умови для виявлення навіть прихованих початкових порушень функції нирок і визначення резервів їх компенсації. Функціональний стан нирок вивчали кліренс-методом оцінки діяльності судинно-клубочкового апарату й функції проксимального і дистального каналцевих відділів нефрону [7]. Водне навантаження

проводили за 2 год до евтаназії: через металічний зонд у шлунок вводили підігріту до 30 °С водогінну воду в об'ємі 5 % від маси тіла тварини. Сечу збирали протягом 2 год. Евтаназію щурів проводили через 24 год після операції під легким ефірним наркозом. Для стабілізації крові при дослідженні функції нирок використовували гепарин. Кров центрифугували 30 хв при  $50 \text{ c}^{-1}$ , після чого відбирали плазму для визначення вмісту електролітів і креатиніну. Концентрації іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові визначали методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1, креатиніну – за реакцією з пікриновою кислотою з реєстрацією показників екстинції за допомогою фотоколориметра КФК-2 та спектрофотометра СФ-46. Вміст білка у сечі визначали сульфосаліциловим методом [8].

Екскрецію креатиніну ( $E_{cr}$ ) розраховували за його концентрацією в сечі

$$E_{cr} = U_{cr} \cdot V,$$

де  $U_{cr}$  – концентрація креатиніну в сечі,  $V$  – кількість сечі.

Аналогічно визначали екскрецію іонів натрію, калію та білка. Визначення рН сечі виконували за допомогою мікробіоаналізатора «Redelkys» (Угорщина), склад кислот і амонійних солей у сечі – методом титрування [9]. Для оцінки каналцевого транспорту іонів натрію розраховували абсолютну і відносну їх реабсорбцію

$$RFNa^+ = FFNa^+ - ENa^+ \text{ і}$$

$$RNa^+ = [(FFNa^+ - ENa^+) / FFNa^+] \times 100 \%,$$

де  $ENa^+$  – екскреція;  $FFNa^+$  – фільтраційний заряд іонів натрію.

Швидкість клубочкової фільтрації (GFR) визначали за кліренсом ендogenous креатиніну

$$GFR = (V \cdot U_{cr}) / P_{cr},$$

де  $P_{cr}$  – концентрація креатиніну в плазмі крові.

Для інтегральної оцінки транспорту іонів натрію у нирках використовували показники екскреції ( $ENa^+ = UNa^+ \cdot V$ ) і кліренсу іонів натрію ( $CNa^+ = ENa^+ / PNa^+$ ). Реабсорбцію води визначали за формулою

$$RN_2O = [(GFR - V) / GFR] \times 100 \%.$$

Стандартизацію показників функції нирок проводили перерахунком їх абсолютних величин на одиницю маси тіла тварин або об'єму клубочкового фільтрату. Результати дослідження опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента.

**Результати і їх обговорення.** Трансплантація ембріональних прогеніторних клітин

суттєво впливала на стан екскреторної функції нирок (табл. 1): рівень діурезу зростав на 44,3 % і навіть на 13,8 % перевищував такий у щурів контрольної групи. Концентрація креатиніну в сечі знижувалась на 44,2 % і була на 23,2 % меншою, ніж у тварин контрольної групи. Рівень креатиніну в плазмі крові зменшувався на 39,4 %, однак залишався більш високим, ніж у щурів контрольної групи. Введення ембріональних прогеніторних клітин тваринам з колоногенним перитонітом сприяла підвищенню швидкості клубочкової фільтрації на 36,4 %. Проте цей показник діяльності нирок не досягав контрольних величин і становив від останніх 67,7 %. Концентраційний індекс ендогенного креатиніну достовірно не змінювався і залишався нижчим, ніж у контролі. Не відмічалось достовірної динаміки змін з боку показників реабсорбції води, абсолютної і стандартизованої за об'ємом клубочкового фільтрату екскреції білка.

Пересажування ембріональних прогеніторних клітин у ранньому періоді колоногенного перитоніту суттєво впливала на показники ниркового транспорту іонів натрію

і калію (табл. 2): концентрація іонів натрію в сечі знижувалась у 4,3 раза, їх абсолютна екскреція – у 2,9 раза, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція іонів натрію – у 4 рази. Концентрація іонів калію в сечі знижувалась у 3,3 раза, екскреція іонів калію – у 2 рази, а концентрація іонів калію у плазмі крові зменшувалась на 25,0 %. Усі перелічені показники, а також концентрація в плазмі іонів натрію не відрізнялись від контрольних величин. Показники фільтраційного заряду натрію та абсолютної реабсорбції іонів натрію зростали більш ніж на 60 %, однак залишались меншими, ніж у тварин контрольної групи. Відповідно нижче, ніж у контролі, була і відносна реабсорбція іонів натрію. Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію і калію в сечі зменшувався до контрольного рівня. Концентраційний індекс іонів натрію знижувався у 4,5 раза, їх кліренс – майже в 3 рази. В результаті зазначені показники інтегральної оцінки ниркового транспорту іонів натрію наближалися до контрольних величин. Значно зростав кліренс безнатрієвої води.

Таблиця 1. Вплив трансплантації ембріональних прогеніторних клітин (ТЕПК) на екскреторну функцію нирок при колоногенному перитоніті ( $n=15, x \pm Sx$ )

Показник	Контроль	Колоногенний перитоніт	Колоногенний перитоніт + ТЕПК
Діурез, мл за 2 год	4,12±0,15	3,25±0,19 $p_1 < 0,01$	4,69±0,06 $p_1 < 0,01; p_2 < 0,001$
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	0,87±0,04	1,198±0,099 $p_1 < 0,01$	0,668±0,020 $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001$
Концентрація креатиніну в крові, мкмоль/л	50,56±2,49	110,63±5,13 $p_1 < 0,001$	67,00±2,41 $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001$
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	590,78±27,92	293,28±13,08 $p_1 < 0,001$	399,98±16,35 $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001$
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну, Од.	17,21±0,75	10,83±0,87 $p_1 < 0,001$	9,97±0,48 $p_1 < 0,001; p_2 > 0,3$
Реабсорбція води, %	93,96±0,20	90,02±0,71 $p_1 < 0,001$	90,97±0,33 $p_1 < 0,001; p_2 > 0,2$
Екскреція білка, мг за 2 год	0,290±0,024	0,319±0,038 $p_1 > 0,5$	0,369±0,030 $p_1 < 0,05; p_2 > 0,3$
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	0,049±0,003	0,109±0,015 $p_1 < 0,001$	0,092±0,009 $p_1 < 0,001; p_2 > 0,3$

Примітка.  $p_1$  – ступінь достовірності різниць показників у порівнянні з такими у контролі;  $p_2$  – ступінь достовірності різниць показників відносно таких при колоногенному перитоніті. Тут і в табл. 2 і 3.

Таблиця 2. Вплив трансплантації ембріональних прогеніторних клітин (ТЕПК) на нирковий транспорт іонів натрію і калію при колоногенному перитоніті ( $n=15$ ,  $x \pm Sx$ )

Показник	Контроль	Колоногенний перитоніт	Колоногенний перитоніт + ТЕПК
Концентрація іонів натрію у сечі, ммоль/л	0,490±0,05	3,20±0,17 $p_1 < 0,001$	0,75±0,14 $p_1 > 0,09$ ; $p_2 < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль за 2 год	2,02±0,17	10,40±1,23 $p_1 < 0,001$	3,58±0,46 $p_1 < 0,01$ ; $p_2 < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,34±0,04	3,55±0,35 $p_1 < 0,001$	0,89±0,12 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Концентрація іонів калію у сечі, ммоль/л	6,00±0,67	23,36±2,86 $p_1 < 0,001$	7,17±0,49 $p_1 > 0,1$ ; $p_2 < 0,001$
Екскреція іонів калію, мкмоль за 2 год	26,05±3,30	67,69±7,68 $p_1 < 0,001$	33,72±2,30 $p_1 > 0,06$ ; $p_2 < 0,001$
Концентрація іонів калію в плазмі крові, ммоль/л	3,35±0,09	4,64±0,10 $p_1 < 0,001$	3,48±0,07 $p_1 > 0,2$ ; $p_2 < 0,001$
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	139,10±1,23	135,00±1,01 $p_1 < 0,001$	137,20±0,86 $p_1 > 0,2$ ; $p_2 > 0,1$
Фільтраційний заряд натрію, мкмоль/хв	83,25±3,92	33,76±1,81 $p_1 < 0,001$	54,88±2,06 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв	83,23±3,92	33,67±1,81 $p_1 < 0,001$	54,85±2,06 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,98±0,01	99,73±0,03 $p_1 < 0,001$	99,95±0,01 $p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,001$
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію і калію у сечі, Од.	0,098±0,016	0,173±0,011 $p_1 < 0,001$	0,105±0,019 $p_1 > 0,7$ ; $p_2 < 0,001$
Концентраційний індекс натрію, Од.	0,0036±0,0004	0,0246±0,0015 $p_1 < 0,001$	0,0055±0,0010 $p_1 > 0,08$ ; $p_2 < 0,001$
Кліренс іонів натрію, мл за 2 год	0,0149±0,0012	0,0740±0,0088 $p_1 < 0,001$	0,0266±0,0018 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Кліренс безнатрієвої води, мл за 2 год	4,11±0,14	3,18±0,22 $p_1 < 0,001$	4,66±0,06 $p_1 < 0,01$ ; $p_2 < 0,001$

Дослідження транспорту іонів натрію на різних структурних рівнях нефрону показало, що трансплантація ембріональних прогеніторних клітин сприяла підвищенню проксимальної реабсорбції іонів натрію на 62,2 % і дистального транспорту іонів натрію на 60,5 % (табл. 3). Тим не менш обидва вказані показники не відповідали контрольним величинам: проксимальна реабсорбція була на 33,0 % меншою, а дистальний транспорт іонів натрію, навпаки, більшим, ніж у тварин контрольної групи. Однак після перерахунку зазначених показ-

ників на 1 мл клубочкового фільтрату обидва вони відповідали контрольній величині. Отже, в ранній період колоногенного перитоніту трансплантація ембріональних прогеніторних клітин попереджає активацію механізму тубулогломерулярного зворотного зв'язку.

Загальна кислотність сечі під впливом трансплантації ембріональних прогеніторних клітин зменшувалась: рН сечі зростає на 4,2 %, однак залишався на 5,6 % меншим, ніж у контролі. Слід зазначити, що екскреція титрованих кислот не відрізня-

Таблиця 3. Вплив трансплантації ембріональних прогеніторних клітин (ТЕПК) на каналцевий транспорт іонів натрію і процеси ацидифікації сечі при колоногенному перитоніті ( $n=15$ ,  $x \pm Sx$ )

Показник	Контроль	Колоногенний перитоніт	Колоногенний перитоніт + ТЕПК
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, ммоль/хв	9,00±0,45	3,59±0,16 $p_1 < 0,001$	6,03±0,21 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль за 2 год	588,42±19,86	401,13±26,55 $p_1 < 0,001$	639,55±7,86 $p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,001$
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, ммоль/1 мл клубочкового фільтрату	14,00±0,17	14,60±0,30 $p_1 > 0,09$	15,08±0,12 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 > 0,1$
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/1 мл клубочкового фільтрату	0,90±0,03	1,58±0,10 $p_1 < 0,001$	1,60±0,05 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 > 0,8$
pH сечі	6,09±0,04	5,52±0,04 $p_1 < 0,001$	5,75±0,03 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Екскреція титрованих кислот, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	12,08±0,99	32,98±3,79 $p_1 < 0,001$	39,01±2,70 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 > 0,2$
Екскреція амонійних солей, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	22,13±2,45	40,00±3,05 $p_1 < 0,001$	63,23±2,94 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Амонійний коефіцієнт, Од.	1,83±0,09	1,21±0,05 $p_1 < 0,001$	1,62±0,06 $p_1 > 0,06$ ; $p_2 < 0,001$
Екскреція активних іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,231±0,022	0,397±0,038 $p_1 < 0,001$	0,342±0,025 $p_1 < 0,01$ ; $p_2 > 0,2$

лась від такої у щурів, що не отримували ембріональних прогеніторних клітин, тоді як екскреція амонійних солей підвищувалась на 58,1 % і втричі перевищувала контрольні величини, що й призвело до деякого збільшення pH сечі, оскільки амонійні сполуки не дисоціюють з утворенням активних іонів водню. Екскреція останніх у тварин з колоногенним перитонітом, яким було трансплантовано ембріональні прогеніторні клітини, достовірно не змінювалась і залишалась на 48,1 % більшою, ніж у контролі.

Таким чином, трансплантація ембріональних прогеніторних клітин у ранньому періоді колоногенного перитоніту сприяє значному підвищенню діурезу за рахунок збільшення швидкості клубочкової фільтрації, що суттєво знижує вміст креатиніну в плазмі крові. Ймовірним механізмом такої дії є блокування процесів реалізації тубулогломерулярного зворотного зв'язку [10], активація якого призводить до тоничної констрикції приносячої артеріоли і зниження клубочкової фільтрації [11]. Крім того, під впливом трансплантації ембріо-

нальних прогеніторних клітин спостерігається значне зниження концентрації іонів натрію в сечі, що свідчить про зменшення ступеня порушень на каналцевому рівні організації ниркових функцій [12]. У тварин, яким у ранні строки після моделювання колоногенного перитоніту внутрішньовенно вводили ембріональні прогеніторні клітини, показники каналцевого транспорту іонів натрію і калію відповідають контролю, однак нормалізація вмісту іонів натрію і калію в сечі і плазмі крові, екскреції іонів натрію і калію, коефіцієнта співвідношення іонів натрію і калію в сечі, концентраційного індексу і кліренсу іонів натрію і калію відбувається на тлі більш низького, ніж у тварин контрольної групи, фільтраційного завантаження нефронів і при значному збільшенні кліренсу безнатрієвої води, який перевищує контрольні величини. Такі зміни можуть бути обумовлені перебуванням ендокринно-автокоїдної регуляції діяльності нирок [12, 13]. Важливо, що в початковому періоді розвитку колоногенного перитоніту трансплантація ембріональних

прогеніторних клітин суттєво підвищує і нормалізує проксимальну реабсорбцію іонів натрію. Дистальний транспорт іонів натрію під впливом трансплантації ембріональних прогеніторних клітин суттєво збільшується і перевищує контрольні показники. Висока інтенсивність ацидифікації сечі після трансплантації ембріональних прогеніторних клітин зберігається, проте при цьому спостерігається підвищення амоніогенезу, що й призводить до незначного залужування сечі [9].

#### Висновки

1. Трансплантація ембріональних прогеніторних клітин у ранньому періоді колоногенного перитоніту сприяє значному підвищенню діурезу через збільшення швидкості клубочкової фільтрації, що значно знижує вміст креатиніну в плазмі крові.

#### Література

1. Кухарчук О.Л. Експериментальне обґрунтування способу переінсталяції системи контролю антигенного гомеостазу організму ссавців (ефект Кухарчука–Радченка–Сірмана) / О.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сірман // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 5–19.
2. Малайцев В.В. Современные представления о биологии стволовой клетки / В.В. Малайцев, И.М. Богданова, Г.Т. Сухих // Архив патол. – 2002. – Т. 64, № 4. – С. 7–11.
3. Bianco P. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays / P. Bianco, P.G. Robey, P.J. Simmons // Cell Stem Cell. – 2008. – V. 2, № 4. – P. 313–319.
4. Механизмы возникновения полиорганной недостаточности при перитоните / И.А. Криворучко, И.В. Гусак, А.М. Тищенко и др. // Клін. хірургія. – 1996. – № 2–3. – С. 32.
5. Эндотоксикоз как проблема клинической хирургии / И.А. Ерюхин, О.С. Насонкин, Б.В. Шамков и др. // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 1999. – Т. 159, № 3. – С. 3–7.
6. Пат. 72796 Україна, МПК7 С 12 N 5/06. Спосіб отримання життєздатних ембріональних плюрипотентних клітин за допомогою колагенази / Сірман В.М., Кухарчук О.Л., Радченко В.В.; заявник і патентовласник ТОВ «КРС-медичні технології». – № 20022097445; заявл. 13.09.02; опубл. 15.04.05, Бюл. № 4.
7. Шюк О. Функциональное исследование почек / О. Шюк; пер. с чешск. – Прага: Авиценум, 1982. – 322 с.
8. Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: автореф. дис. ... докт. мед. наук / А.И. Гоженко. – К., 1987. – 38 с.
9. Горн М.М. Водно-электролитный и кислотно-основной баланс / М.М. Горн, У.И. Хейтц, П.Л. Сверинген; пер. с англ. – СПб., М.: Невский Диалект, БИНОМ, 2000. – 320 с.
10. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок (експериментальне дослідження): автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.03.05 / О.Л. Кухарчук; [Одеський держ. мед. ін-т]. – Одеса, 1996. – 37 с.
11. Вандер А. Физиология почек / А. Вандер. – СПб.: Питер, 2000. – 256 с.
12. Гормоны и почки / под. ред. П.А. Филлипс, С.И. Джонсон; пер. с англ. – М.: Наука, 2000. – 98 с.
13. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

**Р.М. Борис, А.Л. Кухарчук**

#### ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК У КРЫС С КОЛОНОГЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ

В эксперименте на крысах установлено, что трансплантация эмбриональных прогеніторных клеток в раннем периоде колоногенного перитонита способствует значительному повышению диуреза за счёт увеличения скорости клубочковой фильтрации, что существенно снижает содержание креатинина в плазме крови. Показатели канальцевого транспорта ионов натрия и калия после введения животным с колоногенным перитонитом эмбриональных прогеніторных клеток

соответствуют контролю на фоне более низкой, чем у животных контрольной группы, фильтрационной загрузки нефронов и при значительном увеличении клиренса безнатриевой воды. Существенно повышается проксимальная реабсорбция ионов натрия. Дистальный транспорт ионов натрия значительно увеличивается и превышает контрольные показатели. Высокая интенсивность процессов ацидификации мочи после трансплантации эмбриональных прогениторных клеток сохраняется. В то же время наблюдается некоторое смещение механизмов почечного кислотовыделения в сторону преобладания выведения ионов водорода вследствие аммионогенеза, что приводит к умеренному повышению рН мочи.

**Ключевые слова:** перитонит, почки, функция, эмбриональные прогениторные клетки, трансплантация.

**R.N. Borys, A.L. Kukharchuk**

#### THE INFLUENCE OF TRANSPLANTATION EMBRYONAL AND PREGENETRON CELLS ON FUNCTIONAL CATASTASIS NEPHROS AT RATS WITH COLLAGEN PERITONITIS

In rats experiment agreed, that transplantation embryonal and pregenetron cells at an early stage collagen peritonitis favors significant elevation diuresis at the cost of increase speed of glomerular filtration, it is essentially down care of creatinine in dry blood. The indices of canalicular moving ionies of sodium and kalium after given to animals with collagen peritonitis embryonal and pregenetron cells conform to control secondary to more lower, then at animals of control set, clarifier batching up and nephron at substantially increase extraction ratio desode water. Efficacement increase en amont reabsorption sodium. The en aval moving sodium increase substantially and exceed the control indices. The highly depth processes of acidification emiction after transplantation embryonal and pregenetron cells are saved. In this time we can see some deflection mechanisms of nephritic excrete conjugate acid in side predominance excrete hydronium for account ammoniogenesis it is leading to conservative increase pH urine.

**Key words:** peritonitis, nephros, functional, embryonal and pregenetron cellules, transplantation.

Поступила 23.06.10

УДК 616.89-008.441.13:559.323.4-0929

*А.В. Шляхова, Е.В. Веселовская*

## ВЛИЯНИЕ КАННАБИНОИДНОЙ ЗАВИСИМОСТИ НА СОСТОЯНИЕ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ КРЫС С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ СОЦИАЛЬНЫХ ФОБИЙ

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

Проведён сравнительный анализ агрессивных реакций интактных крыс и крыс с сформированной каннабиноидной зависимостью, проявляющих подчинительное поведение (высокий уровень социальных фобий) при моделировании сенсорного контакта. Показано, что наличие каннабиноидной зависимости повышает уровень агрессивной мотивации у крыс подчинительного типа поведения в состоянии абстиненции.

**Ключевые слова:** каннабиноидная зависимость, фобии, агрессия.

По современным представлениям, развитие тревоги является результатом регуляторного дисбаланса разных нейромедиаторов, в формировании которого ключевое место занимает ГАМК-эргическая система [1–3]. Доказано, что в организме животных и человека существует каннабиноидная система, которая по морфофункциональным характеристикам является одной из медиаторных систем и входит в нейрохимический субстрат системы награды [4]. Большинство клеток, экспрессирующих значительное количество каннабиноидных СВ1–рецепторов, являются ГАМК-эргическими, что позволяет допустить участие каннабиноидов в модуляции тормозной передачи [5, 6]. В литературе показан высокий уровень коморбидности злоупотребления препаратами конопли и аффективными расстройствами [7], реактивными и эндогенными психозами [8].

Целью данной работы являлось изучение влияния абстинентного синдрома при каннабиноидной зависимости на динамику агрессивного поведения у крыс с высоким уровнем фобического состояния.

**Материал и методы.** Исследования проведены в хроническом эксперименте на 28 половозрелых нелинейных белых крысах-самцах, разделённых на две равные группы: опытную (со сформированной каннабиноидной зависимостью) – 14 шт. и контрольную (интактные) – 14 шт. Для моделирования фобического состояния вследствие агрессивных столкновений была избрана модель

сенсорного контакта [9]. Эта модель допускает одновременное формирование и агрессивного и подчинённого (с фобическим состоянием) типов поведения в результате последовательного приобретения опыта побед и поражений в конфронтациях между особями. Для количественной оценки поведенческой активности крыс в этих условиях был использован тест «перегородка» [10]. В течение 5 мин регистрировали латентный период первого подхода и число подходов к перегородке. Если животное ни разу не подходило к перегородке, то латентный период первого подхода считали равным длительности тестирования – 300 с. Затем для инициации «социального конфликта» перегородку убрали и в течение 10 мин фиксировали успех или поражение для каждой крысы в агрессивном столкновении. Если крысы не проявляли агрессивного поведения, то латентный период первой атаки принимался равным всему времени тестирования (600 с). Для количественной оценки поведения крыс в условиях клетки без перегородки регистрировали следующие показатели: латентный период перехода на территорию партнёра, латентный период первой атаки, количество и общее время атак. Кроме этого, использовали показатель интенсивности агрессии, который вычисляли как процентное соотношение общего времени атак от начала первой из них до окончания тестирования. Модель каннабиноидной зависимости у крыс создавали в течение 60 дней путём ежедневной 20-минутной принудительной

© А.В. Шляхова, Е.В. Веселовская.

ингаляции тлеющего каннабиса в специальной герметичной установке [11]. Результаты исследований обрабатывали статистически с использованием t-критерия Вилкоксона и критерия Манна–Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Исследования показали, что при агонистических столкновениях у 8 крыс из 14 интактных отмечено пассивное подчинённое поведение при минимальных значениях показателя интенсивности агрессии (0,61 %). В первый день исследования в тесте «перегородка» в поведении крыс отмечались проявления ориентировочно-исследовательской реакции и повышенной эмоциональной активности: вертикальные стойки, обнюхивания клетки, длительный положительный ауто-груминг. Вместе с тем крысы проявляли интерес и к партнёру за перегородкой. Латентный период первого подхода к перегородке составлял (98,8±36,8) с (рис. 1, а). Крысы достаточно активно вели себя возле перегородки: обнюхивали её, просовывали нос в отверстия, становились в вертикальные стойки, опираясь передними лапами на перегородку. При этом среднее число подходов было 5,2±1,3 (рис. 1, б).

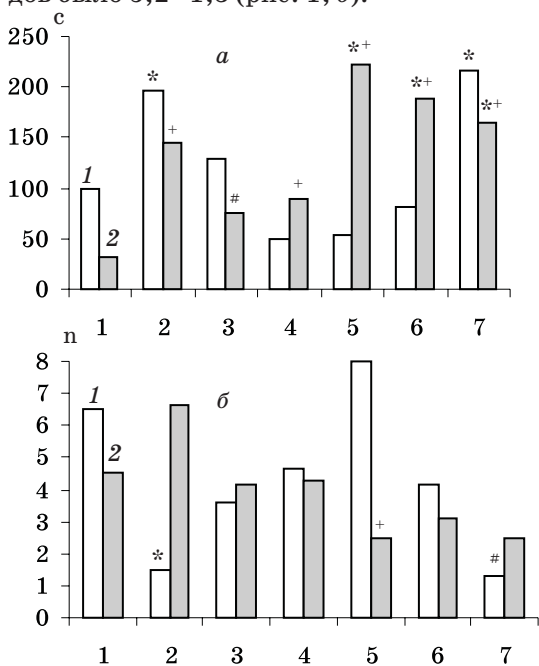


Рис. 1. Поведение крыс контрольной (1) и опытной (2) групп с фобическими состояниями в тесте «перегородка»:

а – латентный период первого подхода к перегородке; б – число подходов; 1 – до агрессивных столкновений (исходные данные), 2–7 – дни агрессивных столкновений; \*  $p < 0,05$  в сравнении с исходными данными; #  $p < 0,01$  в сравнении с исходными данными; +  $p < 0,05$  в сравнении с контрольной группой

После того как перегородку между двумя отсеками убрали, животные были напуганы, нерешительны, сначала находились на своей территории и в среднем только на (219,0±80,6) с переходили на половину партнёра (рис. 2). Лишь у двух крыс эпизодически наблюдалось активное аверсивное поведение, а агрессивных реакций в отношении партнёра у крыс этой группы практически не отмечалось, показатель интенсивности агрессии был очень низким (0,85 %).

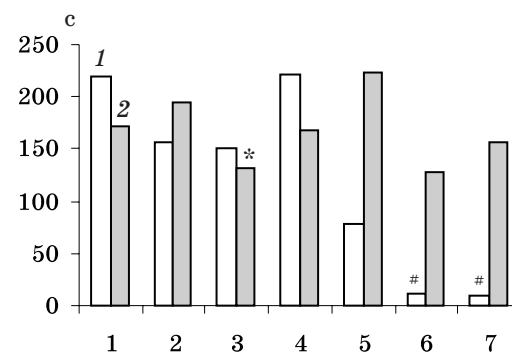


Рис. 2. Латентный период перехода на чужую территорию у крыс контрольной (1) и опытной (2) групп с фобическими состояниями: 1 – до агрессивных столкновений (исходные данные), 2–7 – дни агрессивных столкновений; #  $p < 0,01$  в сравнении с исходными данными

Животные демонстрировали подчинённое поведение, то есть готовность сдаться, подчиниться при нападении или угрозе нападения. При этом у них снижалась двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, крысы сидели в углу клетки и напряжённо наблюдали за каждым движением партнёра, ежесекундно ожидая нападения. На следующий день в тесте «перегородка» в результате поражения в первом агонистическом столкновении крысы были пассивны, отмечалось значительное, до (195,8±43,6) с, увеличение латентного периода первого подхода и снижение до 1,5±0,7 числа подходов к перегородке. В последующем, на 3-й–4-й день эксперимента, крысы быстрее и чаще подходили к перегородке, что проявлялось в снижении до минимальных значений латентного периода первого подхода и постепенном росте числа подходов. Латентный период первого подхода сохранялся на том же уровне и на 5-й и 6-й дни. На 5-й день у крыс отмечался достоверный рост числа подходов к перегородке. На 7-й день наблюдалось резкое снижение активности крыс, что выражалось в достоверном уменьшении числа подходов и повышении латентного периода первого

подхода, крысы не проявляли интереса к партнёру за перегородкой (см. рис. 1). При открытой перегородке крысы, так же как и в первый день агонистических столкновений, не сразу переходили на чужую территорию, и только на 5-й день исследований отмечалось снижение латентного периода перехода на территорию партнёра, на 6-й–7-й дни данный показатель ещё больше снижался (рис. 2). Следует отметить, что крысы контрольной группы не нападали на партнёра первыми, поэтому в течение всего периода исследований показатель интенсивности агрессии имел низкие значения (рис. 3). При нападении партнёра эти животные проявляли аверсивное поведение, направленное на активную защиту; иногда крысы пытались избежать ситуации, в которой они оказались, пытаясь выпрыгнуть из клетки.

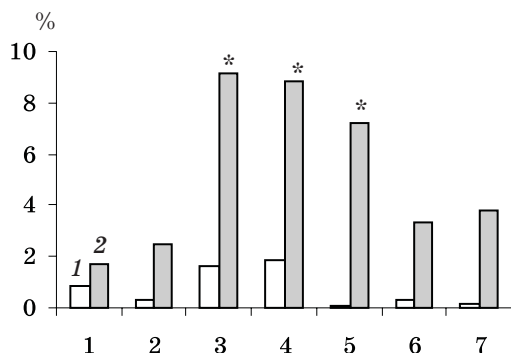


Рис. 3. Показатель интенсивности агрессии у крыс контрольной (1) и опытной (2) групп. \*  $p < 0,05$  в сравнении с исходными данными

Анализ результатов исследований поведения крыс с сформированной каннабиноидной зависимостью в состоянии абстиненции при моделировании сенсорного контакта показал, что так же, как и в контрольной группе, 57 % животных имели высокий уровень фобического состояния (подчинённый тип поведения), но показатель интенсивности агрессии у крыс этой группы в несколько раз превышал показатель контрольной группы и соответствовал 5,2 % (рис. 3). В первый день исследований в тесте «перегородка» крысы опытной группы проявляли выраженные ориентировочно-исследовательские реакции и были активнее, чем крысы контрольной группы. Поэтому латентный период первого подхода к перегородке был достоверно короче по сравнению с контрольной группой и составлял  $(31,0 \pm 16,1)$  с, а количество подходов было незначительно меньше –  $4,5 \pm 1,1$ . После первого столкновения у этих крыс наблю-

дали повышение латентного периода первого подхода к перегородке, при этом количество подходов увеличилось. Таким образом, эти крысы находились в состоянии страха, но интерес к партнёру у них сохранялся. На 3-й–4-й дни исследования в сравнении с предыдущим днём латентный период первого подхода к перегородке уменьшался, но крысы редко подходили к перегородке. Интересно отметить, что на 5-й день эксперимента крысы имели максимальный латентный период подхода и минимальное количество подходов – они были заторможены, неактивны. В последующем характер поведения крыс опытной группы в тесте «перегородка» не изменялся (рис. 1 а, б). После того как перегородку между двумя отсеками убирали, крысы опытной группы, так же как и животные контрольной группы, долго оставались в нерешительности и только на  $(172,6 \pm 92,4)$  с осмеливались перейти на территорию партнёра. На 3-й день крысы опытной группы достоверно быстрее переходили на территорию партнёра. В последующем этот показатель волнообразно изменялся и в конце эксперимента был значительно выше показателя контрольной группы (см. рис. 2). При этом латентный период первой атаки у крыс опытной группы с фобическими состояниями равнялся  $(362,5 \pm 91,9)$  с и был продолжительным в течение всего периода исследований (рис. 4, а). Несмотря на это, на 2-й–3-й дни после первого агрессивного столкновения у крыс количество и общая длительность атак повышались и 70 % из них обнаруживали агонистическое конкурентное поведение, а именно нападали боком, становились в агрессивную вертикальную позу, демонстрировали аллогрумминг (покусывали шерсть противника, нависали над спиной или шеей более слабой крысы, которая лежала прижавшись к полу). На 4-й день отмечали уменьшение количества атак и их длительности. Вторую волну повышения агрессивности, но менее выраженную, наблюдали на 5-й–7-й дни исследования (рис. 4, б, в). У крыс с каннабиноидной зависимостью и высоким уровнем фобического состояния при абстиненции показатель интенсивности агрессии при первом агонистическом столкновении равнялся 2,32 % и был выше, чем в контрольной группе. На 2-й день у животных опытной группы наблюдали незначительное, а затем (на 3-й–5-й дни) и достоверное повышение агрессивных проявлений до максимальных значений. В конце экспери-

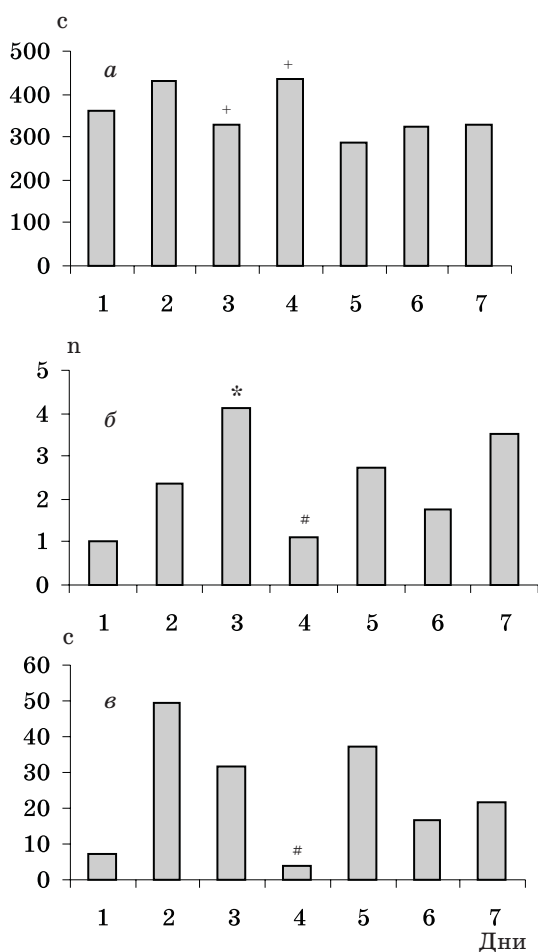


Рис. 4. Динамика агрессивного поведения крыс опытной группы с фобическими состояниями при агонистических столкновениях:

*a* – латентный период атак; *б* – количество атак; *в* – общее время атак; \*  $p < 0,05$  в сравнении с исходными данными; \*  $p < 0,05$  и #  $p < 0,01$  в сравнении с предыдущим тестированием

мента, несмотря на снижение показателя интенсивности агрессии, его значения были выше, чем при первом агонистическом столкновении (см. рис. 3).

Результаты проведённых исследований показали, что поведение животных опытной группы с фобическими состояниями и сформированной каннабиноидной зависимостью при моделировании агонистических столкновений в результате конфликтных социальных взаимодействий значительно отличалось от поведения крыс контрольной группы с фобическими состояниями. После первого агрессивного столкновения у животных контрольной группы латентный период первого подхода к перегородке повышался, что являлось одной из причин сни-

жения числа подходов к перегородке. У крыс опытной группы на фоне повышения латентного периода первого подхода повышалось и количество подходов к перегородке. По данным [10], число подходов к перегородке является показателем исследовательской и двигательной активности, поэтому можно говорить о высокой ориентировочной и моторной активности у крыс опытной группы. Известно, что мотивационная роль тревожности заключается в активации механизмов психической адаптации [12]. Поведение крыс контрольной группы являлось результатом повышения уровня тревожности в ответ на действия партнёра и было направлено на защиту и избегание ситуации, в которой они оказались. У крыс опытной группы в течение всего периода исследования постепенно формировалась агрессивная стратегия адаптивного поведения, поскольку животные не приспособились к новым условиям существования, а пытались активно изменить неприятную для них ситуацию угнетения, что проявлялось в агрессивных нападениях на партнёра. По данным литературы, большие дозы марихуаны подавляют открытую агрессию [13]. По нашим наблюдениям, у крыс с фобическими состояниями со сформированной зависимостью от каннабиноидов отмечался значительно более высокий уровень агрессивной мотивации, чем у интактных крыс с фобическими состояниями. Очевидно, ингаляция тлеющего каннабиса послужила провоцирующим фактором усиления агрессивности, что связано с абстинентным синдромом, а, как известно, состояние «лишения» в результате изменения метаболизма медиаторов в головном мозге приводит к резким нарушениям эмоционального фона – возникновению агрессии [14, 15].

#### Выводы

1. У животных со сформированной каннабиноидной зависимостью в течение всего периода исследований показатель интенсивности агрессии превышал таковой у интактных животных.

2. У крыс со сформированной каннабиноидной зависимостью после первого агрессивного столкновения возрастало количество и общее время атак, что является реакцией, противоположной поведению интактных крыс с фобическими состояниями, и присуще поведению крыс-агрессоров.

**Литература**

1. *Калуев А.В.* Проблемы изучения стрессорного поведения / А.В. Калуев. – К.: Центр физиолого-биохимических проблем, 1998. – 133 с.
2. *Лапин И.П.* Нейрохимическая мозаика тревоги и индивидуализация психофармакологии / И.П. Лапин // Тревога и обсессии. – М.: РАМН, 1998. – С. 12–20.
3. *Nutt D.* Imaging receptors in human anxiety / D. Nutt // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2004. – Vol. 7, № 1. – P. 17.
4. *Балашов А.М.* Эволюция взглядов на патогенез зависимости от каннабиноидов / А.М. Балашов // Наркология. – 2004. – № 11. – С. 5–12.
5. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system / K. Tsou, S. Broun, M.C. Sanudo-Pena et al. // Neurosci. – 1998. – V. 83 (2). – P. 393–411.
6. Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation / K. Tsou, K. Mackie, M.C. Sanudo-Pena, J.M. Walker // Neurosci. – 1999. – Vol. 93 (3). – P. 969–975.
7. *Soyka M.* Cannabinoids and mental health / M. Soyka // Schmerz. – 2003. – V. 17. – P. 268–273.
8. *Degenhardt L.* Cannabis and psychosis / L. Degenhardt, W. Hall // Curr. Psychiatry Rep. – 2002. – V. 4. – P. 191–196.
9. *Кудрявцева Н.Н.* Применение теста «перегородка» в поведенческих и фармакологических экспериментах / Н.Н. Кудрявцева // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2002. – № 1. – С. 90–105.
10. *Кудрявцева Н.Н.* Сравнительная характеристика параметров агрессивной реакции мышей двух генотипов / Н.Н. Кудрявцева, Н.К. Попова // Журн. высш. нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1988. – № 5. – С. 889–895.
11. *Воробйова Т.М.* Аналіз особливостей формування агресивної поведінки щурів при канабіноїдній залежності / Т.М. Воробйова, А.В. Шляхова, О.В. Веселовська // Фізіол. журн. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 61–70
12. *Березин Ф.Б.* Эмоциональный стресс и психосоматические расстройства. Подходы к терапии / Ф.Б. Березин, Н.П. Мирошников // Бюл. для врачей и фармацевтов. – 1996. – № 1 (9). – С. 29–57.
13. *Бэрон Р.* Агрессия / Р. Бэрон, Д. Ричардсон. – СПб.: Питер, 2001. – 352 с.
14. *Воробьева Т.М.* Нейробиология вторично приобретенных мотиваций / Т.М. Воробьева // Междунар. мед. журн. – 2002. – № 1–2. – С. 211–217.
15. *Воробьева Т.М.* Системно-нейробиологические механизмы агрессивного поведения / Т.М. Воробьева, С.П. Колядко, Д.А. Бевзюк // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2005 – Т. 1, № 1. – С. 20.

**А.В. Шляхова, О.В. Веселовська**

**ВПЛИВ КАНАБІНОЇДНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ НА СТАН АГРЕСИВНОЇ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ З ВИСОКИМ РІВНЕМ СОЦІАЛЬНИХ ФОБІЙ**

Проведено порівняльний аналіз агресивних реакцій інтактних щурів і щурів зі сформованою канабіноїдною залежністю, що виявляють підрядну поведінку (високий рівень соціальних фобій) при моделюванні сенсорного контакту. Показано, що наявність канабіноїдної залежності підвищує рівень агресивної мотивації у щурів підрядного типу поведінки у стані абстиненції.

**Ключові слова:** канабіноїдна залежність, фобії, агоністичні зіткнення.

**A.V. Shlyahova, Ye.V. Veselovskaya**

**THE INFLUENCE OF KANNABINOID DEPENDENCE ON THE STATE OF AGGRESSIVE BEHAVIOUR IN RATS WITH HIGH LEVEL OF SOCIAL PHOBIAS**

The comparative analysis of aggressive reactions was conducted in intact rats and rats with developed cannabinoid dependence, which demonstrated submissive behaviour (high level of social phobias) under modeling of sensory contact. It was shown that the presence of cannabinoid dependence increased the level of aggressive motivation in rats with submissive type of behaviour in the state of abstinence.

**Key words:** cannabinoid dependence, social phobias, agonistic conflicts.

Поступила 30.03.10

УДК 616.89.482/.484-092.9

*І.М. Васильєва, Л.Д. Попова***ОПТИМІЗАЦІЯ ВИБОРУ КОНТРОЛЮ  
ПРИ ВИКОРИСТАННІ МОДЕЛІ «СЕНСОРНОГО КОНТАКТУ»***Харківський національний медичний університет*

Обґрунтовано використання щурів із проміжним (урівноваженим) типом поведінки замість тварин, що знаходились в умовах індивідуального утримання, в якості контролю при роботі з моделлю «сенсорного контакту». Запропоновано метод розподілу самців при визначенні типу поведінки на три групи (агресивні, урівноважені, субмісивні) замість двох (агресивні і субмісивні). Перевагами використання запропонованого контролю є зменшення похибки в результатах і попередження нівелювання різниці в біохімічних показниках між альтернативними групами і контролем.

**Ключові слова:** *агресивний тип поведінки, субмісивний тип поведінки, урівноважений тип поведінки, шкала оцінювання поведінки.*

Визначення типу поведінки експериментальних тварин має велике значення для дослідження нейробіологічних механізмів розвитку агресії та депресії у людини. Видоспецифічними й різними у людей і тварин можуть бути тільки стимули та умови, що запускають і провокують прояви агресивної поведінки. В той же час фізіологія агресії, нейрофізіологічні механізми її розвитку є загальними.

Дослідження в цьому напрямку мають велике значення для попередження активів агресії, успішної роботи в центрах реабілітації учасників бойових конфліктів, вивчення ефективності дії нових лікарських препаратів (зокрема, антидепресантів і анксиолітиків) у індивідумів з різним психологічним станом, розробки методів індивідуальної терапії.

Багато препаратів по-різному впливають на субмісивних і агресивних тварин, що обумовлює їх різну ефективність у індивідумів з різним психоемоційним станом [1, 2].

Найбільш розповсюдженим способом визначення типу поведінки експериментальних тварин є модель «сенсорного контакту», розроблена сектором соціальної поведінки Інституту цитології та генетики Сибірського відділення РАН [3, 4].

Згідно з цією моделлю в якості контролю використовують тварин, які знаходились в умовах індивідуального утримання протягом 5 днів і не підлягали тестуванню [2, 5–7].

Використання в якості контролю тварин, що знаходились в умовах ізольованого

утримання, є некоректним, тому що серед цих тварин є особини як з потенційно агресивним, так із потенційно субмісивним типом поведінки, що усереднює біохімічні показники, отримані на цих тваринах, і нівелює різницю в показниках між альтернативними групами і контролем.

У зв'язку із викладеним метою роботи була оптимізація вибору контролю при використанні моделі «сенсорного контакту».

**Матеріал і методи.** Робота виконана на 24 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар масою 240–270 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Для розподілу тварин на групи з альтернативними типами поведінки було використано модель емоційного стресу «сенсорний контакт» [3, 4, 8]. Щури протягом п'яти днів знаходилися в умовах індивідуального утримання з метою попередження ефекту групової взаємодії. Потім щурів утримували два дні в експериментальних клітках, розподілених навпіл прозорою перегородкою з отворами, що забезпечувало умови сенсорного контакту. Тестування типу поведінки починали через два дні після адаптації тварин до нових умов утримання і сенсорного знайомства. На період тестування перегородку забирали на 10 хв. Тестування проводили протягом 10 днів у другій половині дня (14.00–16.00).

Відповідно до результатів тестування було виділено не дві (агресивні та субмісивні), а три групи тварин. Виділення тварин з проміжним типом поведінки (названий як урівноважений) при розподілі тварин з

© *І.М. Васильєва, Л.Д. Попова.*

альтернативними типами поведінки було проведено у відповідності до розробленої нами шкали оцінювання типу поведінки. Частина тварин знаходилась п'ять днів в умовах індивідуального утримання. Ця група відповідала контролю в попередніх дослідженнях. Її використовували для порівняння із запропонованим новим контролем – щурами з урівноваженим типом поведінки. Дослідження вмісту тестостерону в крові щурів проводили імуноферментним методом за допомогою наборів «Алкоб Біо» (Санкт-Петербурґ).

**Результати та їх обговорення.** Було розроблено шкалу оцінювання поведінки, в якій було виділено чотири субшкали.

I. Агресивність: 1 акт агресії (1 бал), 2 акти агресії (2 бали), 3 і більше актів агресії (3 бали).

II. Активна поведінка: активний захист (3 бали), контакти з супротивником (2 бали), освоєння території (2 бали).

III. Субмісивна поведінка: поза «ніс у кутку» (-1 бал), положення на спині після атаки суперника (-2 бали), нерухомість – сидіння на одному місці (0 балів).

IV. Мобілізація: відсутність актів дефекації (0 балів), наявність актів дефекації (1 бал).

Субшкала «Агресивність» оцінюється від 0 до 3 балів, «Субмісивна поведінка» –

від 0 до -2 балів, «Активна поведінка» – від 1 до 3 балів. Введення субшкали «Мобілізація» обумовлено тим, що вона є відображенням виділення твариною гормону стресу – адреналіну. Адреналін викликає розслаблення гладеньких м'язів сечового міхура і кишечника [9], тобто наявність актів дефекації свідчить про посилення секреції цього гормону. Адреналін мобілізує організм. Сумарний підсумок фізіологічних ефектів адреналіну – підготовка організму до максимального використання енергетичних ресурсів і їх реалізації в умовах стресових реакцій – ситуація «боротьба або втеча», спрямованих на фізичне виживання особини.

Шкала оцінювання поведінки включає три альтернативних типи поведінки: субмісивний (0–3 бали), урівноважений (4–7 балів), агресивний (8–10 балів), і дозволяє виділити тварин із урівноваженим типом поведінки, які можуть бути контролем до тварин із субмісивним і агресивним типом поведінки. Для кожної особини було підраховано кількість балів (таблиця)

Відповідно до отриманої кількості балів щури були розподілені за шкалою оцінювання типу поведінки: № 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 – агресивний тип; № 3, 11, 12, 17, 19, 20 – урівноважений; № 1, 13, 14, 15, 18 – субмісивний тип.

*Результати розподілу щурів за шкалою оцінювання типу поведінки в балах*

Номер щурів	Агресивність	Активна поведінка			Субмісивна поведінка*		Мобілізація (акти дефекації)	Усього
		активний захист	контакт з супротивником	освоєння території	«ніс у кутку»	положення на спині		
1			2	2		-2	0	2
2	3		2	2			0	10
3		3	2	2			0	7
4	3		2	2			1	8
5	3		2	2			1	8
6	2		2	2			1	7
8	3		2	2			1	10
9	3		2	2			1	8
10	3		2	2			1	8
11		3	2				1	6
12			2	2			1	7
13			2	2	-1	-2	1	2
14			2	2	-1		0	3
15			2	2	-1		0	3
17		3	2	2			0	5
18		3	2		-1	-2	0	2
19		3	2	2			0	7
20			2	2			1	5

*Примітка.* \* Нерухомість у всіх випадках складала 0 балів.

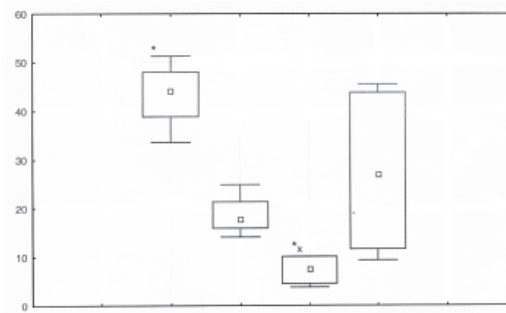
Для оцінки переваги цього контролю над попереднім у плазмі крові тестованих щурів і щурів, що знаходились в умовах індивідуального утримання, було визначено вміст тестостерону.

Вибір тестостерону в якості біохімічного показника, вміст якого буде залежати від типу поведінки, обумовлений двома причинами: по-перше, агресивність більш характерна для самців; по-друге, тестостерон впливає на сексуальну і агресивну поведінку самців, перетворюючись у мозку на естрадіол [10, 11].

Згідно з отриманими результатами групи тварин з альтернативними типами поведінки істотно відрізнялися за вмістом тестостерону в плазмі крові (рисунок).

У щурів з агресивним типом поведінки вміст гормону в 5 разів вищий, ніж у щурів із субмісивним типом поведінки. Урівноважені тварини за цим показником посідали проміжне місце між агресивними і субмісивними щурами, і рівень тестостерону у цих тварин був у 2,4 раза нижчим порівняно з агресивними й у 2,1 раза вищим порівняно із субмісивними щурами. Різниця в усіх наведених випадках статистично вірогідна ( $p < 0,05$ ).

Результати, отримані при дослідженні вмісту тестостерону в крові щурів, що знаходились в умовах індивідуального утриму-



Вміст тестостерону в плазмі крові щурів з альтернативними типами поведінки (Ме [25 %; 75 %], мінімальне і максимальне значення):

1 – агресивний тип поведінки; 2 – урівноважений; 3 – субмісивний тип; 4 – інтактні тварини, що знаходились в умовах ізолюваного утримання.  $p < 0,05$ ; \* порівняно з щурами з урівноваженим типом поведінки; x порівняно з щурами з агресивним типом поведінки

вання, свідчать про їх високу варіабельність і велику похибку. У зв'язку з цим різниця в рівні тестостерону в плазмі крові даної групи тварин є недостовірною порівняно як з агресивними, так і субмісивними самцями ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, запропонований контроль має переваги порівняно з попереднім, а саме зменшує похибку в результатах і попереджає нівелювання різниці в біохімічних показниках між альтернативними групами і контролем.

## Література

1. Звягінцева Т.В. Корекція таурином стану ЦНС, наднирникових залоз та фагоцитарної активності при експериментальному стресі / Т.В. Звягінцева, Л.Т. Киричок, Г.С. Кратенко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 5–6. – С. 58–63.
2. Etiological analysis of the effects of fluoglyzine on mice exposed to chronic social stress / D.F. Avgustinovich, I.L. Kovalenco, I.V. Sorokina et al. // Bul. Exp. Biol. and Med. – 2004. – № 1. – P. 86–89.
3. Kudryavtseva N.N. The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors male mice / N.N. Kudryavtseva // Aggres. Behav. – 1991. – V. 17, № 5. – P. 285–291.
4. Kudryavtseva N.N. Social model of depression in mice of C57 BL/6J strain / N.N. Kudryavtseva, I.V. Bakshtanovskaya, L.A. Koryakina // Pharmacol. Biochem. and Behav. – 1991. – V. 38. – P. 315–320.
5. Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование / Д.Ф. Августинович, О.В. Алексеенко, И.В. Бакштановская и др. // Успехи физиол. наук. – 2004. – Т. 35, № 4. – С. 19–40.
6. Changes in blood biochemistry in mice during development of experimental depression / D.F. Avgustinovich, I.V. Kovalenco, I.V. Sorokina, T.G. Tolstikova // Bul. Exp. Biol. and Med. – 2003. – № 4. – P. 346–348.
7. Repeated experience of social defeats increases serotonin transporter and monoamine oxidase A mRNA levels in raphe nuclei of male mice / M.L. Filipenco, A.G. Beilina, O.Y. Alekseyenco et al. // Neuroscience Letters. – 2002. – V. 321. – P. 25–28.
8. Kudryavtseva N.N. Influence of genotype on the formation of aggression and submissive behavior in mice / N.N. Kudryavtseva, A.P. Sitnikov // Neurosci. Behav. Physiol. – 1988. – V. 18, № 1. – P. 1838–1843.
9. Percy W.H. Adrenergic responses of rat colonic muscularis mucosae / W.H. Percy, S.M. Keupp // J. Pharm. Pharmacol. – 2008. – V. 60, № 8. – P. 1097–1103.

10. Brain aromatase mRNA expression in two populations of peacock blenny *Salaria pavo* with divergent mating systems / D. Concalves, J. Saraiva, M. Teles et al. // *Horm. Behav.* – 2010. – V. 57, № 2. – P. 155–161.

11. Sexual behavior activity tracks rapid changes in brain estrogen concentration / M. Taziaux, M. Keller, J. Bakker, J. Balthazart // *J. Neurosci.* – 2007. – V. 27, № 24. – P. 6563–6572.

*И.М. Васильева, Л.Д. Попова*

#### ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫБОРА КОНТРОЛЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОДЕЛИ «СЕНСОРНОГО КОНТАКТА»

Обосновано использование крыс с промежуточным (уравновешенным) типом поведения вместо животных, которые находились в условиях индивидуального содержания, в качестве контроля при работе с моделью «сенсорного контакта». Предложен метод разделения самцов при определении типа поведения на три группы (агрессивные, уравновешенные, субмиссивные) вместо двух (агрессивные и субмиссивные). Преимуществами использования предложенного контроля являются уменьшение ошибки в результатах и предупреждение нивелирования разницы в биохимических показателях между альтернативными группами и контролем.

**Ключевые слова:** агрессивный тип поведения, субмиссивный тип поведения, уравновешенный тип поведения, шкала оценки поведения.

*I.M. Vasylyeva, L.D. Popova*

#### OPTIMIZATION OF CONTROL CHOICE IN «SENSORY CONTACT» MODEL APPLICATION

Using rats with intermediate (steady) type of behavior as control instead of animals housed individually was substantiated. The method of male behavior type determination to select three groups (aggressive, steady, submissive) instead of two ones (aggressive and submissive) was proposed. The decrease of error in results and the prevention of elimination of biochemical parameter differences between alternative groups and control are advantages of proposed control.

**Key words:** aggressive behavior type, steady behavior type, submissive behavior type, scala evaluation behavior.

*Поступила 10.04.10*

УДК 616.575

*А.М. Федота, Т.М. Ткачѐва*

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БУЛЛѐЗНОГО ЭПИДЕРМОЛИЗА

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

Представлены результаты цитогенетического анализа 9 больных и их родственников I степени родства с различными формами буллѐзного эпидермолиза. В семьях с простым аутосомно-доминантным буллѐзным эпидермолизом (тип Вебера–Жоккейна) и аутосомно-рецессивным дистрофическим буллѐзным эпидермолизом (тип Аллопо–Сименса) обнаружены гетерохроматиновые полиморфизмы 1qgh+, 15ps+, отмечен высокий уровень хромосомной нестабильности (1–18 %). Анализируются причины общей геномной нестабильности больных буллѐзным эпидермолизом, который можно отнести к моногенным заболеваниям, проявляющимся хромосомной нестабильностью.

**Ключевые слова:** генодерматозы, буллѐзный эпидермолиз, цитогенетический анализ, хромосомная нестабильность.

Буллѐзный эпидермолиз объединяет буллѐзные моногенные дерматозы, характеризующиеся клиническим полиморфизмом и генетической гетерогенностью и подразделяющиеся на три основные группы в зависимости от уровня дермально-эпидермальных расщелений в области базальной мембраны [1]. Эта патология отличается исключительной тяжестью большинства форм, вплоть до летальных результатов в раннем детстве.

В настоящее время описано около 30 различных форм буллѐзного эпидермолиза с аутосомно-доминантными и рецессивными типами наследования. Генетические исследования буллѐзного эпидермолиза в различных странах затрагивают популяционно-генетические, клинико-генеалогические и молекулярно-генетические аспекты. Тяжёлые рецессивные формы встречаются в различных популяциях мира с частотой в среднем 1 : 700 000. В Харьковской популяции частота дистрофического буллѐзного эпидермолиза составляет 1 : 450 000 человек, а частота гетерозиготного носительства генов дистрофического буллѐзного эпидермолиза – 1 : 350 человек [2, 3].

На сегодняшний день для гена COL7A1 (collagen VII, alpha-1 polypeptide), находящегося в локусе 3p21.3 и насчитывающего 118 экзонов, описано 42 мутантных варианта, 8 из которых вызывают наиболее тяжѐлую форму буллѐзного эпидермолиза – ауто-

сомно-рецессивный тип Аллопо–Сименса (OMIM 226600, Hallopeau–Siemens type) [4, 5]. Представлены данные о гене MMP1 [CLG, Matrix metalloproteinase 1 (interstitial collagenase), OMIM 120353], локализованном в 11q22-q23, как о гене-модификаторе дистрофического рецессивного буллѐзного эпидермолиза.

Буллѐзный эпидермолиз простой, тип Вебера–Жоккейна (OMIM 131800, Weber–Cockayne type), аутосомно-доминантный, обусловлен мутациями в гене KRT5 (keratin 5, OMIM 148040), расположенном в локусе 12q13, гене KRT 14 (keratin 14, OMIM 148066), локализованном в 17q12-q21, и гене ITGB4 (integrin, beta-4, OMIM 147557), находящемся в локусе 17q11-qter [6].

В современной литературе представлено множество данных о нарушениях кожных покровов, например, обилии невусов, телеангиэктазиях, локальной аплазии кожи, птериgiume, гетеротопическом оволосении как фенотипических проявлениях хромосомных аномалий.

Поражения кожи описаны и при моногенных болезнях с хромосомной нестабильностью, таких, например, как синдром Ротмунда–Томсона (OMIM 268400) с дермадромами в виде телеангиэктазии и гиперпигментации кожи различных оттенков), синдром Блюма (OMIM 210900) с телеангиэктатической эритемой в форме бабочки, синдром Луи–Бара (OMIM 208900) с телеанги-

© А.М. Федота, Т.М. Ткачѐва.

эктазий на конъюнктиве, открытых участках тела и слизистых оболочках твёрдого и мягкого нёба, анемия Фанкони с гиперпигментацией кожи в паховой и подмышечной областях, синдром Вернера (ОМІМ 277700) – симптомокомплекс преждевременного старения кожи с преждевременным поседением и облысением, атрофией подкожной жировой клетчатки, синдром Ниймегена (ОМІМ 251260) в виде пятен «кофе с молоком» на коже, пороkerатоз Мибелли (ОМІМ 175800) с множественными или единичными поражениями в виде роговых папул, обнаруживающих периферический рост и превращающихся в бляшки с западающей атрофичной центральной зоной, сероватого цвета, различной величины и очертаний, по периферии окружённых роговым гребнем в виде валика [1, 7].

Широко представлены в литературе результаты цитогенетического анализа не только многочисленных хромосомных синдромов, но и онкозаболеваний (злокачественной лимфомы человека, миелодиспластического синдрома, хронической миелоидной лейкемии и др.) [8, 9].

Зарубежными авторами сделаны предположения, что больные с дистрофическим буллёзным эпидермолизом имеют повышенный риск развития агрессивной сквамозной клеточной карциномы [10], однако цитогенетические аспекты большинства моногенных генодерматозов, традиционно считавшихся менделевскими заболеваниями, до сих пор не раскрыты.

Целью данного исследования было проведение скрининга соматических клеток пробандов с различными формами буллёзного эпидермолиза и их родственников I степени родства на наличие хромосомных aberrаций и выявление возможных структурных аномалий и хромосомного полиморфизма.

**Материал и методы.** Материалом для цитогенетического исследования послужили лимфоциты образцов периферической крови 9 больных с простым и дистрофическим буллёзным эпидермолизом, находящихся на диспансерном учёте в ХОККВД № 1, и их родственников I степени родства, составляющих в целом основную группу. Все больные и/или их родственники дали согласие на участие в исследовании.

Процедура получения препаратов метафазных хромосом проводилась по стандартным методикам [11], включая культивирование клеток *in vitro*, приготовление хромосомных препаратов с применением рутин-

ного и дифференциальных (G- и C-) методов окрашивания. Анализ препаратов проводился с помощью диагностической системы MetaSystems (Zeiss), в программе IKARUS, на микроскопе Axioskop (ФРГ) при увеличении 1000. Кариотипирование выполнено в соответствии с критерием ISCN 2005 [12]. Цитогенетический анализ включал подсчёт числа aberrантных клеток, хромосом и частоты структурных aberrаций хромосом в метафазных пластинках, характеристику типов aberrаций и маркерных хромосом. Проанализировано не менее 100 метафазных пластинок каждого пациента.

В ходе статистического анализа равенство рядов распределения оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Разницу частот различных типов aberrаций оценивали с помощью ф-преобразования Фишера путём угловой трансформации. Статистические гипотезы проверяли на уровне значимости 0,05 и 0,01 [13, 14].

**Результаты и их обсуждение.** Цитогенетический анализ показал, что простой аутоcомно-доминантный буллёзный эпидермолиз, тип Вебера–Коккейна, представлен в основной группе двумя семьями с двумя больными и одним фенотипически нормальным родителем (пример родословной представлен на рис. 1).

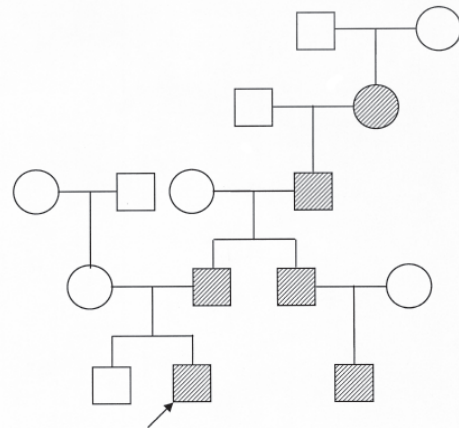


Рис. 1. Простой буллёзный эпидермолиз, тип Вебера–Коккейна

Дистрофический аутоcомно-рецессивный буллёзный эпидермолиз, тип Аллопо–Сименса, представлен в основной группе двумя семьями, тремя пробандами и двумя матерями – фенотипически нормальными облигатными гетерозиготами, и одним фенотипически нормальным sibсом (примеры родословных представлены на рис. 2, а и б).

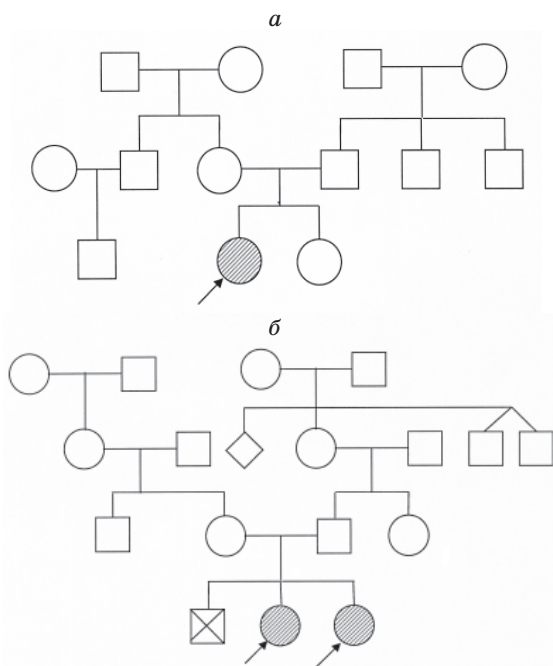


Рис. 2. Дистрофический буллезный эпидермолиз, тип Аллопо–Сименса:

а – 1-я семья; б – 2-я семья

Поскольку данные ряда авторов свидетельствуют о том, что нет различий между полами как по общей частоте хромосомных aberrаций, так и для всех типов aberrаций, а также не выявлено изменения общей частоты хромосомных aberrаций в зависимости от возраста [15], исследуемые лица разного пола и возраста (шесть женщин и трое мужчин в возрасте от 12 до 45 лет) объединены в одну выборку.

Для лиц основной группы частота aberrантных метафаз лежит в пределах от 1 до 18 % (табл. 1). Для лиц из семей с аутосомно-доминантным простым буллезным эпидермолизом типа Вебера–Коккейна этот показатель составил 1 %, при этом не отмечено ни структурных аномалий хромосом, ни полиморфизма гетерохроматиновых районов. Очевидно, имеет место взаимосвязь между величиной основных цитогенетических показателей и степенью тяжести фенотипа. Ограниченная, наиболее лёгкая из форм буллезного эпидермолиза – тип Вебера–Коккейна, проявляющаяся формированием пузырей только на ладонях и стопах, не показала повышения или изменения уровня основных цитогенетических показателей.

Характер рядов распределения частоты aberrаций у лиц из семей с дистрофическим аутосомно-рецессивным буллезным эпидермолизом и у здоровых лиц показывает статистически значимую разницу ( $p < 0,001$ ) –

хромосомная нестабильность в клетках больных выше. Полученные результаты сопоставимы с данными цитогенетического анализа больных факотозами: синдром Луи-Бара – 16 %, болезнь Штурге–Вебера – 10 %, синдром Клиппеля–Треноне – 7 %, нейрофиброматоз – 6 % [16], в то время как максимальный уровень клеток с хромосомными aberrациями в культуре лимфоцитов человека в норме лежит в пределах от 0 до 3 %, в среднем составляет 1,2 % [17–19]. Структура выявленных хромосомных aberrаций у больных и их родственников была представлена aberrациями хроматидного и хромосомного типа. Среди aberrаций хроматидного типа преобладали хроматидные обмены и одиночные фрагменты, aberrации хромосомного типа составили парные фрагменты, реже ацентрические кольца, дицентрические хромосомы, терминальные делеции и транслокации. В табл. 2 приведены частоты различных типов aberrаций в выборке больных дистрофическим буллезным эпидермолизом и их родственников и показатели среднепопуляционной нормы по данным российских и украинских авторов [15, 19], рассчитанные как отношение общего числа определённого типа aberrаций к числу проанализированных метафаз. У больных и родственников отмечается статистически значимая более высокая частота всех

Таблица 1. Частота клеток с хромосомными aberrациями в семьях с дистрофическим буллезным эпидермолизом (БЭ) и у лиц контрольной группы

Количество aberrантных метафаз, %	Количество наблюдений, n	
	пробанды с дистрофическим БЭ и родственники (n=6)	среднепопуляционная норма (n=527)
0	0	160
1	2	201
2	0	105
3	1	44
4	0	11
5	0	2
6	0	3
7	1	1
9	1	
18	1	0
Статистики	$d_1=8, \chi^2_{cr}=26,12, \chi^2_{\phi}=359,36, p < 0,001$	

Таблиця 2. Структура і частота виявлених хромосомних аберацій

Показатель	Количество наблюдений, n	Частота в основной группе, %	Среднепопуляционная норма, % (Бочков, 2001) [15]	t	p	Среднепопуляционная норма, % (Талько, 2007) [19]	t	p
Метафазы	600	–	–			–		
Хроматидные обмены	2	0,33	0,052	2,02	<0,05	–		
Одиночные фрагменты	11	1,83	–			1,38	0,96	>0,05
Парные фрагменты	12	2,00	0,473	3,73	<0,01	1,00	3,29	<0,001
Ацентрические кольца	4	0,67	0,048	3,27	<0,01			
Дицентрики	3	0,50	0,024	3,01	<0,01	0,17	1,78	>0,05
Транслокации	2	0,33	–			0,11	1,59	>0,05
Делеции	2	0,33	–					

представленных видов аберацій по сравнению со среднепопуляционными показателями жителей России, что может свидетельствовать о более высокой нестабильности хромосом в основной группе. В то же время не отмечено разницы по сравнению с некоторыми средними показателями жителей Украины для ряда аберацій.

Разница между полученной частотой аберацій хроматидного типа – одиночных фрагментов, у лиц из семей с дистрофическим буллёзным эпидермолизом и спонтанным уровнем аберацій статистически не значима, что не позволяет связывать выявленные цитогенетические эффекты в обследованной группе с действием каких-либо химических или биологических мутагенов. Изучение частоты маркёров радиационного действия – аберацій хромосомного типа, нестабильных и стабильных и их соотношения – показало сдвиг в сторону нестабильных, тогда как доминирование частоты стабильных цитогенетических показателей считается биомаркёром трансмиссивной хромосомной нестабильности в последовательных клеточных генерациях и демонстрирует долгосрочное сохранение стабильных хромосомных аберацій как во первые облучённых клетках, так и у потомков [19]. Изучение частоты отдельных видов хромосомных аберацій как маркёров радиационного действия, например, дицентриков, у исследуемых лиц не показало статистически значимых отличий от среднепопуляционной нормы. Частота ацентриков – парных фрагментов и ацентрических ко-

лец – показала статистически значимые отличия у исследуемых лиц от спонтанного уровня этого типа хромосомных мутаций, тогда как для лиц, перенёсших острую лучевую болезнь вследствие Чернобыльской аварии, статистически значимых отличий от среднепопуляционной нормы не обнаружено [19]. Очевидно, изменения цитогенетических показателей, как интегральных, так и специфических, у больных буллёзным эпидермолизом не являются следствием действия химических или биологических мутагенов или радиационного воздействия, что требует дальнейшего изучения и обсуждения.

Нестабильность структуры хромосом при моногенных генодерматозах, не описанная ранее, и механизмы, лежащие в её основе, очевидно, также взаимосвязаны с регуляцией экспрессии генов и, таким образом, с нарушениями деления и роста, дифференцировки и нормального функционирования клеток. Повышение частоты хромосомных аберацій при других патологиях исследователи связывают со снижением активности процессов репарации ДНК. Известно о влиянии формирования хромосомных аберацій, например, дицентрических хромосом, на запуск реакции на повреждение ДНК, опосредованную белком р53. Для синдрома Луи-Бара (атаксии-телеангиэктазии), например, описаны мутации в гене АТМ, АТА, АТ1 (ОМІМ 607585), локализованном в 11q22.3 и контролирующем репарацию ДНК и клеточные циклы. При синдроме Вернера отмечены мутации в гене WRNIP1 или WHIP (ОМІМ 608196),

локалізованом в бр25.2 і кодующем ядерний білок, зв'язаний з хеліказами і учасником в підтриманні геномної стабільності і в механізмах апоптоза, і гомологічний хеліказам, учасником в процесах репарації і реплікації ДНК.

Результати даного дослідження можна інтерпретувати наступним образом. Дистрофічний буллезний епідермолиз, як уже відзначалося, обумовлений мутаціями в гені колагену VII типу. Кандидатним геном-модифікатором останнього виступає ген матричної металопротеїнази 1 або колагенази, мутації або поліморфізми якого викликають дисбаланс між синтезом і деградацією колагену [20]. Описані хворі з дистрофічним рецесивним буллезним епідермолизом, у яких відзначалося нормальний синтез колагену VII типу, однак деградація колагенази, підвищення транскрипції (в 3–4 рази) і активності якої було виявлено у хворих, виявилася посиленою. По даним [21], збільшення концентрації MMP1 асоційовано з механізмами преждевременных разрывов мембран, що може служити як неопосередкованою причиною зміни цитогенетических показателів у хворих, так і знижувати толерантність кліток до впливу, в тому числі і мутагенному, агентів різної природи, що в свою чергу може привести до підвищення частоти хромосомних аберацій в клітках. Очевидно, з

цими ж причинами зв'язана і передисположеність хворих дистрофічним буллезним епідермолизом до розвитку карцином, описана в роботі [20]. Вероятно, варіабельність активності колагенази у різних хворих внаслідок внутрішньоклітинної гетерогенності може обумовлювати хромосомну нестабільність в клітках різної ступені.

В ході дослідження хворих і родичів в сім'ях з простим буллезним епідермолизом не виявлено структурних змін хромосом. В одній з сімей з дистрофічним буллезним епідермолизом (рис. 2) хворий дитина і мати є носіями варіантів поліморфізму гетерохроматинових районів акроцентричної 15-ї хромосоми, у них відзначено збільшений супутник по короткому плечу 15-ї хромосоми, тоді як здоровий сибс його не має (рис. 3). У пробандів і матерів в іншій сім'ї з дистрофічним буллезним епідермолизом виявлено збільшення гетерохроматинового району довгого плеча 1-ї хромосоми (рис. 4).

Збільшення гетерохроматинових районів окремих хромосом може бути безпечним до певного стану і в залежності від генного оточення може супроводжувати патологічні процеси, з фенотипічними проявами в формі умовної затримки, спонтанних абортів і інших порушень, хоча взаємозв'язок у

46,XX,15ps+

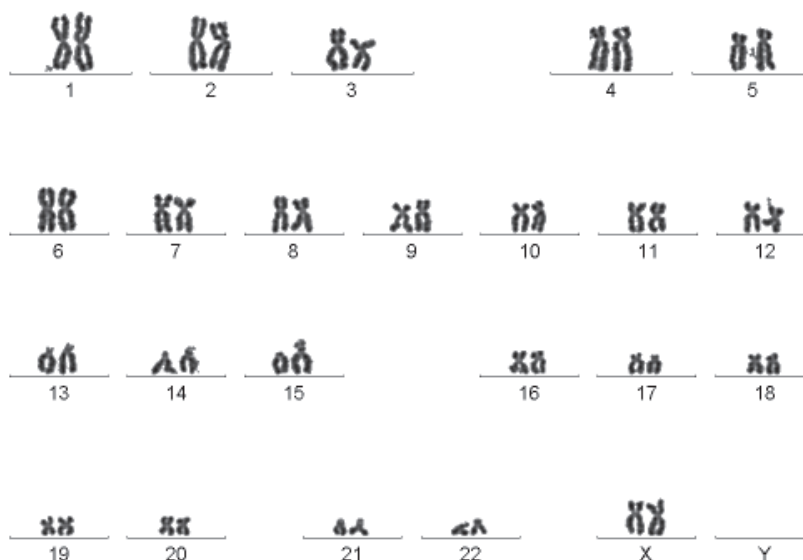


Рис. 3. 46, XX, 15ps+

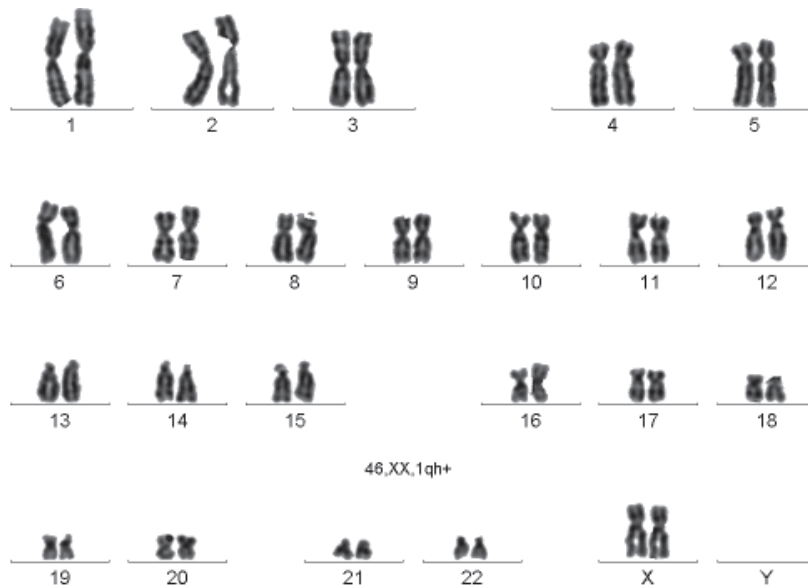


Рис 4. 46, XX, 1qh+

личения спутников акроцентрических хромосом с различными патологиями остаётся малоизученной и требует дальнейших исследований.

Известно, однако, что частота гетероморфизма по выявленным особенностям составляет примерно 1 : 30 человек. В семьях с дистрофическим буллёзным эпидермолизом из 6 обследованных (из них 3 больных и 2 облигатные гетерозиготы) всего выявлено 5 случаев полиморфизма по 1-й и 15-й хромосомам, что в совокупности с результатами хро-

мосомной нестабильности позволяет заключить следующее. Мутации генов, определяющих структурные белки клеток, которые вызывают системные изменения регуляции процессов в клетке и приводят к нарушению митотической активности клеток, структуры, процесса расхождения хромосом при генодерматозах, могут быть причиной общей геномной нестабильности при буллёзном эпидермолизе, а больные формируют группу риска по моногенным заболеваниям, проявляющимся хромосомной нестабильностью.

### Литература

1. Суворова К.Н. Наследственные дерматозы / К.Н. Суворова, А.А. Антоньев. – М.: Медицина, 1977. – 232 с.
2. Рыжко П.П. Генодерматозы: буллезный эпидермолиз, ихтиоз, псориаз / П.П. Рыжко, А.М. Федота, В.М. Воронцов. – Харьков, 2004. – 330 с.
3. Генетическое исследование рецессивного буллезного эпидермолиза в Харькове / П.П. Рыжко, В.М. Воронов, А.М. Федота, Т. Фалик-Закай // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. – 2008. – № 4. – С. 63–66.
4. Jarvikallio A. Molecular basis of dystrophic epidermolysis bullosa: mutations in the type VII collagen gene (COL7A1) / A. Jarvikallio, L. Pulkkinen, J. Uitto // Hum. Mutat. – 1997. – № 10. – P. 338–347.
5. Characterization of 18 new mutations in COL7A1 in recessive dystrophic epidermolysis bullosa provides evidence for distinct molecular mechanisms underlying defective anchoring fibril formation / A. Hovnanian, A. Rochat, C. Bodemer et al. // Am. J. Hum. Genet. – 1997. – № 61. – P. 599–610.
6. Pfindner E.G. Epidermolysis bullosa simplex: recurrent and de novo mutations in the KRT5 and KRT14 genes, phenotype/genotype correlations, and implications for genetic counseling and prenatal diagnosis / E.G. Pfindner, S.G. Sadowski, J. Uitto // J. Invest. Derm. – 2005. – № 125. – P. 239–243.
7. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике; под. ред. В.П. Пузырева, А.Б. Масленникова. – Вып. 7. – Новосибирск: Альта Виста, 2005. – 240 с.
8. Особливості спектра цитогенетичних змін при різних варіантах мієлодиспластичного синдрому / М.Р. Лозинська, Я.І. Виговська, Н.Я. Томашевська та ін. // Цитология и генетика. – 2009. – № 1. – С. 69–77.
9. Лук'янова А.С. Комплексні цитогенетичні аномалії при хронічній мієлоїдній лейкемії: опис випадку / А.С. Лук'янова, Б. Пеньковська-Греля, З.В. Масляк // Цитология и генетика. – 2009. – № 3. – С. 48–54.

10. Epidermolysis bullosa. II. Type VII collagen mutations and phenotype-genotype correlations in the dystrophic subtypes / R. Varki, S. Sadowski, J. Uitto, E. Pfendner // *Med. Genet.* – 2007. – № 44 (3). – P. 181–192.
11. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. реком. – К., 2003. – 24 с.
12. ISCN 2005. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature / Ed. F. Mitelman. – Basel, 2005. – 128 p.
13. *Armitage P.* Statistical Methods in Medical Research. – 3rd ed. / P. Armitage, G. Berry. – Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. – 620 p.
14. *Атраментова Л.О.* Статистичні методи в біології / Л.О. Атраментова, О.М. Утєвська. – Харків, 2007. – 288 с.
15. База данных для количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Н.П. Бочков, А.Н. Чеботарев, Л.Д. Катосова, В.И. Платонова // *Генетика.* – 2001. – Т. 37, № 4. – С. 549–557.
16. Роль цитогенетических исследований в дифференциальной диагностике врожденной и наследственной патологии / Т.М. Ткачева, А.В. Христин, Л.С. Озерова и др. // *Ультразвуковая перинатальная диагностика.* – 2003. – № 16. – С. 82–97.
17. Хромосомы человека / А.Ф. Захарова, В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, Л.И. Барановская. – М.: Медицина, 1982. – 264 с.
18. *Багацкая Н.В.* Результаты цитогенетического анализа у мальчиков- подростков с ретардацией полового созревания / Н.В. Багацкая // Тези II Конгресу Української асоціації спеціалістів УЗД в перинатології, генетиці та гінекології. – Харків, 2000. – С. 233–234.
19. Цитогенетичний ефект в групі осіб з дисліпопротеїнеміями, перехворівших на гостру променеви хворобу внаслідок чорнобильської аварії / В.В. Талько, М.А. Пілінська, О.М. Коваленко та ін. // Зб. наук. праць «Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології». – 2007. – Т. 1. – С. 525–529.
20. A frequent functional SNP in the MMP1 promoter is associated with higher disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa / M. Titeux, V. Pendaries, L. Tonasso et al. // *Hum Mutat.* – 2008. – № 29 (2). – P. 267–276.
21. Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes / E. Maumon, R. Romero, P. Racora. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2000. – № 183 (4). – P. 914–920.

*О.М. Федота, Т.М. Ткачева*

#### ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ БУЛЬОЗНОГО ЕПІДЕРМОЛІЗУ

Представлені результати цитогенетичного аналізу 9 хворих і їхніх родичів на такий моногенний дерматоз, як бульозний епідермоліз. У пацієнтів на простий бульозний епідермоліз (Weber–Cockayne type) і дистрофічний рецесивний бульозний епідермоліз (Hallopeau–Siemens type) знайдено гетерохроматинові поліморфізми 1qgh+, 15ps+ і відмічено високий рівень хромосомної нестабільності (1–18 %). Аналізуються причини загальної геномної нестабільності хворих на різні форми бульозного епідермолізу, які також можна віднести до моногенних захворювань з хромосомною нестабільністю.

**Ключові слова:** генодерматози, бульозний епідермоліз, цитогенетичний аналіз, хромосомна нестабільність.

*А.М. Fedota, Т.М. Tkacheva*

#### CYTOGENETIC ANALYSIS OF EPIDERMOLYSIS BULLOSA

In this article is presented a result of cytogenetic analysis of 9 patients and relatives with such monogenic dermatose as epidermolysis bullosa. Our studies of patients with epidermolysis bullosa simplex (Weber–Cockayne type) and epidermolysis bullosa recessive dystrophic (Hallopeau–Siemens type) allowed us to identify polymorphisms such as 1qgh+, 15ps+ and find a high level of chromosome instability (1–18 %). These cases compared with publications of the same results. Our data suggested that detected changes can be correlated with mutations of such genes and the influence of these changes on development of diseases is discussed.

**Key words:** genodermatosis, epidermolysis bullosa, cytogenetic analysis, chromosome instability.

*Поступила 15.06.10*

УДК 616-001.4:576.8: 615.33

*Н.Ю. Лебедева***ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СТАФИЛОКОККОВ,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАН, К АНТИБИОТИКАМ***Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького*

С целью определения чувствительности и резистентности к 18 антибиотикам проанализированы антибиотикограммы 57 штаммов *S. aureus*, 14 – *S. epidermidis* и 5 штаммов *S. saprophyticus*, выделенных из гнойных ран. Определена низкая чувствительность штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* к оксациллину, высокая – к цефалотину, цефоперазону, цефотаксиму, а также к фторхинолонам (пемфлосацину, норфлоксацину, офлоксацину и левофлоксацину). Чувствительность к цефазолину, цефтриаксону, линкомицину, эритромицину, ципрофлоксацину у всех видов стафилококков одинакова. У *S. epidermidis* чувствительность к фторхинолонам ниже, чем у *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

**Ключевые слова:** раны, стафилококки, антибиотики.

Стафилококки широко распространены в организме человека. Занимая различные экологические ниши, они являются составной частью нормальной микрофлоры (ротовая полость, зев, нос, кожные покровы). При создании неблагоприятных условий для макроорганизма стафилококки выступают в роли возбудителей воспаления (преимущественно *S. aureus*). Высеваются стафилококки также из отделяемого ран в роли транзитных микроорганизмов или возбудителей гнойного воспаления. Существует возможность инфицирования ран из внешней среды, а также путём транслокации аутофлоры из кишечника и других локальных источников к месту травмы [1, 2]. Преобладающими компонентами микробиоценозов ран являются *S. aureus* и коагулазонегативные стафилококки, в основном *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* [1, 3, 4]. Наличие микробов в ране на фоне массивной травмы мягких и костной тканей, нарушения гомеостаза пострадавшего являются важнейшими факторами и пусковым механизмом гнойного процесса [1, 3]. Их наличие обуславливает особенности данной экологической ниши, которой являются раны, отличающие её от других и, возможно, влияющие на свойства микроорганизмов.

Цель работы состояла в определении особенностей чувствительности и резистентности стафилококков трёх основных видов, выделенных из отделяемого гнойных

ран, к антибиотикам различных групп (бета-лактамам, аминогликозидам, макролидам, линкозаминам, фторхинолонам).

**Материал и методы.** Проанализировано отношение к антибиотикам 76 штаммов стафилококков, выделенных из ран больных с посттравматическим остеомиелитом и нагноением ран. Из них 57 штаммов бактерий идентифицированы как *S. aureus*, 14 – *S. epidermidis*, 5 штаммов – *S. saprophyticus*. Идентификация видов проведена общепринятыми методами [1, 2, 5]. Чувствительность стафилококков к антибиотикам определена диск-диффузионным методом с использованием стандартных дисков на среде Мюллера–Хинтона [2, 6]. Исследованы диски с антибиотиками: бензилпенициллином, оксациллином, цефазолином, цефалотином, цефоперазоном, цефтриаксоном, цефотаксимом, гентамицином, канамицином, тетрациклином, доксициклином, эритромицином, пемфлосацином, норфлоксацином, ципрофлоксацином, офлоксацином, левофлоксацином. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики по Стьюденту [7].

**Результаты и их обсуждение.** При исследовании чувствительных к антибиотикам стафилококков, выделенных из ран, определено, что к бензилпенициллину были чувствительны только 25,0 % *S. aureus* и 50,0 % *S. epidermidis*, к оксациллину – 54,4 % *S. aureus* и 45,4 % *S. epidermidis*. И только среди *S. saprophyticus* чувствитель-

© Н.Ю. Лебедева.

ность к пенициллину проявляли 80,0 %  
выделенных штаммов (таблица).

Преимущественное большинство выде-  
ленных штаммов стафилококков было

*Сведения о количестве чувствительных и устойчивых к антибиотикам штаммов  
стафилококков, выделенных из ран*

Антибиотик	Отношение к антибио- тикам	<i>S. aureus</i> (а)			<i>S. epidermidis</i> (б)			<i>S. saprophyticus</i> (в)			p≤0,05
		N	n	%	N	n	%	N	n	%	
Бензилпени- циллин	Ч	24	6	25,0±8,8	4	2	50,0±25,0	2	0	0	0
	У		18	75,0±8,8		2	50,0±25,0		2	100±0	0
Оксациллин	Ч	65	31	54,4±6,6	11	5	45,4±15,0	5	4	80,0±17,9	0
	У		34	45,6±6,6		6	54,6±15,0		1	20,0±17,9	0
Цефазолин	Ч	61	35	57,4±6,3	12	6	50,0±14,4	5	3	60,0±21,9	0
	У		26	42,6±6,3		6	50,0±14,4		2	40,0±21,9	0
Цефалотин	Ч	48	46	95,8±2,9	11	6	54,6±15,0	4	4	100±0	аб,бв
	У		2	4,2±2,9		5	45,4±15,0		0	0	аб,бв
Цефопера- зон	Ч	18	16	88,9±7,4	1	1	100±0	1	1	100±0	0
	У		2	11,1±7,4		0	0		0	0	0
Цефотаксим	Ч	57	34	59,6±6,5	14	7	50,0±13,4	5	4	80,0±17,9	0
	У		23	40,4±6,5		7	50,0±13,4		1	20,0±17,9	0
Гентамицин	Ч	57	46	80,7±5,3	14	11	78,6±11,0	5	5	100±0	0
	У		11	19,3±5,3		3	21,4±11,0		0	0	0
Канамицин	Ч	32	24	75,0±7,6	12	6	50,0±14,4	5	3	60,0±21,9	0
	У		8	25,0±7,6		6	50,0±14,4		2	40,0±21,9	0
Цефтриак- сон	Ч	19	16	84,2±8,4	0	0	0	1	1	100±0	0
	У		3	15,8±8,4		0	0		0	0	0
Тетрацик- лин	Ч	57	44	77,2±5,6	14	9	64,3±12,8	5	3	60,0±21,9	0
	У		13	22,8±5,6		5	35,7±12,8		2	40,0±21,9	0
Доксицик- лин	Ч	57	43	75,4±5,7	14	11	78,6±11,0	4	2	50,0±25,0	0
	У		14	24,6±5,7		3	21,4±11,0		2	50,0±25,0	0
Эритроми- цин	Ч	57	38	66,7±6,2	14	8	57,1±13,2	5	1	20,0±17,9	0
	У		19	33,3±6,2		6	42,8±13,2		4	80,0±17,9	0
Линкоми- цин	Ч	35	18	51,4±8,4	14	7	50,0±13,4	5	3	60,0±21,9	0
	У		17	48,6±8,4		7	50,0±13,4		2	40,0±21,9	0
Пефлокса- цин	Ч	37	29	78,4±6,8	5	2	40,0±21,9	3	3	100±0	ав,бв
	У		8	21,6±6,8		3	60,0±21,9		0	0	ав,бв
Норфлокса- цин	Ч	45	33	73,3±6,6	14	6	42,8±13,2	5	4	80,0±17,9	аб
	У		12	26,7±6,6		8	57,1±13,2		1	20,0±17,9	аб
Ципрофло- ксацин	Ч	54	35	64,8±6,5	14	8	57,1±13,2	5	3	60,0±21,9	0
	У		19	35,2±6,5		6	42,9±13,2		2	40,0±21,9	0
Офлокса- цин	Ч	50	37	74,0±6,2	13	8	61,5±13,5	5	4	80,0±17,9	0
	У		13	26,0±6,2		5	38,5±13,5		1	20,0±17,9	0
Левовфло- ксацин	Ч	48	37	77,1±6,1	12	7	58,3±14,2	3	3	100±0	0
	У		11	22,9±6,1		5	41,7±14,2		0	0	0

Примечание. Ч – чувствительность; У – устойчивый.

чувствительно к цефалоспорином I и II поколений – цефалотину, цефоперазону, цефотаксиму. В большей степени высокими показателями отличались *S. aureus* (84,2–95,5 %). Эффективность цефалотина в отношении *S. aureus* и *S. saprophyticus* была статистически достоверно ( $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,05$ ) выше, чем в отношении *S. epidermidis*. К цефазолину и цефтриаксону чувствительность всех видов стафилококков без существенных групповых различий преимущественно была на уровнях 50,0–60,0 %.

Определена высокая эффективность антибиотиков аминогликозидов. К гентамицину были чувствительны от 78,6 до 100,0 % выделенных штаммов стафилококков. К канамицину на этом уровне (75,0 %) проявляли чувствительность *S. aureus*, а чувствительных штаммов *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* было только 50,0–60,0 %. К антибиотикам тетрациклинового ряда были чувствительны большинство штаммов *S. aureus* (75,4–77,2 %). 78,6 % штаммов *S. epidermidis* были чувствительны к доксициклину. В остальном *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* были чувствительны к тетрациклинам в 50,0–60,0 % случаев. К эритромицину были чувствительны 66,7 % штаммов *S. aureus*, 57,1 % *S. epidermidis* и только 20,0 % ( $p \leq 0,05$ ) *S. saprophyticus*.

Количество чувствительных штаммов всех видов стафилококков к линкомицину варьировало в пределах 50,0–60,0 %. Преимущественное большинство штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus* были чувствительны к исследованным фторхинолонам. Так, к пефлоксацину были чувствительны 78,4 % *S. aureus* и 100,0 % *S. saprophyticus*, к норфлоксацину – соответственно 73,3 и 80,0 %, к левофлоксацину – 77,1 и 100,0 %.

Несколько меньше было чувствительных штаммов к ципрофлоксацину (64,8 и 60,0 %). Количество чувствительных к фторхинолонам штаммов *S. epidermidis* варьировало от 61,5 % (к офлоксацину) до 40,0 % (к пефлоксацину). При этом статистически значимые различия выявлены в чувствительности к пефлоксацину у *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*, а также к норфлоксацину у *S. epidermidis* и *S. aureus*.

Таким образом, отношение к антибиотикам стафилококков разных видов, выделенных из ран, было неоднозначным. Так, определены низкие проценты чувствительности штаммов стафилококков к пеницилинам и, в частности, к оксациллину как аналогу метициллина, несущему информа-

цию о метициллинчувствительности и метициллинрезистентности [3]. Между тем *in vitro* количество резистентных штаммов стафилококков к цефазолину и цефтриаксону было приблизительно равным количеству резистентных штаммов стафилококков к оксациллину. К другим цефалоспорином в отличие от оксациллина чувствительность определена у большего числа штаммов. С учётом различий в показателях эффективности *in vitro* и *in vivo* цефалоспоринов у метициллинрезистентных стафилококков [2] надо соответственно оценивать и полученные нами данные. Показатели чувствительности *in vitro* у *S. aureus* к цефалотину, цефоперазону и цефотаксиму являются явно завышенными. Напротив, эффективность цефалоспоринов против *S. saprophyticus* и *S. epidermidis*, по-видимому, является истинной, так как уровень чувствительности их к оксациллину высок у первого и примерно соответствует уровню у *S. epidermidis*.

Выявлена высокая чувствительность всех видов стафилококков к гентамицину, а также *S. aureus* к канамицину, тетрациклину и доксициклину.

Высокий процент штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus* (57,1–64,8 %) обладают чувствительностью к фторхинолонам пефлоксацину, норфлоксацину, левофлоксацину на удовлетворительном уровне. Определена чувствительность к ципрофлоксацину всех видов стафилококков, а также *S. epidermidis* ко всем фторхинолонам (40,0–61,5 %). Данные работы показали тенденцию к снижению чувствительности к фторхинолонам у штаммов *S. epidermidis* по сравнению с чувствительностью к ним штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

#### Выводы

1. Определена низкая чувствительность к оксациллину штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

2. Высокая чувствительность к цефалотину, цефоперазону и цефотаксиму получена *in vitro* у штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

3. Фторхинолоны пефлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, левофлоксацин оказались высокоэффективными в отношении *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

4. К антибиотикам цефазолину, цефтриаксону, линкомицину, эритромицину, ципрофлоксацину чувствительность всех видов стафилококков одинакова.

5. Чувствительность *S. epidermidis* к фторхинолонам ниже, чем чувствительность к ним *S. aureus* и *S. saprophyticus*.

### Литература

1. Микробиологический спектр условно-патогенных бактерий – возбудителей посттравматических остеомиелитов / И.С. Гайдаш, В.В. Флегонтова, С.В. Бирюкова и др. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. – № 2. – С. 89–92.
2. Практические аспекты современной клинической микробиологии / Л.З. Скала, С.В. Сидоренко, С.В. Нехорошева и др. – М., 2004. – 310 с.
3. Шапіро А.В. Антибіотики та їх дія на збудників опортуністичних інфекцій / А.В. Шапіро, О.В. Покас // Лаб. діагностика. – 2002. – № 3. – С. 23–28.
4. Микробиологическая диагностика раневой инфекции у пострадавших с открытыми переломами костей голени / В.Т. Шевченко, А.К. Рушай, В.Ю. Борисов и др. // Лаб. диагностика. – 2006. – № 2 (36). – С. 62–65.
5. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. Приказ № 535 МЗ СССР. – М., 1985. – 136 с.
6. Авдеева Л.В. Методические подходы к определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам / Л.В. Авдеева, Е.И. Полищук, Е.В. Покас // Лаб. диагностика. – 2005. – № 3 (33). – С. 35–40.
7. Основы компьютерной биостатистики / Ю.Е. Лях, В.Г. Гурьянов., В.Н. Хоменко, О.А. Панченко. – Донецк: Изд. Е.К. Папакица, 2006. – 214 с.

### Н.Ю. Лебедєва

#### ЧУТЛИВІСТЬ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ РАН, ДО АНТИБІОТИКІВ

З метою визначення особливостей чутливості і резистентності до 18 антибіотиків були проаналізовані антибіотикограми 57 штамів *S. aureus*, 14 *S. epidermidis* та 5 штамів – *S. saprophyticus*, виділених із гнійних ран. Визначені низькі відсотки чутливих штамів *S. aureus* і *S. epidermidis* до оксациліну, високі – до цефалотину, цефоперазону, цефотаксиму, а також до фторхінолонів (пєфлосаціну, норфлосаціну, офлосаціну і лєвофлосаціну). Чутливість до цефазоліну, цефтріаксону, лінкоміцину, еритроміцину, ципрофлосаціну усіх видів стафілококів була однаковою. У *S. epidermidis* чутливість до фторхінолонів виявилася нижчою, ніж у *S. aureus* і *S. saprophyticus*.

**Ключові слова:** рани, стафілококи, антибіотики.

### N.Yu. Lebedeva

#### SENSITIVENESS OF THE STAPHYLOCOCCI, WHICH WAS ISOLATED FROM THE WOUNDS, TO ANTIBIOTICS

The sensitiveness of the 57 strains *S. aureus*, 14 strains *S. epidermidis* and 5 strains *S. saprophyticus* was analysed to 18 antibiotics. Staphylococci was isolated from purulent wounds of the patients with different traumas. Low percentages of sensitive strains *S. aureus* and *S. epidermidis* to oxacillin, higher percentages to cephalotine, cephaloperazone, cefotaxime, perfloxacin, norfloxacin, ofloxacin and levofloxacin was determined. Sensitiveness of the all species staphylococci was identical to cephalazolin, cephtriaxon, lincomycin, erythromycin and cyprofloxacin. Sensitiveness to fluorochinolon of the *S. epidermidis* was lower than *S. aureus* and *S. saprophyticus*.

**Key words:** wounds, staphylococci, antibiotics.

Поступила 22.10.09

УДК 61:340.6:615.9:615.015.9:599.323.4:616-092.4

*О.В. Беловицкий*

## СУДЕБНО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОРФИНА И КОМБИНАЦИИ ЭТАНОЛ–МОРФИН В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ НАХОЖДЕНИЯ ТРУПА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь*

Выявляли содержание морфина и комбинации морфина и алкоголя в органах и тканях трупов экспериментальных крыс в результате воздействия факторов внешней среды: относительно высокой температуры (гниение), относительно низкой температуры (-2 ... -1 °С), пребывания в смешанном грунте, методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выявлена связь обнаружения морфина с температурой окружающей среды и воздействием специфической микрофлоры и энтомофауны.

**Ключевые слова:** *судебно-медицинская экспертиза, эксперимент, алкоголь, морфин, лабораторные методы исследования.*

Изучение проблемы употребления психоактивных веществ является актуальным научным направлением в связи с резким ростом количества наркоманов и алкоголиков во всём мире, распространением употребления наркотиков и алкоголя среди подростков [1, 2].

Диагностика алкогольно-наркотической интоксикации у живых лиц в настоящее время не вызывает трудностей вследствие широкого выбора представляемого материала, кроме того, основная масса опубликованных и используемых методик анализа на наркотические вещества, в частности на наиболее употребляемые из них опиоиды, касается мочи и плазмы (сыворотки) крови живых лиц [3]. Затруднения возникают при судебно-токсикологическом исследовании объектов от трупов с длительной давностью наступления смерти и пребывавших в различных условиях внешней среды [3–5].

В доступной литературе информации об изменении содержания этилового спирта и морфина в органах и тканях трупа в результате воздействия факторов внешней среды мало [5]. Не разработаны вопросы судебно-медицинской диагностики в случаях посмертных изменений трупа, в частности при гниении даже на его начальных этапах, а также при замерзании (оледенении) трупов [6].

В связи со сказанным целью исследования явилось обнаружение морфина и комбинации морфина и алкоголя в органах и тканях трупов экспериментальных крыс в результате воздействия факторов внешней среды: относительно высокой температуры (гниение), относительно низкой температуры (-2 ... -1 °С), пребывания в смешанном грунте.

**Материал и методы.** Материалом исследования служили 54 половозрелые крысы (самцы) линии Вистар массой 150–180 г. Эксперимент состоял из трёх серий наблюдений по 18 животных в каждой. В каждой серии было по три группы крыс по 6 шт. в каждой: с изолированным введением морфина, с комбинированной морфинно-алкогольной интоксикацией и контрольная. Животным внутрибрюшинно вводили 1% -ный раствор морфина гидрохлорида изолированно и в комбинации с внутрижелудочным введением 40% -ного этанола в смертельных дозах согласно методическим рекомендациям [7, 8]. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную и водопроводную воду внутрибрюшинно и внутрижелудочно соответственно. Крыс выводили из опыта декапитацией при помощи гильотины. Эксперименты на животных проводили в строгом соответствии с этическими принци-

© *О.В. Беловицкий.*

пами, утверждёнными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001), что согласуется с положением «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1986).

Известен факт, что замораживание при  $-18 \dots -20 \text{ }^\circ\text{C}$  способствует сохранению опиатов [9], поэтому для создания условий оледенения (1-я серия опыта) использовали относительно небольшие отрицательные цифры –  $-2 \dots -1 \text{ }^\circ\text{C}$ , учитывая, что подобные условия встречаются в нашей стране часто. Срок проведения эксперимента – 1,5 мес. Контроль температуры в холодильной камере, где находились трупы крыс, проводили двумя термометрами.

Во 2-й серии опыта (воздействие относительно высокой температуры) моделировались гнилостные изменения – трупы подопытных животных пребывали в цокольном помещении бетонного многоэтажного здания с открытыми окнами и доступом мух в течение 10 дней. Температура днём достигала  $+40 \text{ }^\circ\text{C}$ , контроль проводился двумя термометрами.

В 3-й серии (пребывание в грунте) экспериментальных животных погребали в парковой зоне между лиственными деревьями на глубину 0,5 м в смешанный грунт (глина, песок, земля) на 22 дня. Температура окружающей среды в эти дни достигала  $+25 \text{ }^\circ\text{C}$ , выпадали незначительные осадки.

После изъятия биоматериала проводили газовую хроматографию, тонкослойную хроматографию на пластинах «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ (Россия, Краснодар) в судебно-токсикологическом отделении КРУ «Бюро судебно-медицинской экспертизы». Использовали также высокоэффективный метод жидкостной хроматографии высокого давления (ВЭЖХ). Количественное определение проводили на хроматографе Prostar фирмы Varian (США), с градиентной системой высокого давления Prostar 210, спектрофотометрическим детектором Prostar 325, ручным инжектором с объёмом дозирующей петли 20 мкл. Хроматограммы (стандартный раствор морфина 0,001 %) обрабатывали с помощью программы Galaxie 1.9. Для анализа использовали колонку из нержавеющей стали Microsorb 100 C18 длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, размером частиц сорбента 5 мкм. Колонку термостатировали при  $+40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Детектирование проводили при длине волны 285 нм в изократическом режиме при скорости

1 мл/мин. Соотношение подвижных фаз  $A : B = 20 : 80$ , где А – ацетонитрил, В – вода + 0,1 % трифторуксусная кислота, рН 2,58.

**Результаты и их обсуждение.** При исследовании трупов животных 1-й серии, находящиеся в холодильной камере, выявлена следующая секционно-морфологическая картина: животы у крыс слегка вздуты, трупы холодные на ощупь, трупные пятна частично контурировались через шерстяной покров, выявлялись выраженные участки пергаментации в естественных отверстиях и резкое ограничение подвижности в суставах. При вскрытии в полостях и во внутренних органах определялись кристаллики льда. Внутренние органы были сохранены, гнилостных изменений и запаха не отмечалось.

Для судебно-токсикологического исследования у каждой крысы были изъятые: (1) головной мозг; (2) сердце, лёгкие, селезёнка; (3) печень; (4) почки; (5) желудок с содержимым; (6) яички; (7) поясничные и ягодичные мышцы. При проведении тонкослойной хроматографии во всех объектах обнаружен морфин.

Результаты, полученные при проведении ВЭЖХ, представлены в таблице.

Как видно из данных таблицы, при моделировании заморзания повышенное содержание морфина отмечается в группе изолированной интоксикации. Методом газовой хроматографии выявлено содержание этилового спирта в количестве от 0,65 до 0,76 ‰ в яичках и мышцах.

Во 2-й серии (гниение) при макроскопическом исследовании наблюдались выраженные гнилостные изменения в виде серозелёного цвета кожных покровов, участков выпадения шерсти; гнилостных фликтен; наличия множества белесоватых личинок (1,5–2,0 см); резкого гнилостного запаха. Внутренние органы представляли серозелёный конгломерат, подверженный гнилостной деструкции.

Для судебно-токсикологического исследования у каждой крысы были изъятые: (1) относительно сохранённые части толстого и тонкого кишечника, желудок; (2) фрагменты сердца, лёгких, бронхов; (3) остатки почек, яичек, мочевого пузыря; (4) мягкие ткани – мышцы, кожа.

При проведении тонкослойной хроматографии морфин был обнаружен только в группе комбинированной интоксикации.

Повышенное содержание морфина в группе комбинированной интоксикации при моделировании гниения отмечается в

*Концентрация морфина во внутренних органах крыс (n=6) при различных вариантах интоксикации, (M±m) мкг/мл*

Серия, маркировка, объект	Концентрация морфина при комбинированной интоксикации	Серия, маркировка, объект	Концентрация морфина при изолированной интоксикации
<i>Моделирование замерзания</i>			
3k1	20±2	4m1	72±4
3k2	184±4	4m2	244±3
3k3	428±3	4m3	567±4
3k4	84±5	4m4	205±5
3k5	628±8	4m5	1125±12
3k6	21±3	4m6	100±5
3k7	257±2	4m7	507±6
<i>Моделирование гниения</i>			
1K1	1280±14	2M1	320±5
1K2	860±8	2M2	270±2
1K3	270±4	2M3	270±4
1K4	220±3	2M4	270±2
<i>Пребывание в смешанном грунте</i>			
5k1	52±2	6m1	66±3
5k2	139±4	6m2	165±6
5k3	191±4	6m3	180±6

органах желудочно-кишечного тракта, а также в сердце, лёгких (таблица). Методом газовой хроматографии содержание этилового спирта не выявлено.

При исследовании трупов животных 3-й серии эксперимента (пребывание в смешанном грунте) макроскопически были выявлены малочисленные костные останки с участками шерсти; фрагменты гнилостно изменённых, частично мумифицированных мягких тканей; множество некробионтов (жуки-мертвояды, жуки-кожееды, личинки и др.). Ощущался умеренный гнилостный запах.

Для судебно-токсикологического исследования были изъяты: (1) фрагменты мягких тканей с области головы; (2) фрагменты мягких тканей с грудной области; (3) фрагменты мягких тканей с брюшной области.

При проведении тонкослойной хроматографии морфин был обнаружен во всех объектах, кроме мягких тканей области головы в группе изолированной интоксикации. Содержание морфина во всех объектах исследования было относительно одинаковым. Методом газовой хроматографии содержание этилового спирта не выявлено.

Таким образом, при помощи ВЭЖХ морфин определялся во всех группах наблюде-

ний (кроме контрольной) трёх серий эксперимента. Кроме того, можно проследить прямую связь между обнаружением морфина при помощи тонкослойной хроматографии и повышением температуры окружающей среды, что, несомненно, является следствием действия специфической микрофлоры и энтомофауны при гниении трупа. Обнаружение морфина методом тонкослойной хроматографии в группах с комбинированной интоксикацией (серия с моделированием гниения и частично серия с пребыванием трупов в грунте) можно объяснить асептическими и фиксирующими тканевые структуры свойствами этилового спирта. Кроме того, необходимо учитывать ферментную активность при аутолизе.

Слабая чувствительность метода газовой хроматографии, вероятно, связана с недостаточным количеством биоматериала.

Для судебно-медицинской экспертизы важным является решение вопроса о наличии прижизненной алкогольно-наркотической интоксикации, а знание сроков вероятного сохранения этих веществ в трупе при воздействии различных факторов внешней среды с учётом результатов чувствительных методов токсикологического анализа, в

частности ВЭЖХ, должно значительно ускорить решение этой задачи.

#### Выводы

1. При воздействии факторов внешней среды на трупы экспериментальных крыс морфин обнаруживался при помощи тонкослойной хроматографии в серии с моделированием заморозки и частично в серии, когда трупы пребывали в смешанном грунте, как при комбинированном с алкоголем, так и при изолированном введении.

#### Литература

1. *Иванец Н.Н.* Наркология: национальное руководство / Н.Н. Иванец, И.П. Анохина, М.А. Ванникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
2. *Appenzeller В.М.* Drugs and chronic alcohol abuse in drivers / В.М. Appenzeller, S. Schneider, M. Yegles et al. // *Forensic Sci Int.* – 2005. – V. 155, № 2–3. – P. 83–90.
3. *Саломатин Е.М.* Судебно-химическое определение алкалоидов опия в биологических жидкостях человека / Е.М. Саломатин, Н.А. Гобачева, А.М. Орлова // Матер. итоговой научн. конф. Рос. центра суд.-мед. экспертизы (17–18 ноября 2005 г., Москва). – М.: ИНФРА-М, 2006. – С. 77–82.
4. *Асташкина О.Г.* Исследование биохимических показателей трупного материала при наркотических интоксикациях / О.Г. Асташкина // *Проблемы экспертизы в медицине.* – 2004. – № 3. – С. 23–25.
5. Determination of morphine in postmortem rabbit bone marrow and comparison with blood morphine concentrations / S. Cengiz, O. Ulukan, I. Ates, H. Tugcu // *Forensic Sci Int.* – 2006. – V. 156, № 2–3. – P. 91–94.
6. *Капустин А.В.* Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы острых и хронических интоксикаций алкоголем / А.В. Капустин, О.А. Панфиленко, В.Г. Серебрякова // Матер. итоговой научн. конф. Рос. центра суд.-мед. экспертизы (17–18 ноября 2005 г., Москва). – М.: ИНФРА-М, 2006. – С. 85–87.
7. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте: Метод. рекомендации; под ред. проф., акад. РАМН П.И. Сидорова. – Архангельск, 2002. – 15 с.
8. *Судаков С.К.* Индивидуальная предрасположенность к опийной наркомании. Экспериментальные исследования. – М.: Изд. Дом «Нарконет», 2002. – 96 с.
9. Об обнаружении морфина, кодеина и диацетилморфина (героина) при судебно-химическом исследовании трупной желчи: информ. письмо / ФГУ РЦ СМЭ Росздрава. – М., 2008. – 22 с.

#### *О.В. Біловицький*

#### СУДОВО-ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МОРФІНУ І КОМБІНАЦІЇ ЕТАНОЛ–МОРФІН В БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗНАХОДЖЕННЯ ТРУПА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТВАРИНИ

Виявляли вміст морфіну і комбінації морфіну й алкоголю в органах і тканинах трупів експериментальних шурів за умови дії чинників зовнішнього середовища: відносно високої температури (гниття), відносно низької температури (-2 ... -1 °С), перебування в змішаному ґрунті, методами тонкошарової і вискоєфективної рідинної хроматографії. Виявлено зв'язок визначення морфіну із температурою навколишнього середовища і дією специфічної мікрофлори і ентомофауни.

**Ключові слова:** *судово-медична експертиза, експеримент, алкоголь, морфін, лабораторні методи дослідження.*

#### *O.V. Belovitskiy*

#### FORENSIC TOXICOLOGICAL DEFINITION OF MORPHINE AND MORPHINE–ETHANOL COMBINATION IN BIOLOGICAL OBJECTS UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF EMPLACEMENT CORPSE OF EXPERIMENTAL ANIMAL

It has been revealed the level of morphine and morphine-alcohol combination in the organs and tissues of dead experimental rats due to action of environmental factors: a relatively high temperature (putrefaction), a relatively low temperature (-2...-1 °C), emplacement in a mixed ground, by means of methods the thin-layer and highly effective liquid chromatography. A connection of the morphine detection with environmental temperature and action of specific microflora and insect fauna was identified.

**Key words:** *forensic-medical examination, experiment, alcohol, morphine, laboratory research methods.*

*Поступила 31.05.10*

УДК 616.314.17-008.1-031.81-092-07:612.017.1

*И.Е. Сергеева*

## ПОКАЗАТЕЛИ Т-КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

*Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев*

Реализация функций Т-лимфоцитов, экспрессия CD4, CD8, CD25 и медиаторов воспаления ИЛ-1, ИЛ-2 в биологических средах полости рта характеризуют механизмы активации локального иммунного ответа у больных генерализованным пародонтитом. Соотношение между цитотоксичностью и синтезом цитокинов сказывается на разном уровне в регуляции функции CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в различных фазах иммунного ответа течения генерализованного пародонтита.

**Ключевые слова:** генерализованный пародонтит, Т-клеточная регуляция локального иммунного ответа.

При изучении дифференцировки иммунокомпетентных клеток и механизмов межклеточного взаимодействия в ходе формирования как клеточного, так и гуморального ответа особое внимание уделяется цитокинам. Обладая полифункциональными свойствами, они участвуют во всех этапах регуляции иммунного ответа – пролиферации и дифференцировке клеток-предшественников функционально активных клеток, презентации антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитов, пролиферации антиген-чувствительных лимфоцитов, дифференцировке лимфоцитов до зрелых эффекторов и т. д. [1–3].

Экспериментально установлено, что одним из основных факторов, обеспечивающих пролиферацию лимфоцитов, является ИЛ-1, который синтезируется макрофагами, моноцитами, Т- и В-лимфоцитами, НК-клетками, нейтрофилами, фибробластами и др. Однако покоящиеся клетки практически не продуцируют цитокин. Биологическая активность ИЛ-1 появляется после активации клеток различными индукторами – компонентами клеточной стенки бактерий (ЛПС, пептидогликаны), стимуляторами фагоцитоза, компонентами иммунной системы (другие цитокины), химическими соединениями, физическими факторами. Одно из наиболее существенных свойств ИЛ – это стимуляция пролифера-

ции антиген-чувствительных Т-лимфоцитов. Однако сам по себе ИЛ-1 не является фактором роста для Т-лимфоцитов. Механизм его действия заключается в индукции синтеза ИЛ-2, ИЛ-4, секретируемого Т-хелперами. Кроме того, ИЛ-1 усиливает экспрессию рецепторов к ИЛ-2, что создаёт условия для аутокринной регуляции пролиферации Т-хелперов.

В стоматологии достаточно много работ посвящено содержанию провоспалительных цитокинов [2, 4–7]. В то же время вопросы определения антигена CD25, который воздействует на активированные Т-, В-клетки, моноциты и образует комплексы с НК, при заболеваниях пародонта освещены недостаточно.

Целью настоящего исследования явилось изучение содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-2 и синтеза CD25 в биологических средах полости рта у больных генерализованным пародонтитом (ГП) для определения активации и дифференциации Т-клеточного иммунного ответа.

**Материал и методы.** Обследовано 147 больных ГП I–II степени хронического и обострившегося течения (классификация болезней пародонта проф. Н.Ф. Данилевского, 1994) в возрасте 20–50 лет и 24 человека контрольной группы. Диагноз ГП устанавливали на основании клинических данных, определения индексов гигиены, пародон-

© *И.Е. Сергеева.*

тальных индексов, данных компьютерной ортопантомографии, лабораторных методов обследования и специальных иммунологических методов. Иммунологические показатели определяли в разных биологических и физиологических средах больных ГП: в смешанной ротовой жидкости (СРЖ, надосадочная фракция, после центрифугирования), в секрете *gl. Parotis*, в лизатах – гомогенатах содержимого пародонтальных карманов.

При исследовании иммунного статуса определяли относительное количество лимфоцитов с поверхностными маркерами CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> с помощью моноклональных антител (Институт экспериментальной патологии, радиобиологии и онкологии им. Р.Е. Кавецкого, г. Киев) методом непрямой иммунофлюоресценции; уровень ИЛ-1, ИЛ-2 – иммуноферментным методом с помощью тест-системы «Протеиновый контур» (Россия). Антитела определяли на цитофлуориметре и флуоресцентном микроскопе «Olympus» (Япония), длина волны 495 нм, согласно инструкции тест-систем от производителей. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента при достоверности  $p < 0,05$ . Все клинические исследования проводили в стоматологической клинике НМУ им. А.А. Богомольца, лабораторные – в Институте проблем патологии при НМУ.

**Результаты и их обсуждение.** Основными клетками продуцентами ИЛ-2 являются хелперные Т-клетки, которые начинают активную продукцию цитокина под влиянием антигенов, или митогенов, или ИЛ-1 $\alpha$ . Мишенями ИЛ-2 являются Т-клетки воспаления – Th1, хелперные клетки – Th2, цитотоксические Т-клетки, В-клетки, НК, макрофаги. Все эти клетки имеют соответствующий рецептор для восприятия сигнала от ИЛ-2–CD25.

Т-клетки активируются, что проявляется в стимуляции ИЛ-2 за счёт усиления аффинности рецепторного аппарата, что обеспечивает полноценный ответ клеток даже на низкие физиологические дозы ИЛ-2. Именно эта биологическая активность ИЛ-2 определяет его функциональную способность, обеспечивая пролиферацию клеток.

В лизатах содержимого пародонтальных карманов определяется увеличение CD25 на 27,5 % у больных ГП I–II степени обострившегося течения по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). При этом экспрессия CD4 Т-лимфоцитов увеличена на 34,5 %, а количество CD8 определяется на уровне

нижней границы по сравнению с данными контроля ( $p < 0,05$ ), рис. 1.

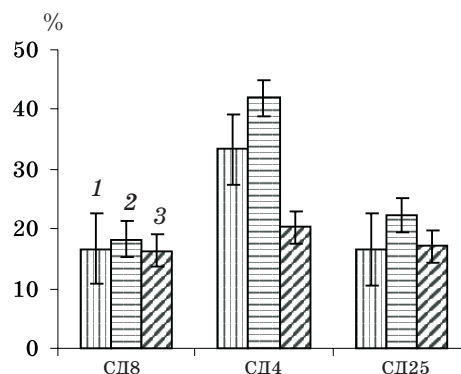


Рис. 1. Экспрессия лимфоцитами антигенов CD8, CD4, CD25 в содержимом пародонтальных карманов: 1 – контрольная группа; 2 – ГП I–II ст., обостр. течение; 3 – ГП I–II ст., хронич. течение

Следует отметить, что в биологических жидкостях полости рта у больных ГП содержание провоспалительных цитокинов меняется, увеличивается в зависимости от обострения хронического воспалительного процесса в тканях пародонта (рис. 2).

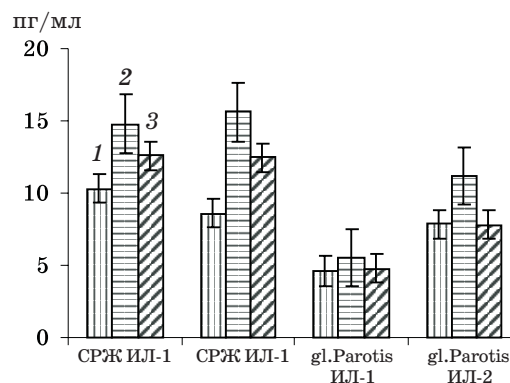


Рис. 2. Содержание провоспалительных цитокинов в биологических ротовых жидкостях: 1 – контрольная группа; 2 – ГП I–II ст., обостр. течение; 3 – ГП I–II ст., хронич. течение

Из представленных данных следует, что уровень провоспалительных цитокинов и экспрессия Т-лимфоцитами CD4, CD25 находятся в прямой коррелятивной взаимосвязи и характеризуют активность воспалительных процессов в тканях пародонта. CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты включают субпопуляцию с цитотоксической активностью, которая опосредованно является компонентом поддержки гомеостаза на локальном иммунном уровне. Содержание ИЛ-1, ИЛ-2 в секретах полости рта меняется в зависимости от характера течения заболевания и

характеризується головним образом состоянием экосистемы окружающих тканей в пародонте без достоверно значимых ( $p \leq 0,05$ ) отклонений от контроля содержания ИЛ-2 в секрете gl. Parotis.

#### Выводы

1. При формировании иммунного ответа и поддержании гомеостаза в тканях пародонта принимают активное участие регуляторные CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> Т-лимфоциты.

2. Присутствие Т-клеток, которые экспрессируют CD25, определяет эффективность регуляторных механизмов воспаления в тканях пародонта.

3. При генерализованном пародонтите, обострившемся течении, вектор направленности на увеличение CD8 свидетельствует о тенденции развития цитотоксичности, механизмы которого следует искать в локализации киллерных клеток.

#### Литература

1. Collagen degradation by interleukin-1-beta-stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases / S.W. Cox, B.M. Eley, M. Kiili et al. // *Oral Diseases*. – 2006. – V. 12. – P. 34–40.
2. Han R. Induction by IL-1 $\beta$  of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human orbital fibroblasts: modulation of gene promoter activity by IL-4 and IFN- $\gamma$  / R. Han, T.J. Smith // *J. Immunol.* – 2005. – V. 174. – P. 3072–3079.
3. Kinane D.F. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease / D.F. Kinane, T.C. Hart // *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* – 2003. – V. 14 (6). – P. 430–449.
4. Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene polymorphisms in relation to periodontitis / J. Craandijk, M.V. van Krugten, C.L. Verweij et al. // *Loos J. Clin. Periodontol.* – 2002. – V. 29 (1). – P. 28–34.
5. GCF IL-1 $\beta$  profiles in periodontal disease / S.P. Engebretson, J.T. Grbic, R. Singer et al. // *J. Clin. Periodontol.* – 2002. – V. 29 (1). – P. 48–53.
6. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists / A.J. Delima, S. Karatzas, S. Amar, D.T. Graves // *J. Infect. Dis.* – 2002. – V. 186. – P. 511–516.
7. A comparison of the pro-inflammatory, NF-kappaB-dependent cytokines: TNF-alpha, IL-1-alpha, IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients / N.L. Rhodus, B. Cheng, S. Myers et al. // *Clin. Immunol.* – 2005. – V. 114. – P. 278–283.

#### І.Є. Сергеева

#### ПОКАЗНИКИ Т-КЛІТИННОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЛОКАЛЬНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ХВОРИХ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ

Реалізація функцій Т-лімфоцитів, експресія CD4, CD8, CD25 і медіаторів запалення ІЛ-1, ІЛ-2 в біологічних середовищах порожнини рота характеризують механізми активації локальної імунної відповіді у хворих генералізованим пародонтитом. Співвідношення між цитотоксичністю і синтезом цитокінів позначається на різному рівні в регуляції функції CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів в різних фазах імунної відповіді перебігу генералізованого пародонтиту.

**Ключові слова:** генералізований пародонтит, Т-клітинна регуляція локальної імунної відповіді.

#### І.Е. Sergeeva

#### INDEXES OF THE T-CELLULAR ADJUSTING OF LOCAL IMMUNE ANSWER FOR PATIENTS GENERALIZED PARODONTITIS

Realization of functions of T-cell, expression of SD4, SD8, SD25 and neurohumors of inflammation of IL-1, IL-2, in the biological environments of cavity of mouth characterizes activation the mechanisms of local immune answer for the patients of generalized parodontitis. A betweenness cytotoxices and synthesis of cytokines tells at different level in adjusting of function of SD8<sup>+</sup> of T-cell in the different phases of immune answer of flow of generalized parodontitis.

**Key words:** generalized parodontitis, T-cellular adjusting of local immune answer.

Поступила 14.06.10

УДК 618.177-089.888.11-092.9

**Н.Г. Грищенко\*, Е.И. Смольянинова\*\*, А.А. Колесникова\*\*\*,  
Л.Г. Чернышенко\*\***

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ IN VITRO ООЦИТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

\* Харьковский национальный медицинский университет

\*\* Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков\*\*\*

Институт животноводства Академии аграрных наук Украины, г. Харьков

Исследованы воспроизводимость и результативность трёх методик моделирования IVF у мышей двух генетических линий на основании оценки морфологии яйцеклеток, их способности к оплодотворению, хромосомного статуса и темпов дробления эмбрионов в условиях *in vitro*. Показано, что на уровень оплодотворения ооцитов *in vitro* и последующее развитие эмбрионов влияют состав среды оплодотворения, условия технологических этапов, а также генетическая линия самок-доноров. На основе полученных и известных из литературы данных обсуждаются возможные причины неудач оплодотворения *in vitro* ооцитов млекопитающих.

**Ключевые слова:** ооцит, двухклеточный эмбрион, оплодотворение *in vitro*, апоптоз.

Проблема бесплодия в настоящее время приобретает особую актуальность в условиях ухудшающейся демографической ситуации в Украине. В клиническую практику в последние годы интенсивно внедряются вспомогательные репродуктивные технологии, в частности оплодотворение *in vitro* (*in vitro* fertilization, IVF). Несмотря на то, что IVF является одним из самых результативных методов преодоления бесплодия, его эффективность в среднем не превышает 40 % на один лечебный цикл [1].

Не вызывает сомнения, что результат IVF зависит не только от клинических особенностей каждой бесплодной супружеской пары, в большой степени он обусловлен качеством «технологических» этапов (индукция суперовуляции, получение яйцеклеток, условия культивирования гамет и эмбрионов, квалификация эмбриолога).

В ходе изучения эмбриологического этапа IVF, особенно в случаях необходимости моделирования патологических состояний, а также использования методов исследований, которые могут оказаться летальными для клетки, возникает ряд проблем, обусловленных невозможностью использования ооцитов и эмбрионов человека (из этических соображений). Поэтому необходимо разработать адекватную, сопоставимую и

хорошо воспроизводимую модель IVF на лабораторных животных. Широкое распространение получили методики моделирования IVF у лабораторных мышей [2–4]. Учитывая невозможность стандартизации данной методики, мы предприняли попытку сравнить несколько различных наиболее используемых методик IVF у мышей. Известно, что результативность методики также может зависеть от генетической линии животных.

Целью настоящей работы явилось исследование воспроизводимости и результативности трёх различных, описанных в литературе методик моделирования IVF у мышей двух генетических линий на основании оценки морфологии яйцеклеток, их способности к оплодотворению, темпов дробления в условиях *in vitro*.

**Материал и методы.** Ооциты на стадии МII мейоза получали от виргинных самок мышей линии СВА и гибридов F1(СВА × С57BL) возраста 6–8 недель. Для получения большого количества клеток у самок вызывали суперовуляцию путём внутривентральной инъекции 5 МЕ гонадотропина сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) (Folligon, Голландия) и 7,5 МЕ человеческого хорионического гонадотропина (чХГ) (Chorulon, Голландия) с интервалом между инъекциями

© Н.Г. Грищенко и др.

46–48 часов. Ооциты в составе ооцит-кумуляных комплексов (ОКК) выделяли через 12–13 часов после инъекции чХГ путём прокалывания ампулярного отдела отпрепарированных яйцеводов в тёплой фосфатно-буферной среде Дюльбекко с добавлением 10% -ной фетальной телячьей сыворотки («Sigma», USA). Сперму получали от самцов мыши возраста 12–14 недель тех же породных линий, что и самки. Сперму выделяли из отпрепарированных эпидидимисов и спермовыносящих протоков в каплях среды объёмом 300 мкл под минеральным маслом («Sigma»). Разные варианты опыта предполагали проведение или отсутствие первоначального диспергирования спермы в течение 25 мин при 37 °С. После этого этапа сперматозоиды в концентрации  $1-2 \cdot 10^6$  на 1 мл добавляли в капли среды для капацитации. В этих же каплях проводили оплодотворение ооцитов *in vitro*. В качестве сред для оплодотворения были испытаны среды  $T_6$  [3] с добавлением BSA (15 мг/мл),  $T_{16}$  [5] с добавлением BSA (16 мг/мл) и среда НТФ [6, 7]. Состав сред оплодотворения приведен в табл. 1.

Следует отметить, что согласно методике [5] при использовании среды  $T_{16}$  сперму диспергировали без использования мине-

рального масла. Совместную инкубацию ооцитов и сперматозоидов проводили в течение 5 часов, после чего ооциты трижды отмывали от сперматозоидов в каплях среды  $M_{16}$  («Sigma») объёмом 150 мкл. В этой же среде и далее культивировали презумптивные зиготы и эмбрионы. Культивирование осуществляли в 4-луночных планшетах (Nunc) в  $CO_2$ -инкубаторе при температуре 37 °С, с 5% -ным содержанием  $CO_2$ , в условиях высокой влажности.

Оплодотворение ооцитов оценивали через 20 часов по морфологическим критериям и состоянию хромосомного аппарата клеток после окрашивания ДНК-специфическим красителем Hoechst 33342 («Sigma»). Эмбрионы экспонировали в течение 30 мин при 37 °С в 0,1 % -ном растворе Hoechst 33342, приготовленном на среде Дюльбекко («Sigma»). Состояние хромосомного аппарата эмбрионов после окрашивания исследовали под микроскопом LSM-510 META (Carl Zeiss, Германия) при длине волны возбуждения 405 нм. Эмиссию регистрировали на длине волны 465 нм.

Эксперименты проведены на 45 животных по регламенту, разработанному в соответствии с «Общими принципами экспери-

Таблица 1. Состав сред, используемых для оплодотворения ооцитов мыши *in vitro*

Компонент	Среда, г/л		
	$T_6$ [3]	$T_{16}$ [5]	НТФ [6, 7]
NaCl	5,719	8,0	8,0
KCl	0,106	0,2	0,2
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0,096	–	0,214
$MgCl_2$	–	0,0469	–
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	0,129	–	–
$NaH_2PO_4$	–	0,05	0,05
$Na_2HPO_4$	–	1,15	–
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,262	–	0,265
$CaCl_2$	–	0,2	–
$NaHCO_3$	2,101	2,106	1,0
Лактат Na	2,791	3,5	–
Пируват Na	0,052	0,055	–
Глюкоза	1,0	–	1,0
Феноловый красный	0,01	0,005	–
Пенициллин G (соль калия)	0,06	0,06	–
Сульфат стрептомицина	0,05	0,05	–
Сульфат гентамицина, мл	–	–	1,0
Феноловый красный	0,01	0,05	0,05

ментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001 г.) и согласованными с Положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты исследований.** Результаты морфологической оценки ооцитов мыши через 20 часов после инсеминации ооцитов представлены в табл. 2.

эмбрионов не наблюдалось. Количество неоплодотворённых ооцитов было достоверно выше в 1-й группе. Морфологический анализ показал, что ооциты имели неправильную форму, коллабировавшую цитоплазму, ядерный материал сперматозоида в цитоплазме отсутствовал, что свидетельствовало о том, что проникновения сперматозоида в цитоплазму не произошло (рис. 2, а). Во 2-й и 3-й группах наряду с неоплодотворёнными ооцитами окрашивание Hoechst 33342 позволило обнаружить одноклеточные эмбрионы, остановившиеся в развитии (рис. 2, б). Остановка развития эмбрионов наблюда-

Таблица 2. Количество эмбрионов мыши, развившихся до стадии двух бластомеров, после процедуры IVF

Группа (используемая среда оплодотворения)	ОКК, n	Количество			
		эмбрионов		дегенерировавших ооцитов	
		n	%	n	%
1-я (T <sub>16</sub> )	27	3	11,1 <sup>a</sup>	13	48,1 <sup>d</sup>
2-я (T <sub>6</sub> )	20	11	55,0 <sup>b</sup>	4	20,0 <sup>e</sup>
3-я (НТФ)	35	15	42,9 <sup>c</sup>	8	22,9 <sup>e</sup>

Примечание. a:b – p<0,01; a:c – p<0,05; d:e – p<0,05.

Как видим, использование для оплодотворения среды T<sub>16</sub> (1-я группа) существенно снижает результаты оплодотворения ооцитов мыши по сравнению со средой T<sub>6</sub> и средой НТФ. Также в этой группе достоверно увеличивается количество дегенерировавших ооцитов. Достоверных различий по уровню оплодотворения и развития эмбрионов до стадии двух бластомеров между 2-й и 3-й группами не наблюдается, хотя полученные результаты на уровне тенденции свидетельствуют о более оптимальных результатах эмбриологического этапа IVF во 2-й группе.

Во всех трёх группах через 20 часов после оплодотворения окрашивание Hoechst 33342 выявило в бластомерах двухклеточных эмбрионов чёткие интерфазные ядра, при этом бластомеры имели округлую форму и прозрачную цитоплазму (рис. 1, а), а во 2-й и 3-й группах двухклеточные эмбрионы демонстрировали начало митоза. При этом было обнаружено асинхронное дробление, характерное для деления дробления млекопитающих, что свидетельствует о нормальном процессе эмбрионального развития (рис. 1, б).

Обращало на себя внимание снижение темпов дробления двухклеточных эмбрионов у мышей линии СВА. Следует отметить, что в 1-й группе митотического деления

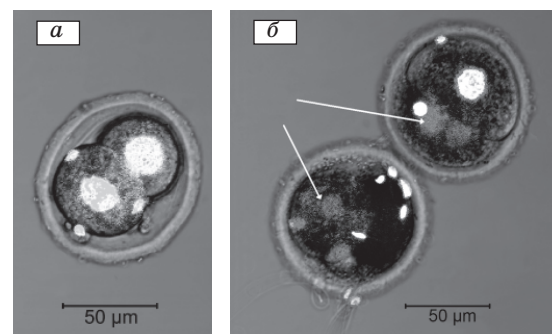


Рис. 1. Двухклеточные эмбрионы мыши, развившиеся после инсеминации ооцитов: а – двухклеточный эмбрион мыши на стадии G<sub>1</sub> клеточного цикла; б – асинхронное дробление двухклеточного эмбриона мыши. Стрелками указано расхождение ядерного материала в процессе митоза. Окрашивание Hoechst 33342

лась не только на стадии зиготы, но и на стадии двухклеточного эмбриона. Окрашивание Hoechst 33342 ядерного материала выявило фрагментацию ядра и распределение хроматина по всему бластомеру (рис. 3), причём нарушения ядерного материала не всегда сопровождалась морфологическими нарушениями бластомеров. Такие нарушения наблюдались преимущественно среди эмбрионов экспериментальной группы, в которой ооциты были получены от самок мышей линии СВА.

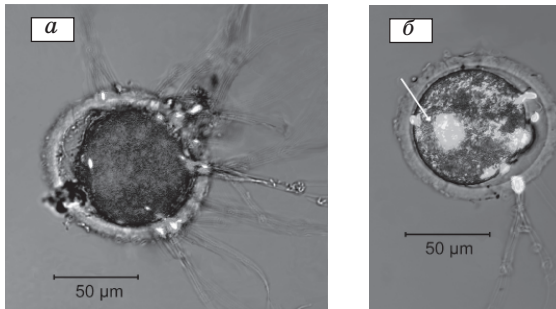


Рис. 2. Состояние хромосомного аппарата ооцита и эмбриона мыши через 20 часов после процедуры IVF:

*a* – неоплодотворённый ооцит мыши; *б* – конденсация ядерного хроматина в одноклеточном эмбрионе мыши, прекратившем своё развитие. Окрашивание Hoechst 33342

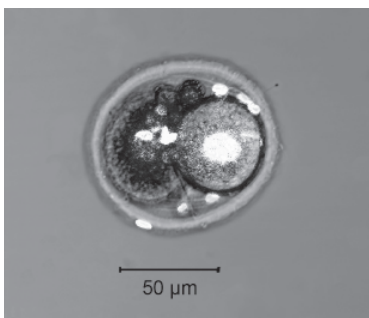


Рис. 3. Фрагментация хроматина в blastomere двухклеточного эмбриона мыши через 20 часов после процедуры IVF. Окрашивание Hoechst 33342

**Обсуждение результатов.** На результат процедуры IVF у лабораторных мышей влияет состав питательных сред, используемых для оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов, условия технологических этапов, генетическая линия используемых животных-доноров.

В настоящее время накоплен большой экспериментальный опыт, свидетельствующий о том, что на качество овулировавших ооцитов существенно влияет индукция суперовуляции у самок-доноров [7–11]. Препараты с фолликулостимулирующим действием усиливают митотическую активность в мелких фолликулах и защищают их от атрезии. Однако наряду с увеличением количества ооцитов растёт и количество ооцитов с признаками дегенерации. В работе [7] показано, что гормональная обработка самок мышей фолликулостимулирующим гормоном в разных дозах влияет на биохимический статус яичников животных, снижая активность некоторых ферментов, в частности аминотрансферазы. Процесс созревания ооцитов, завершение мейоза и последующая овуляция во многом зависят

от взаимодействия растущего ооцита с клетками кумулюса. В процессе роста ооциты накапливают необходимые для дальнейшего развития вещества (мРНК, белки), что обуславливает необходимость для оплодотворения и дальнейшего развития зрелость их цитоплазмы [8]. Использование экзогенных гонадотропных гормонов приводит к нарушению этого взаимодействия, в результате чего после индукции суперовуляции получают ооциты с недостаточно зрелой цитоплазмой, не способной поддерживать нормальное эмбриональное развитие, даже если происходит оплодотворение. Ранее было показано, что наличие примеси лютеинизирующего гормона в препарате ГСЖК приводит к преждевременной овуляции некоторой части ооцитов [9]. Появление в общем пуле «стареющих» клеток также приводит к снижению результатов IVF. Известно, что одной из неудач оплодотворения *in vitro* у мышей является затвердевание *zona pellucida*, в результате чего сперматозоиды не способны проникать в ооциты [4]. Присутствие неоплодотворённых ооцитов во всех трёх экспериментальных группах может быть обусловлено всеми указанными факторами, однако более высокий процент неоплодотворённых ооцитов в 1-й группе свидетельствует о влиянии на результат IVF состава среды оплодотворения. Сперматозоиды млекопитающих не способны оплодотворить яйцеклетку, пока они не подвергнутся процессу капацитации, механизм которого связывают с изменениями в липидном и гликопротеиновом составе плазматической мембраны сперматозоида, а также с повышением уровня его метаболизма и увеличением подвижности [8]. Отсутствие глюкозы в составе среды  $T_{16}$ , а также отсутствие минерального масла при инкубировании ооцитов и сперматозоидов может значительно снижать оплодотворяющую способность последних. Наличие этапа диспергирования спермы при проведении процедуры IVF во 2-й и 3-й группах может также являться фактором, влияющим на результаты оплодотворения ооцитов, поскольку позволяет выделить фракцию более активных сперматозоидов.

В последнее время много внимания уделяется процессам клеточного апоптоза гамет и ранних эмбрионов млекопитающих как универсальному природному механизму отбора неполноценных клеток с пониженным потенциалом к дальнейшему развитию [12, 13]. Структурные изменения клеток в про-

цессе апоптоза включають конденсацію ядерного і цитоплазматического матеріала, змінення органелл, інвагінацію цитоплазматической мембрани с последующей фрагментацией и образованием апоптотических тел. Следует отметить, что фрагментация ядра в результате апоптотических изменений может предшествовать морфологическим изменениям и происходить в процессе раннего доимплантационного развития эмбрионов. Неоднократно отмечалось, что генетическая линия животных может существенно влиять на результат IVF [3, 9]. Известно, что эмбрионы мышей многих линий, в том числе и СВА, подвержены так называемому двухклеточному блоку – остановке в развитии на стадии G<sub>2</sub>-клеточного цикла, что определяется исключительно генотипом ооцита [3]. В настоящем исследовании у животных линии СВА в пуле двухклеточных эмбрионов, полученных в результате IVF, визуализировалась более интенсивная фрагментация ядерного материала (рис. 3), при этом бластомеры выглядели морфологически интактными. Наблюдаемые изменения свидетельствуют об остановке развития, то есть блоке дробления, который невозможно определить на этой стадии при стандартной оценке морфологии эмбрионов.

#### Литература

1. Основы репродуктивной медицины: Практическое руководство / под ред. проф. В.К. Чайки. – Донецк: ООО «Альматео», 2001. – 618 с.
2. Quinn P. Is the mouse a good model for the human with respect to the development of the preimplantation embryo in vitro? / P. Quinn, F.C. Horstman // Hum. Reprod. – 1998. – Dec. 13. – Suppl. 4. – P. 173–183.
3. Биология развития млекопитающих. Методы / под ред. М. Манк. – М.: Мир, 1990. – 406 с.
4. Neuber E. Is the mouse a clinically relevant model for human fertilization failures / E. Neuber, R.D. Powers // Hum. Reprod. – 2000. – V. 15, № 1. – P. 171–174.
5. Paynter S.J. Cryopreservation of mammalian oocytes / S.J. Paynter, B.J. Fuller // Methods mol. Biol. – 2007. – V. 368. – P. 313–324.
6. Quinn P. Improved pregnancy in human in vitro fertilization with the use of a medium based on composition of human tubal fluid / P. Quinn, J.F. Kerin, G.M. Warnes // Fertility and Sterility. – 1985. – № 44. – P. 493–498.
7. Dhanju C.K. Biochemical status of ovarian after induction of superovulation on different days of estrus cycle in mice / C.K. Dhanju, G.K. Sangha, P.K. Sekhon // Ind. J. Exp. Biol. – 2001. – V. 39, № 8. – P. 777–780.
8. Krisher R.L. The effect of oocyte quality on development / R.L. Krisher // J. Anim. Sci. – 2004. – V. 82. – E14–E23.
9. Redina O.E. Induction of superovulation in DD mice at different stages of the oestrous cycle / O.E. Redina, S.Ya. Amstislavsky, L.F. Maksimovsky // J. Reprod. Fert. – 1994. – V. 102. – P. 263–267.
10. Van der Auvera. Superovulation of female mice delays embryonic and fetal development / Van der Auvera, T. D’Hooghe // Hum. Reprod. – 2001. – V. 16, № 6. – P. 1237–1243.
11. Ertizeid G. Adverse effects of gonadotrophin treatment on pre- and postimplantation development in mice / G. Ertizeid, R. Storeng // J. Reprod. Fert. – 1992. – V. 96, № 4. – P. 649–655.
12. Takase K. Apoptosis in the degeneration process of unfertilized mouse ova / K. Takase, M. Ishikawa, H. Hoshiai // Tohoku J. Exp. Med. – 1995. – V. 175. – P. 69–76.
13. Haouzi D. Pertinence of apoptosis markers for the improvement of in vitro fertilization (IVF) / D. Haouzi, S. Hamamah // Curr. Med. Chem. – 2009. – V. 16. – P. 1905–1916.

#### Выводы

1. Показано, что состав среды оплодотворения, условия технологических этапов, а также генетическая линия животных существенно влияют на уровень оплодотворения ооцитов *in vitro* и последующее развитие эмбрионов.

2. Анализ трёх сред оплодотворения, широко используемых в мировой практике (Т<sub>6</sub>, Т<sub>16</sub> и НТФ), показал, что среда НТФ (human tubal fluid) обеспечивает наиболее оптимальные результаты эмбриологического этапа IVF у мышей.

3. Этап диспергирования спермы позволяет выделить наиболее подвижную фракцию сперматозоидов, что значительно улучшает результат IVF.

4. Использование в экспериментах самок мышей гибрида первого поколения (в нашем случае СВА×С57В1) позволяет исключить нежелательный эффект двухклеточного блока, обусловленный генотипом ооцитов.

5. Моделирование процедуры IVF у лабораторных мышей с использованием прижизненных тестов качества ооцитов и эмбрионов позволяет выявить причины неудач оплодотворения *in vitro* ооцитов млекопитающих.

*М.Г. Грищенко, Є.І. Смольянінова, А.О. Колеснікова, Л.Г. Чернишенко*

**МЕТОДИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАПЛІДНЕННЯ IN VITRO ООЦИТІВ ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ**

Досліджено відтворювання і результативність трьох методик моделювання IVF у мишей двох генетичних ліній на підставі оцінки морфології клітин, їхньої здатності до запліднення, хромосомного статусу та темпів дроблення ембріонів в умовах *in vitro*. Показано, що на рівень запліднення ооцитів *in vitro* і подальший розвиток ембріонів впливають склад середовища запліднення, умови технологічних етапів, а також генетична лінія самок-донорів. На підставі отриманих у роботі і відомих з літератури даних обговорюються можливі причини невдач запліднення *in vitro* ооцитів ссавців.

**Ключові слова:** ооцит, двоклітинний ембріон, запліднення *in vitro*, апоптоз.

*N.G. Gryshenko, Ye.I. Smolyaninova, A.A. Kolesnikova, L.G. Chernyshenko*

**METHODICAL PECULIARITIES OF LABORATORY MOUSE OOCYTES FERTILIZATION IN VITRO**

In this work the recovery rates and efficiency of described in literature three different techniques of IVF simulation in mice of two genetic strains on base of estimation of oocytes' morphology, their capacity to be fertilized, chromosomal status and the rates of embryos' cleavage *in vitro* are investigated. It is shown, that the rates of oocytes' fertilization *in vitro* and subsequent embryos' development are affected by the composition of fertilization medium condition of technologic stages and genetic strain of the female-donors. On base of obtained and known from literature data the possible reasons of fertilization failures of mammalian oocytes are discussed.

**Key words:** oocyte, two-cell embryo, fertilization *in vitro*, apoptosis.

*Поступила 10.03.10*

УДК 616.224.015:616.155.1:577.127.3:577.115.4

*С.І. Крижна*

## ПРОНИКНІСТЬ ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНОГО БАР'ЄРА ДЛЯ ПОРФІРИНІВ І ЇХ ПОПЕРЕДНИКІВ У ІНТАКТНИХ ЩУРІВ І ЩУРІВ З ПІДГОСТРОЮ БЕНЗОЛЬНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

Наведено результати дослідження проникності гематоенцефалічного бар'єра для порфіринів у інтактних щурів і щурів з експериментальним порушенням порфіринового обміну. Встановлено, що підгостра бензольна інтоксикація викликає глибокі порушення проникності гематоенцефалічного бар'єра і накопичення в корі головного мозку  $\delta$ -амінолевулінової кислоти й порфібіліногену.

**Ключові слова:** порфірія, гематоенцефалічний бар'єр, підгостра бензольна інтоксикація.

Питання обміну порфіринів в організмі потребує детального вивчення, особливо у зв'язку з діяльністю ЦНС, питаннями окислювального метаболізму в тканинах і станом дихальних хромопротеїдів, які приймають участь в процесах біологічного окиснення [1]. Оскільки, за даними літератури [2–4], бензольна інтоксикація організму призводить до порушення порфіринового обміну, метою даної роботи було вивчення проникності гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) у інтактних тварин в умовах підгострої бензольної інтоксикації для порфіринів і їх попередників [5].

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на 40 нелінійних білих щурах масою 220–250 г. Підгостру бензольну інтоксикацію у тварин викликали підшкірними ін'єкціями бензолу із розрахунку 0,1 мл на 1 кг маси тварини кожен день протягом 7 днів [5]. У інтактних щурів і щурів з підгострою бензольною інтоксикацією визначали в еритроцитах, плазмі крові, сірій тканині головного мозку і в печінці рівень  $\delta$ -амінолевулінової кислоти (АЛК) і порфібіліногену (ПБГ), рівень ефіророзчинних порфіринів: копропорфірину (КП) і протопорфірину (ПП). Рівень АЛК і ПБГ визначали в безбілковому центрифугаті за допомогою іонообмінної хроматографії [6] і вимірювання інтенсивності кольору їх продуктів в реакції з ртутним реактивом Ерліха. Оптичну щільність кінцевих продуктів АЛК і ПБГ встановлювали на спектрофотометрі «Specord UV VIS» (ФРН) після 15-хви-

линної витримки з реактивом Ерліха. Рівень КП і ПП визначали за методикою Koskelo [6, 7]. Фотометрію хлористоводневих розчинів цих речовин здійснювали на спектрофотометрі «Specord UV VIS». Усі маніпуляції на тваринах проводили під гексеналовим наркозом (60 мг/кг підшкірно) згідно з Міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [8].

Статистичну обробку даних проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента [9–11].

**Результати і їх обговорення.** У інтактних тварин попередники біосинтезу гема в незначних, але досить вагомих кількостях були виявлені в усіх досліджених нами тканинах і плазмі крові (табл. 1). Однак в плазмі крові визначення цих продуктів потребує більшої кількості матеріалу, оскільки рівень АЛК, ПБГ, КП і ПП наближався до рівня «сліди» або «тисячні долі». Разом з тим визначення попередників синтезу гема у здорових тварин дало можливість у подальшому порівнювати вказані показники при бензольній інтоксикації [3].

Аналіз отриманих даних показав, що показники порфіринового обміну у експериментальних тварин достовірно змінювалися після відтворення бензольної інтоксикації. Рівень АЛК і КП достовірно підвищувався в усіх досліджених тканинах, а рівень ПБГ недостовірно змінювався тільки в плазмі крові, ПП залишався в межах норми тільки

© С.І. Крижна.

Таблиця 1. Рівень порфіринів і їх попередників в тканинах і плазмі крові інтактних і експериментальних щурів з підгострою бензолною інтоксикацією

Порфірини і їх попередники	Група щурів (n=10)	Вміст, (M±m) мкмоль·г <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>			
		в еритроцитах	в плазмі крові	в печінці	в корі мозку
Амінолевулінова кислота	Інтактні	0,036±0,005	0,027±0,010	0,440±0,050	0,230±0,300
	Експериментальні	1,107±0,045*	0,553±0,020*	2,740±0,045*	2,115±0,055*
Порфобіліноген	Інтактні	0,320±0,060	0,013±0,006	0,540±0,008	0,330±0,050
	Експериментальні	1,380±0,140*	0,025±0,004	1,110±0,170*	1,170±0,140*
Копропорфірин	Інтактні	0,054±0,006	0,005±0,001	0,131±0,017	0,073±0,008
	Експериментальні	0,178±0,022*	0,053±0,006*	0,208±0,017*	0,451±0,020*
Протопорфірин	Інтактні	0,142±0,006	0,005±0,001	0,255±0,045	0,072±0,014
	Експериментальні	0,280±0,007*	0,075±0,017*	0,268±0,090	0,287±0,017*

Примітка. \*p<0,05 відносно інтактного контролю. Тут і в табл. 2.

в тканині печінки і підвищувався в усіх інших тканинах. Інтоксикація приводила до порушення загального стану щурів. Так, за період «затравки» (7 днів) у щурів зменшувалася маса тіла, не було апетиту, з'являлися сонливість і пригнічений стан. Все це свідчить про розвиток симптомів, характерних для бензолної інтоксикації [3, 12]. Отримані дані підтверджують відтворення підгострої бензолної інтоксикації у експериментальних тварин протягом 7 днів при підшкірному введенні бензолу.

Для визначення проникності ГЕБ для продуктів біосинтезу гема були обрані АЛК і ПП, тому що вони становлять початковий і кінцевий ланцюг порфіриноутворення [4]. Ці речовини вводили інтактним щурам і

щурам з підгострою бензолною інтоксикацією підшкірно в такій кількості, щоб створити в плазмі крові інтактних тварин таку їх концентрацію, яка б перевищувала аналогічну концентрацію у щурів з підгострою інтоксикацією [12]. Через 2 години після введення продуктів біосинтезу гема визначали АЛК і ПП в еритроцитах, плазмі крові та сірій тканині головного мозку. До введення цих речовин їх рівень визначали в еритроцитах і плазмі крові [13, 14].

Дані експериментів показали, що додаткове введення АЛК і ПП достовірно приводило до підвищення їх концентрації в плазмі крові в обох групах (табл. 2). При цьому кількість АЛК збільшувалася в еритроцитах як у інтактних щурів, так і щурів з

Таблиця 2. Рівень амінолевулінової кислоти (АЛК) і протопорфірину (ПП) в тканинах і плазмі крові інтактних і експериментальних тварин до і після навантаження

Порфірини	Група щурів	Вміст, (M±m) мкмоль·г <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>		
		в еритроцитах	в плазмі крові	в корі мозку
АЛК	Інтактні			
	до навантаження	0,036±0,006	0,028±0,004	0,23±0,03
	після навантаження	0,245±0,06*	1,378±0,025*	0,23±0,02
	Експериментальні			
	до навантаження	1,09±0,32	0,501±0,025	2,115±0,055
	після навантаження	2,16±0,26*	2,443±0,047*	2,161±0,020
ПП	Інтактні			
	до навантаження	0,142±0,005	0,005±0,001	0,072±0,014
	після навантаження	0,142±0,006	0,060±0,008*	0,072±0,007
	Експериментальні			
	до навантаження	0,277±0,045	0,070±0,014	0,287±0,017
	після навантаження	0,377±0,055*	0,366±0,030*	0,290±0,022

бензольною інтоксикацією, тоді як рівень ПП достовірно змінювався тільки у щурів з бензольною інтоксикацією. В еритроцитах інтактних тварин кількість АЛК після навантаження нею значно збільшувалася. При підгострій бензольній інтоксикації при порівнянні абсолютної різниці між середніми величинами до та після введення АЛК кількість її в еритроцитах збільшувалася ще більше (на 21 %). Нами були розраховані коефіцієнти проникності мембрани еритроцитів для АЛК. Середній коефіцієнт проникності мембран еритроцитів, тобто співвідношення рівня введеної АЛК в еритроцитах до рівня тієї ж кислоти в плазмі крові (навантаження АЛК еритроцитів / навантаження АЛК плазми), для інтактних щурів складав  $0,17 \pm 0,4$ , а при підгострій бензольній інтоксикації –  $0,55 \pm 0,24$  ( $p < 0,05$ ). Така різниця в коефіцієнтах свідчить про глибокі порушення проникності мембран еритроцитів, які виникли під впливом бензолу. Про збільшення проникності мембран еритроцитів свідчить також збільшення рівня ПП під впливом бензольної інтоксикації [3, 10, 14]. Якщо у інтактних щурів мембрана еритроцитів є непроникною для ПП, то під впливом бензолу крізь неї починають проникати молекули ПП.

Навантаження АЛК і ПП організму тварин обох груп не приводило до достовірних

змін концентрації як АЛК, так і ПП у сірій тканині мозку. Кількість АЛК і ПП в корі головного мозку при додатковому введенні цих порфіринів у інтактних і експериментальних тварин з підгострою бензольною інтоксикацією достовірно не змінювалася. Отже, крізь ГЕБ продукти біосинтезу гема у інтактних тварин не проникали (табл. 1 і 2). Разом з тим при підгострій інтоксикації бензолом рівень порфіринів і їх попередників у корі головного мозку збільшувався таким самим чином, як і в еритроцитах. Цей факт можна пояснити скоріше за все тим, що бензол володіє ліпотропними властивостями, а тканина мозку містить велику кількість ліпідів [1, 10, 14]. Тому бензол навіть при підгострій інтоксикації починає виявляти такий сильний ефект на синтез порфіринів саме в тканині мозку.

#### Висновки

1. Гематоенцефалічний бар'єр у інтактних щурів для  $\delta$ -амінолевулінової кислоти і протопорфіринів не є проникним.

2. Підгостра бензольна інтоксикація призводить до порушень проникності гематоенцефалічного бар'єра і накопичення в корі головного мозку  $\delta$ -амінолевулінової кислоти, порфобіліногену і протопорфірину.

3. Підгостра бензольна інтоксикація викликає порушення проникності мембрани еритроцитів для продуктів біосинтезу гема.

#### Література

1. Disorders of heme biosynthesis: X-linked sideroblastic anemia and the porphyrias / R.J. Desnick, D.F. Bishop, S. Sassa, K.E. Anderson // The molecular and metabolic bases of inherited disease. Ed. C.S. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle. 8th ed. – N.Y.: McGraw-Hill, 2001. – P. 2961–3062.
2. Еритроцит при захворюваннях внутрішніх органів / М.Ю. Коломощ, М.В. Шаплавський, Г.І. Мардар, Т.Я. Чурсіна. – Чернівці, 1998. – 220 с.
3. Ткачишин В.С. Професійні захворювання опорно-рухового апарату та прилеглих структур, спричинені впливом ряду шкідливих виробничих факторів. Лекція 6. Физические, химические и биологические факторы в процессе производственной деятельности / В.С. Ткачишин // Укр. ревматол. журн. – 2006. – № 2 (24). – С. 26–29.
4. Desnick R.J. Congenital erythropoietic porphyria: advances in pathogenesis and treatment / R.J. Desnick, K.H. Astrin // Br. J. Haematol. – 2002 Jun. – V. 117 (4). – P. 779–795.
5. Silbergeld E.K. Mechanism of chemical-induced porphyriopathies / E.K. Silbergeld, B.A. Fowler. – N.Y.: New York Academy of Sciences, 1987. – 352 p.
6. Zaider E. Clinical laboratory methods for diagnosis of the porphyrias / E. Zaider, D.R. Bickers // Clin. Dermatol. – 1998 Mar.–Apr. – V. 16 (2). – P. 277–293.
7. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 3. Клиническая биохимия: учеб. пособие / М.А. Базарнова, З.П. Гетте, Л.И. Кальнова и др.; под ред. проф. М.А. Базарновой, проф. В.Т. Морозовой. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 2000. – 319 с.
8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
9. Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин. – СПб.: ФОЛИАНТ, 2003. – 429 с.
10. Писанец М.П. Биосинтез порфиринов в эритроцитах у здоровых лиц различного пола и возраста / М.П. Писанец, А.В. Джермакян // Пробл. гематол. и переливания крови. – 1980. – Т. XXV. – С. 44–46.

11. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – С. 192.
12. Gupta A.K. Photodynamic therapy and topical aminolevulinic acid: an overview / A.K. Gupta, J.E. Ryder // Am. J. Clin. Dermatol. – 2003. – V. 4 (10). – P. 699–708.
13. Red blood cell exchange transfusion in two patients with advanced erythropoietic protoporphyria / Q.G. Eichbaum, W.H. Dzik, R.T. Chung, Z.M. Szczepiorkowski // Transfusion. – 2005 Feb. – V. 45 (2). – P. 208–213.
14. Гжегоцький М.Р. Система крові. Фізіологічні та клінічні основи / М.Р. Гжегоцький, О.С. Заячківська. – Львів: Світ, 2001. – 173 с.

**С.И. Крыжная**

**ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ДЛЯ ПОРФИРИНОВ И ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ У ИНТАКТНЫХ КРЫС И КРЫС С ПОДОСТРОЙ БЕНЗОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ**

Представлены результаты исследований гематоэнцефалического барьера для порфиринов у интактных крыс и крыс с экспериментальным нарушением порфиринового обмена. Установлено, что подострая бензольная интоксикация вызывает глубокие нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера и накопления в коре головного мозга  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты и порфибилиногена.

**Ключевые слова:** порфирия, гематоэнцефалический барьер, подострая бензольная интоксикация.

**S.I. Kryzhnaya**

**PERMEABILITY OF BLOOD-BRAIN BARRIER FOR PORPHYRINS AND THEIR PREDECESSORS IN INTACT ANIMALS AND UNDER THE INFLUENCES OF SUBACUTE BENZENE INTOXICATION**

There are shown the results of studies of blood-brain barrier for porphyrins in intact rats and rats with the experimental disturbance of porphyrin exchange. It is established that the subacute benzene intoxication causes the deep disturbances of the permeability of blood-brain barrier and accumulation in the cerebral cortex of  $\delta$ -aminolevulinic acid and porfibilinogen.

**Key words:** porphyria, blood-brain barrier, subacute benzene intoxication.

Поступила 30.03.10

УДК 611.71/.72:54.03:531.113

*С.А. Кутя***БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОСТЕЙ КРЫС  
РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ  
СПОСОБОВ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ  
К ДЕЙСТВИЮ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК***Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь*

Приведены результаты исследования биомеханических свойств костей крыс разного возраста, подвергавшихся действию гипергравитации на фоне применения липофлавона, глутаргина и его комбинации с физической защитой. Установлено, что гравитационные перегрузки вызывают изменение свойств костей и как конструкции, и как материала. Направленность и степень выраженности изменений зависят от возраста животных, кратности воздействия гравитационных перегрузок и способа повышения устойчивости к ним. Менее выраженные изменения возникали при использовании глутаргина после 10-дневного эксперимента и липофлавона после 30 дней.

**Ключевые слова:** гипергравитация, биомеханические свойства костей, устойчивость.

Как известно, одной из главных функций костей в организме человека и животных является обеспечение необходимых прочностных характеристик тела особи при статических и динамических воздействиях. Прочность костной ткани зависит от многих факторов, таких как химический состав, соотношение содержания компактного и губчатого вещества, система внутреннего армирования, ориентация основных компонентов по отношению к продольной оси кости и т. д. В процессе эволюции костная система сформировалась под воздействием гравитационного фактора. Поэтому понижение или повышение уровня гравитации отражается на морфофункциональном состоянии костной ткани и закономерно приводит к изменению пластических свойств костей [1]. Ранее нами были установлены факты изменения химического состава, структуры минеральной фазы, гистоархитектоники костей при действии гравитационных перегрузок [2–4]. Целью данного исследования явилось установление закономерностей изменения прочностных свойств плечевых костей под воздействием гравитационных перегрузок на организм крыс и при использовании различных способов повышения устойчивости (фармакологического и его комбинации с физической защитой) к ним.

**Материал и методы.** Экспериментальное исследование проведено на 216 крысах-самцах линии Вистар трёх возрастных групп: 2-, 6- и 12-месячных с исходной массой 120–130, 200–220 и 260–280 г соответственно. Животные были разделены на 6 серий по 12 крыс в каждой. Животных первой серии (О-1) ежедневно подвергали воздействию поперечных гравитационных перегрузок величиной 9 g в течение 10 мин в виде следующих друг за другом трёх «площадок» продолжительностью по 3 мин каждая с двумя 30-секундными перерывами между ними. Гипергравитацию моделировали путём вращения животных в периферических контейнерах на центрифуге Ц-2/500 (рабочий диапазон – от 1 до 50 g, радиус плеча – 50 см, градиент нарастания – 1,6 g/c, градиент спада – 0,6–0,8 g/c). Животным второй серии (О-2) за 30 мин до сеанса гипергравитации внутрибрюшинно вводили глутаргин в дозе 100 мг/кг массы крысы [5]. Крыс третьей серии (О-3) подвергали воздействию перегрузок в условиях комбинированной защиты: физической [6] и глутаргина. Животным четвертой серии (Л) за 30 мин до сеанса гипергравитации внутрибрюшинно вводили липофлавон в дозе 2,5 мг/кг (по кверцетину) массы крысы [7]. Контролем (К-1) для серии О-1 служили животные, которых на период

© С.А. Кутя.

сеанса гипергравитации помещали в аналогичные контейнеры и размещали на платформе центрифуги. Контролем (К-2) для остальных серий служили крысы, которым за 30 мин до помещения в контейнеры внутрибрюшинно вводили стерильный изотонический раствор NaCl в эквивалентных объемах.

По окончании сроков эксперимента на 11-й и 31-й дни животных декапитировали под эфирным наркозом. Для исследования забирали плечевые кости. Биомеханические характеристики костей определяли при изгибе на универсальной нагрузочной машине Р-0,5 со скоростью нагружения

0,25 мм/мин до разрушения. Рассчитывали удельную стрелу прогиба, предел прочности, модуль упругости и работу разрушения [8]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Достоверной считали вероятность ошибки менее 5 %.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование прочностных свойств плечевых животных показало, что у крыс серии О-1 после сеансов гипергравитации значения предела прочности и модуля упругости были сниженными по сравнению с таковыми в контроле на 17,94 % ( $p < 0,05$ ) и 14,94 % ( $p < 0,05$ ) соответственно (таблица). У крыс

Таблица 1. Прочностные показатели плечевых

Свойства	Срок эксперимента, дней	Группы	
		К-1	К-2
<i>2-месячные</i>			
УСП, мк/Н	10	9,35±0,34	9,46±0,31
	30	5,74±0,24	5,77±0,23
ПП, гПа	10	108,03±4,06	108,76±3,08
	30	117,93±2,80	119,20±2,25
МУ, гПа	10	5,31±0,23	5,01±0,17
	30	5,76±0,28	5,83±0,22
РР, мДж	10	52,06±2,59	53,34±2,53
	30	55,03±2,54	57,94±2,08
<i>6-месячные</i>			
УСП, мк/Н	10	3,36±0,14	3,45±0,13
	30	2,56±0,11	2,64±0,10
ПП, гПа	10	147,24±6,43	149,58±4,14
	30	165,56±3,40	163,65±7,52
МУ, гПа	10	7,08±0,34	7,29±0,22
	30	8,14±0,33	8,29±0,38
РР, мДж	10	66,89±3,30	67,42±2,63
	30	75,09±3,01	73,92±2,38
<i>12-месячные</i>			
УСП, мк/Н	10	2,26±0,06	2,20±0,06
	30	2,52±0,10	2,49±0,10
ПП, гПа	10	167,04±5,46	166,89±2,88
	30	166,87±5,09	166,17±6,65
МУ, гПа	10	7,60±0,29	7,61±0,17
	30	6,51±0,22	6,59±0,31
РР, мДж	10	90,25±4,46	92,17±2,86
	30	94,02±4,41	91,43±2,65

Примечания: 1. УСП – удельная стрела прогиба; ПП – предел прочности; МУ – модуль упругости; 2.\*  $p < 0,05$ .

других серий (кроме Л) эти показатели отличались от контроля на 2,26–8,24 %.

С увеличением количества сеансов гиперавитаии до 30 были отмечены несколько иные явления. Удельная стрела прогиба была сниженной относительно контроля в серии О-2 на 16,26 % ( $p < 0,05$ ), в сериях О-2, О-3 и Л на 4,56; 4,36 и 3,87 % (везде  $p > 0,05$ ) соответственно. Предел прочности превышал значения в контроле во всех сериях: на 16,52 % ( $p < 0,05$ ) в серии О-1, на 8,55 % ( $p < 0,05$ ) в серии О-2, на 10,11 % ( $p < 0,05$ ) в серии О-3 и на 6,89 % ( $p > 0,05$ ) в серии Л. Показатель работы разрушения у костей крыс разных групп ( $M \pm m$ )

крыс серии О-1 был больше, чем в контроле, на 37,48 % ( $p < 0,05$ ). У животных других серий выраженность изменения работы разрушения была меньшей. Так, в серии О-3 этот показатель превышал данные контроля на 22,32 % ( $p < 0,05$ ), в серии Л – на 11,39 % ( $p < 0,05$ ), в серии О-2 – на 3,85 % ( $p > 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что воздействие повторяющихся гравитационных перегрузок в течение 10 дней вызывает у 2-месячных крыс снижение прочности и жёсткости плечевых костей (по данным модуля упругости), что свиде-

крыс			
О-1	О-2	О-3	Л
9,43±0,41	9,45±0,04	9,21±0,26	9,44±0,11
4,81±0,19*	5,51±0,21	5,52±0,26	5,55±0,20
88,65±3,37*	99,79±1,95*	101,02±4,18	94,23±4,26*
137,42±4,56*	129,39±2,44*	131,25±4,06*	127,41±3,66
4,52±0,19*	4,74±0,11	5,12±0,18	4,35±0,11*
6,27±0,25	6,39±0,16	6,14±0,25	5,98±0,25
60,02±2,91	60,72±2,84	56,42±2,78	59,82±2,46
75,66±3,71*	60,17±2,14	70,88±2,63*	64,54±2,08*
3,55±0,09	3,39±0,16	3,59±0,14	3,67±0,14
2,91±0,11*	2,74±0,12	2,58±0,10	2,70±0,10
143,58±2,73	137,02±2,33*	139,17±4,05	154,14±4,65
159,77±4,74	174,17±4,60	192,37±6,34*	175,72±7,34
6,50±0,28	6,71±0,18	6,47±0,17*	7,70±0,37
7,31±0,34	8,82±0,34	8,69±0,22	8,01±0,36
78,31±3,73*	67,96±2,11	67,70±3,32	73,32±3,10
83,84±2,49*	69,83±1,61	80,85±2,29	77,22±1,71
2,13±0,09	2,13±0,04	2,10±0,07	2,27±0,08
2,18±0,06	2,43±0,09	2,61±0,06	2,41±0,09
193,43±3,95*	172,16±7,04	178,54±4,49	187,20±2,26*
176,25±7,50	159,81±2,69	157,45±3,91	163,57±3,76
8,92±0,34*	8,07±0,34	8,25±0,22	8,75±0,19*
6,83±0,21	5,87±0,18	6,22±0,23	5,94±0,23
86,12±3,76	82,91±3,35	88,59±2,79	95,75±3,45
105,78±4,79	90,04±2,65	87,50±2,99	98,72±4,57

PP – работа разрушения.

льствует о снижении способности костей сопротивляться деформации и разрушению под действием гипергравитации. Увеличение кратности действия перегрузок до 30 у животных этой возрастной группы приводит к возрастанию прочности плечевых костей и работы, затрачиваемой на преодоление сопротивления разрушению и деформации, что сочетается со снижением пластичности костей.

При исследовании пластических свойств плечевых костей крыс 6-месячного возраста серии О-1 выявлено незначительное изменение трёх из четырёх изучавшихся параметров, кроме работы разрушения, которая была увеличена по сравнению с контролем на 17,07 % ( $p < 0,05$ ), что указывает на повышение устойчивости к ударным воздействиям. В сериях животных, где использовали способы повышения устойчивости к действию перегрузок, работа разрушения находилась в пределах контрольных значений (серии О-2 и О-3) либо незначительно превосходила их (на 8,75 %,  $p > 0,05$ , серия Л).

С увеличением кратности действия гравитационных перегрузок до 30 выраженность изменений нарастает. Значения удельной стрелы прогиба и работы разрушения животных серии О-1 превышали таковые животных серии К-1 на 13,74 % ( $p < 0,05$ ) и 11,65 % ( $p < 0,05$ ) соответственно, что свидетельствует о повышении эластичности костей. В то же время в сериях О-2, О-3 и Л первый параметр отличался от контроля не более чем на 3,79 %. Наименьшие изменения работы разрушения отмечены у крыс серии Л, где она была больше, чем в контроле, на 4,46 % ( $p > 0,05$ ). Модуль упругости плечевых костей животных серии О-1 был ниже контрольных значений на 10,16 % ( $p > 0,05$ ).

У 12-месячных животных серии О-1 после десятого сеанса наблюдали незначительное снижение удельной стрелы прогиба и работы разрушения, достоверное увеличение предела прочности и модуля упругости, которое, в сравнении с контролем, составило 15,80 и 17,35 % ( $p < 0,05$ ) соответственно.

### Литература

1. Основы космической биологии и медицины; под ред. О.Г. Газенко, М. Кальвина. Т. 2. – М.: Наука, 1975. – 420 с.
2. Кутя С.А. Органнне характеристики костей крыс под влиянием гравитационных перегрузок / С.А. Кутя // Медицина сегодня и завтра. – 2009. – № 1. – С. 18–21.
3. Кутя С.А. Влияние гравитационных перегрузок на ультраструктуру минерального компонента костей в эксперименте / С.А. Кутя // Клін. анатомія та оперативна хірургія. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 25–28.

В остальных сериях эти показатели также были выше контрольных на 3,16 % ( $p > 0,05$ ) и 6,07 % ( $p > 0,05$ ) в серии О-2, на 6,98 % ( $p > 0,05$ ) и 8,34 % ( $p > 0,05$ ) в серии О-3, на 12,17 % ( $p < 0,05$ ) и 15,02 % ( $p < 0,05$ ) в серии Л. Известно, что предел прочности и модуль упругости являются параметрами, характеризующими кость как материал [9], и отражают состояние как минерального, так и органического матрикса кости [8]. Из этого можно заключить, что гипергравитация вызывает количественные и качественные изменения как органического, так и минерального компонентов плечевых костей у 12-месячных животных.

После 30-кратного воздействия гравитационных перегрузок достоверных отклонений от контроля ни в одной из серий выявлено не было, что свидетельствует об адаптации костной ткани плечевых костей к действию перегрузок, хотя отмечали значительное возрастание работы разрушения: на 24,32 % ( $p > 0,05$ ) в серии О-1 по сравнению с контролем.

### Выводы

Гипергравитация вызывает изменение пластических свойств плечевых костей крыс и как материала, и как самой конструкции, что свидетельствует о наличии количественных и качественных изменений в органическом и минеральном матриксе костей. Направленность и степень выраженности изменений зависят от возраста животных, кратности воздействия гравитационных перегрузок и способа повышения устойчивости к ним. Менее выраженные изменения возникают при использовании глутаргина после 10-дневного эксперимента и липофлавона после 30 дней.

В перспективе планируется проведение многомерного регрессионного анализа с целью определения факторов, влияющих на пластические параметры костей, и прогнозирования изменения прочностных свойств костей при изменении каждого из них в условиях моделируемой гипергравитации.

4. Возрастные особенности длинных трубчатых костей крыс при воздействии гравитационных перегрузок и при использовании физического метода защиты / В.С. Пикалюк, А.Т. Чернов, С.А. Кутя, И.А. Верченко // Вісник морфології. – 2006. – № 2. – С. 177–180.

5. Пат. 35792 Україна, МПК А 61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.О., Коняєва О.І. – № 200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008. Бюл. № 19.

6. Пат. 16546 Україна, МПК А 61В10/00. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях / Мостовий С.О., Пикалюк В.С. – № 200509257; заявл. 3.10.2005; опубл. 15.03.2006. Бюл. № 3.

7. Пат. 37164 Україна, МПК А 61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень препаратом «Ліпофлавіон» в експерименті / Пикалюк В.С., Мороз Г.О., Кутя С.А., Коняєва О.І. – № 200804002; заявл. 31.03.2008; опубл. 25.11.2008. Бюл. № 22.

8. Ковешников В.Г. Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей / В.Г. Ковешников, В.И. Лузин // Укр. морф. альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 46–51.

9. Ступаков Г.П. Костная система и невесомость / Г.П. Ступаков, А.И. Воложин // Проблемы космической биологии. – М.: Наука, 1989. – Т. 63. – 184 с.

**С.А. Кутя**

#### **БИОМЕХАНИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КІСТОК ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ СПОСОБІВ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ ДО ДІЇ ГРАВІТАЦІЙНИХ ПЕРЕВАНТАЖЕНЬ**

Наведені результати дослідження біомеханічних властивостей кісток щурів різного віку, що зазнавали впливу гіпергравітації на тлі застосування ліпофлавіону, глутаргіну та його комбінації з фізичним захистом. Встановлено, що гравітаційні перевантаження викликають зміни властивостей кісток і як конструкції, і як матеріалу. Направленість і ступінь вираженості змін залежать від віку тварин, кратності дії гравітаційних перевантажень і способу підвищення стійкості до них. Менш виражені зміни виникали при застосуванні глутаргіну після 10-денного експерименту і ліпофлавіону після 30 днів.

**Ключові слова:** гіпергравітація, біомеханічні властивості кісток, стійкість.

**S.A. Kutya**

#### **BIOMECHANICAL PROPERTIES OF VARIOUS AGES RATS BONES WHEN USE OF METHODS INCREASING RESISTANCE TO GRAVITATIONAL OVERLOADS**

Article contains results of investigation of effects of hypergravity and methods increasing resistance to it on biomechanical properties of various ages rats bones. It is revealed that hypergravity affects both material and constructive properties of bones. Direction and evidence of changes depend on rat age, hypergravity multiplicity and methods increasing resistance to it. Less expressed changes appeared on application of glutargin after 10 days and lipoflavon after 30 days.

**Key words:** hypergravity, biomechanical properties of bones, resistance.

Поступила 23.03.10

УДК 340.6 : [ 616.5-018.26 + 616.74 ]-079.6

*В.К. Сокол*

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КОЛЛАГЕНА 1-ГО ТИПА В ДЕРМЕ В ТЕЧЕНИЕ СУТОК ПРИ МЕХАНИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ КОЖИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Харьковский национальный медицинский университет*

В эксперименте на крысах оценивали динамику изменения содержания коллагена в дерме в крае раны в течение первых суток после её нанесения. Установлено закономерное снижение содержания коллагена 1-го типа в дерме в зависимости от времени, прошедшего после нанесения травмы, что можно использовать для судебно-медицинской диагностики повреждений мягких тканей.

**Ключевые слова:** *судебная медицина, механическая травма, коллагеновые волокна.*

Смертность от механической травмы занимает одно из ведущих мест в общей структуре смертности населения планеты [1–3]. Первыми с травмирующим агентом встречаются мягкие ткани, и именно их повреждения несут в себе информацию о времени получения травмы. Для судебной медицины это означает всё возрастающее значение изучения прижизненности и давности повреждений.

В настоящее время из-за участившихся случаев массовой гибели людей в условиях техногенных катастроф и локальных вооружённых конфликтов механическая травма встречается всё более часто [4]. В работах зарубежных авторов подтверждается большая роль тупой механической травмы в смертности населения [5–11]. Особенно тревожит тот факт, что от травматических повреждений гибнет значительная часть трудоспособного населения, а также дети [4, 9, 10]. В связи с этим тупая механическая травма – социально-экономическая проблема, разработка которой требует усилий судебно-медицинских экспертов, особенно в изучении её давности и прижизненности – вопросов, составляющих предмет интереса следственных органов.

Одним из наиболее часто встречающихся видов повреждений, причинённых тупым твёрдым предметом, являются кровоподтёки, возникающие вследствие кровотечения из мелких повреждённых сосудов в прилежащие мягкие ткани. Кровоподтёки – объективные показатели механическо-

го воздействия – указывают на место приложения силы, в некоторых случаях позволяют определить особенности орудия и практически всегда указывают на насилие.

Целью данной работы была оценка динамики изменения содержания коллагена в дерме, в крае раны, в течение первых суток после её нанесения.

**Материал и методы.** Материалом исследования служили гистологические срезы тканей экспериментальных животных – крыс линии Вистар. При проведении исследования соблюдали принципы Хельсинской декларации, принятой Генеральной ассамблеей ВООЗ, требовая «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и другими научными целями» (Страсбург, 1986). Дозированное механическое повреждение наносили в области задних конечностей. Забой животных происходил в первые сутки, при этом формировался различный временной интервал между травмой и смертью животного.

Для постановки иммуногистохимической реакции использовали моноклональные антитела (МКА) к коллагену 1-го типа крысы, полученные на кроликах (фирма «Имтек», Москва); образующийся иммунный комплекс антиген – антитело визуализировали с помощью люминесцентной сыворотки морской свинки к иммуноглобулинам кролика (фирма «Имтек»).

Препараты изучали с помощью микроскопа «Axioscop-40» (Zeiss, ФРГ). Интенсив-

© *В.К. Сокол.*

ность свечения дермы в области механической раны и с аналогичного участка другой, неповреждённой конечности устанавливали согласно методике [12].

**Результаты и их обсуждение.** У животных, выведенных из эксперимента сразу после нанесения повреждения, интенсивность свечения дермы в участках, примыкающих к раневой щели, и в неповреждённых участках на противоположной конечности визуально не различалась. Морфометрические данные подтверждают, что содержание коллагена 1-го типа в образцах повреждённой и неповреждённой кожи было одинаковым. Через 15 мин после осуществления пореза мягких тканей бедра крысы отмечается интенсивное свечение и некоторое распрямление коллагеновых волокон дермы, что, вероятно, является следствием происходящих коагуляционных процессов (рис. 1). Морфометрическое исследование

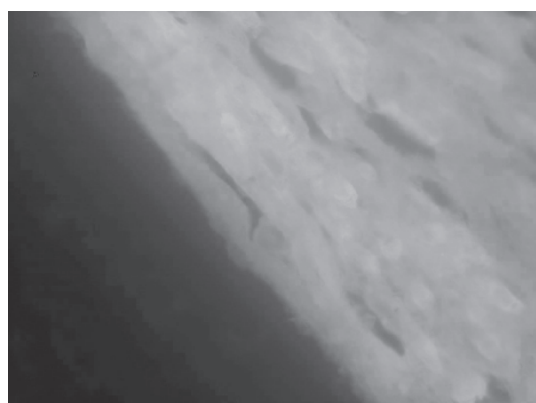


Рис. 1. Интенсивное свечение коллагена в дерме участка кожи на краю раны через 15 мин после формирования раны. Распрямление коллагеновых волокон. Иммуногистохимическая реакция на коллаген 1-го типа с люминесцентной визуализацией,  $\times 100$

также свидетельствует об увеличении интенсивности свечения коллагеновых волокон (таблица). При этом в контрольных образцах интенсивность люминесцентного свечения несколько понижается.

Через 1,5 ч картина изменяется: как на поражённой, так и на неповреждённой конечностях интенсивность свечения коллагеновых волокон понижается, причём на поражённой конечности свечение коллагена остаётся более интенсивным, чем на неповреждённой. Между отдельными коллагеновыми волокнами пространство расширяется, что свидетельствует о наличии отёка дермы.

Через 3 ч после нанесения повреждения расслаивание коллагеновых волокон прогрессирует, интенсивность свечения активно снижается, что, очевидно, обусловлено лизисом коллагена в связи с развитием воспалительной реакции и появлением нейтрофилов с протеолитическими ферментами. Коллаген дермы неповреждённой конечности, наоборот, даёт более интенсивное свечение как относительно предыдущего срока (вероятно, отражает начало компенсаторного коллагеносинтетического процесса в неповреждённой конечности), так и относительно коллагена дермы повреждённой конечности в данном сроке.

В последующие сроки интенсивность люминесцентного свечения в дерме неповреждённой конечности увеличивалась, причём в сроке до 5 ч быстрее, чем в период после 5 и до 24 ч. В повреждённых участках кожи, наоборот, уменьшалась интенсивность люминесцентного свечения в дерме, причём в сроке до 5 ч быстрее, чем после 5 ч (рис. 2).

Необходимо отметить, что указанные значения интенсивности люминесцентного свечения являются средними по группе,

*Интенсивность свечения коллагена (ИЛС) 1-го типа в дерме экспериментальных животных*

Время	Среднее ИЛС на участке		Среднее ОПЛС
	неповреждённом	повреждённом	
0 мин	0,3776 $\pm$ 0,001448	0,3792 $\pm$ 0,001097	1,001
15 мин	0,3395 $\pm$ 0,001746	0,4361 $\pm$ 0,003964	1,283
1,5 ч	0,2922 $\pm$ 0,005166	0,3701 $\pm$ 0,001001	1,282
3 ч	0,3021 $\pm$ 0,001566	0,2232 $\pm$ 0,001097	0,738
4 ч	0,3492 $\pm$ 0,020495	0,1762 $\pm$ 0,005301	0,527
5 ч	0,3992 $\pm$ 0,002142	0,2865 $\pm$ 0,001009	0,712
12 ч	0,4540 $\pm$ 0,000703	0,1620 $\pm$ 0,000569	0,352
17 ч	0,4591 $\pm$ 0,000664	0,1522 $\pm$ 0,000635	0,326
19 ч	0,4538 $\pm$ 0,000683	0,1574 $\pm$ 0,000131	0,343

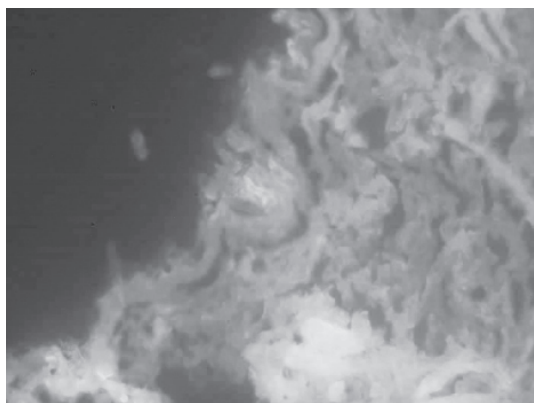


Рис. 2. Резкое ослабление интенсивности свечения коллагена в дерме участка кожи на краю раны через 19 ч после формирования раны. Иммуногистохимическая реакция на коллаген 1-го типа с люминесцентной визуализацией,  $\times 100$

тогда как у отдельных животных они варьируют, сохраняя описанные закономерности в динамике. Нами введён новый показатель, объединяющий показатели интенсивности свечения на повреждённой и неповреждённой конечностях – относительный показатель люминесцентного свечения (ОПЛС), который высчитывали путём деления показателя интенсивности свечения на поражённой конечности на показатель интенсивности свечения на неповреждённой конечности (таблица).

В течение первых суток после травмирования конечности, исходя из сроков выведе-

ния животных из эксперимента, можно выделить шесть периодов с характерными значениями ОПЛС: мгновенная смерть; 1,0–1,5 ч при ОПЛС, равном 1,25; 1,5–3,0 ч – 0,75; 3,0–5,0 ч – 0,5; 5,0–12 ч – 0,35; 12–24 ч – остаётся на уровне 0,35.

Используя иммуногистохимическую реакцию на коллаген 1-го типа, разработали методику оценки давности повреждения кожных покровов (в пределах одних суток) для использования в судебно-медицинской практике. При отсутствии признаков отёка, воспаления и ОПЛС = 1 можно предполагать мгновенную смерть пострадавшего; при наличии небольшого отёка и расправления коллагеновых волокон, при ОПЛС > 1 давность повреждения составляет 2 ч. Если в препарате кожи обнаруживаются отёк и небольшая лейкоцитарная инфильтрация, а ОПЛС = 0,75, давность повреждения составляет около 3 ч. Если ОПЛС = 0,7–0,5, временной интервал составляет 3–5 ч. Более низкие значения ОПЛС (около 0,35) характерны для второй половины суток.

Таким образом, в эксперименте на крысах при моделировании травмы мягких тканей установлено закономерное изменение во времени содержания коллагена 1-го типа в дерме, что можно использовать для разработки судебно-медицинской методики оценки давности повреждений мягких тканей (в пределах одних суток).

### Литература

1. Гайворонская В.И. Сравнительный анализ повреждений груди при различных видах травматического воздействия / В.И. Гайворонская // Судебно-медицинская экспертиза. – 1997. – № 2. – С. 36–38.
2. Эпидемиология и патоморфоз тупой механической травмы / Д.В. Горностаев, М.И. Лаптева, А.М. Потемкин и др. // Пробл. эксперт. в медицине. (Ижевск). – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 8–10.
3. Вавилов А.Ю. Перспективы возможного снижения погрешностей в методиках определения давности смерти / А.Ю. Вавилов, В.И. Витер // Актуальные вопросы судебной и клинической медицины. Вып. 9. – Ханты-Мансийск, 2007. – С. 106–110.
4. Пашинян Г.А. Судебно-медицинская экспертиза крупномасштабных катастроф / Г.А. Пашинян, Е.С. Тучик. – М., 1994. – 136 с.
5. Cameron I.C. Tram-related injuries in Sheffield / I.C. Cameron, N.J. Harris, N.J.S. Kehoe // Injury. – 2001. – V. 32, № 4. – P. 343–348.
6. Hernandez-Cueto C. Advances in the diagnosis of wound vitality: a review / C. Hernandez-Cueto, E. Girela, D.J. Sweet // Am. J. Forensic Med. Pathol. – 2000. – V. 21, № 1. – P. 21–31.
7. Analysis of fatal pedestrian injuries in Mexico City, 1994–1997 / C. Martha, F. Kraus Jess, V. Tovar, C. Carrillo // Injury. – 2001. – V. 32, № 4. – P. 279–284.
8. Kannus P. Unintentional Injury Deaths in an Adult Finnish Population from 1971–1997 / P. Kannus // Epidemiology. – 2000. – V. 11, № 5. – P. 598–602.
9. Kannus P. Epidemiology of adulthood injuries: a quickly changing injury profile in Finland. / P. Kannus // Clin. Epidemiol. – 2001. – V. 54, № 6. – P. 597–602.
10. Tasse J.L. Findings from the 1995 Cuyahoga County Trauma Registry and Trauma Foundation of Northeast Ohio (TFNO) / J.L. Tasse // Trauma. – 2001. – V. 50. – P. 171–172.
11. Pedestrian death following collisions with heavy goods vehicles / J.P. Wyatt, A. Martin, D. Beard, A. Busuttil // Med. Sci. Law. – 2001. – V. 41. – P. 21–25.

12. Пат. 46489 Україна, МКИ G 01N 33/00. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Губіна-Вакулик Г.І., Сорокіна І.В., Марковський В.Д., Кихтенко О.В., Купріянова Л.С., Сидоренко Р.В. – ХНМУ. – № 200906730; заявл. 26.06.09; опубл. 25.12.09, Бюл. № 24/2009. – 3 с.

**В.К. Сокол**

**ДИНАМІКА ВМІСТУ КОЛАГЕНУ 1-го ТИПУ В ДЕРМІ ПРОТЯГОМ ДОБИ ПРИ МЕХАНІЧНОМУ ПОШКОДЖЕННІ ШКІРИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

В експерименті на щурах оцінювали динаміку змін вмісту колагену в дермі вздовж краю рани протягом першої доби після її нанесення. Встановлено закономірне зниження вмісту колагену 1-го типу в дермі в залежності від часу, що можна використовувати для судово-медичної діагностики ушкоджень м'яких тканин.

**Ключові слова:** *судова медицина, механічна травма, колагенові волокна.*

**V.K. Sokol**

**DYNAMICS OF MAINTENANCE OF COLLAGEN 1 TYPE IN DERME DURING DAYS AT THE MECHANICAL DAMAGE OF SKIN IN EXPERIMENT**

The experimental research on rats estimated the dynamics of change of the maintenance of collagen in a derma in wound edge in a current of the first days is spent. An appropriate decline is set depending on time of the maintenance of collagen of 1 type in a derma that it is possible to use for medicolegal diagnostics of damages of soft tissues are received.

**Key words:** *forensic medicine, mechanical trauma, collagen fibres.*

*Поступила 22.01.10*

УДК 612.177.7

*И.В. Масберг, О.И. Попова\*, О.Н. Вербицкий\*\**

## СТРЕСС-ЗАВИСИМЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЧЕРНОМОРСКИХ АФАЛИН, УЧАСТВУЮЩИХ В ДЕЛЬФИНОТЕРАПИИ (ЧАСТЬ II)

*Центр спасения морских млекопитающих, г. Евпатория, Украина**\* Детский специализированный клинический санаторий «Искра»**МЗ Украины, г. Евпатория, Украина**\*\* Технион, Израильский технологический институт, г. Хайфа, Израиль*

Содержание эритроцитов, концентрация гемоглобина и величина гематокрита достоверно изменялись из-за квазистатических нагрузок как следствие вынужденного тактильного контакта с незнакомыми людьми. Возможной причиной этих изменений является комбинация таких факторов, как физический и психологический (социальный) стресс у дельфинов.

**Ключевые слова:** дельфинотерапия, гематологические показатели, стресс.

Содержание гемоглобина и эритроцитов в крови и величина гематокрита относятся к одним из констант организма человека и животных. Изменения этих параметров отражают функциональное состояние кровяно-транспортной системы крови. Известно, что показатели этой системы изменяются под влиянием как физического, так и психологического (социального) стресса [1].

Ранее мы показали, что вынужденный контакт дельфинов с незнакомыми людьми во время дельфинотерапии вызывает достоверные изменения в лейкоцитарной формуле крови у животных [2].

Целью данной работы явилось изучение динамики некоторых гематологических показателей крови у дельфинов с вынужденными квазистатическими нагрузками из-за тактильного контакта с незнакомыми людьми во время дельфинотерапии.

**Материал и методы.** С февраля по август 2008 г. семь клинически здоровых взрослых черноморских афалин, срок содержания которых в неволе составлял шесть лет, были обследованы в крытых бассейнах Евпаторийского дельфинария (1-я группа, два самца и одна самка ( $n_1=3$ ); объем бассейна 890 м<sup>3</sup>, глубина 4 м; морская вода из скважины, солёность 17 ‰) и Центра спасения и реабилитации морских млекопитающих на оз. Донузлав, западный Крым (2-я группа, три самца и одна самка ( $n_2=4$ ); объем бас-

сейна 800 м<sup>3</sup>, глубина 5 м; морская вода из озера, солёность 18 ‰). Условия пребывания дельфинов в бассейнах (тренировки, демонстрационные программы, сеансы дельфинотерапии) были такими же, как описано в работе [2].

Образцы крови отбирали из вен хвостового плавника с соблюдением правил асептики и антисептики. Пробы исследовали в клинико-диагностической лаборатории реанимации и интенсивной терапии (г. Евпатория). Определяли содержание эритроцитов и гемоглобина и величину гематокрита используя стандартные лабораторные методики [3]. Забор крови проводили в последний или в предпоследний день каждого месяца.

Если при  $N=n_1+n_2 \leq 15$  имелось равенство дисперсий, то использовали F-тест Фишера-Снедекора, если дисперсии были не равны, то использовали двухвыборочный t-тест Стьюдента. При  $N=n_1+n_2+n_i > 15$  выборку оценивали на равенство дисперсий по тесту Левена. Если дисперсии были не равны, то использовали непараметрические тесты. Если группы были не зависимы, то использовали тест Крускала и Уоллиса. Если группы были зависимы (то есть с повторными измерениями) и тест Моучли указывал на нарушение сферичности, то использовали тест Фридмана. При выявлении достоверных различий в группах использовали кри-

© И.В. Масберг и др.

терий Тьюки с целью множественного сравнения: между какими парами достоверные различия существуют. Ранговую корреляцию проводили по тесту Спирмана. При использовании параметрических методов результаты представляли как среднюю величину (Mean) и стандартное отклонение (SD), при использовании непараметрических методов результаты представляли как медиану (ME) и диапазон межквартили (ДМ<sub>[75 25]</sub>). Достоверность определяли при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Сравнение физических параметров дельфинов не выявило достоверных различий между группами (табл. 1). Индивидуальное сравнение

*Таблица 1. Физические параметры дельфинов 1-й и 2-й групп*

Дельфины	Возраст, лет	Масса, кг	Длина, м
1-я группа			
Ян	13	230	2,54
Гамма	12	200	2,38
Боня	5	120	2,43
М±SD	10,0±4,4	183±57	2,45±0,08
2-я группа			
Игмас	12	190	2,48
Дарт	13	220	2,65
Граф	17	220	2,60
Гера	6	180	2,34
М±SD	12,0±4,6	203±21	2,52±0,14
p	0,9763	0,1337	0,5409

*Примечание.* Дисперсии были равны.

*Таблица 2. Гематологические показатели крови дельфинов 1-й группы, представленные как медиана (ME) и диапазон межквартили (ДМ<sub>[75 25]</sub>)*

Показатель	Дельфины			p
	Ян (1)	Гамма (2)	Боня (3)	
	<i>Гемоглобин, г/л</i>			
ME	181,4	175,0	185,0	0,1697
ДМ <sub>[75 25]</sub>	15,1	18,4	15,1	
	<i>Гематокрит, %</i>			
ME	53,00	52,00	53,00	0,5174
ДМ <sub>[75 25]</sub>	1,75	3,75	4,25	
	<i>Эритроциты, 10<sup>12</sup>/л</i>			
ME	4,93	4,88	5,05	0,3466
ДМ <sub>[75 25]</sub>	0,29	0,37	0,30	

*Примечания:* 1. По семь измерений у каждого дельфина.

2. Различия между дельфинами оценивали по тесту Крускала и Уоллиса.

гематологических показателей крови дельфинов 1-й группы не выявило достоверных различий между ними (табл. 2). Во 2-й группе были выявлены достоверные различия в гематологических показателях крови (табл. 3). Содержание гемоглобина и величина гематокрита у дельфинов достоверно различались, тогда как по содержанию эритроцитов достоверных различий не выявлено.

Динамика исследуемых гематологических показателей крови дельфинов обеих групп за семь месяцев представлена в табл. 4.

Тест Фридмана показал, что у дельфинов 1-й группы содержание гемоглобина и эритроцитов и величина гематокрита достоверно не изменялись за наблюдаемый период времени, тогда как у дельфинов 2-й группы в этот же период времени названные параметры достоверно изменялись. Из 21 попарного сравнения между месяцами концентрация гемоглобина достоверно отличалась в шести парах, содержание эритроцитов – в четырёх парах и величина гематокрита – в четырёх парах.

Корреляционные связи между величиной гематокрита и концентрацией гемоглобина и между величиной гематокрита и содержанием эритроцитов в обеих группах представлены в табл. 5. Как видно из данных табл. 5, в обеих группах наблюдался высокий уровень достоверности корреляционной зависимости между изменениями показателей гематокрита и содержанием гемоглобина и отсутствием достоверной корреляции между величиной гематокрита и содержанием эритроцитов.

Изложенное может свидетельствовать о том, что достоверные изменения вязкости

Таблиця 3. Гематологічні показателі крові дельфінів 2-ї групи, представлені як медіана (МЕ) і діапазон межквартилі (ДМ<sub>[75 25]</sub>)

Показатель	Дельфіни				р
	Ігмас (1)	Дарт (2)	Граф (3)	Гера (4)	
<i>Гемоглобін, г/л</i>					
МЕ	177,1	186,1	187,8	170,0	0,0280*
ДМ <sub>[75 25]</sub>	14,9	12,3	14,6	16,7	
Сравнение	(1:3) (2:4) (3:4)				
<i>Гематокрит, %</i>					
МЕ	50,00	56,00	56,00	50,00	0,0393*
ДМ <sub>[75 25]</sub>	2,50	3,25	8,25	3,50	
Сравнение	(1:2) (1:3) (2:4) (3:4)				
<i>Еритроцити, 10<sup>12</sup>/л</i>					
МЕ	4,86	4,87	5,15	4,87	0,2494
ДМ <sub>[75 25]</sub>	0,38	0,36	0,36	0,26	
Сравнение					

Примечания: 1. По семь измерений у каждого дельфина.

2. \* Различия между дельфинами оценивали по тесту Крускала и Уоллиса; сравнение попарно между дельфинами – по критерию Тьюки.

Таблиця 4. Гематологічні показателі крові дельфінів 1-ї і 2-ї груп во время 7-місячного спостереження

Группа	Величина	02.08	03.08	04.08	05.08	06.08	07.08	08.08	р	
<i>Гемоглобін, г/л</i>										
1-я	МЕ	177,1	185,0	183,2	179,1	172,9	181,4	160,2	0,3920	
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	13,2	11,3	5,9	12,1	15,4	12,5	31,1		
2-я	МЕ	171,7	179,5	192,2	175,6	177,5	191,2	181,6		0,0317*
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	4,6	7,1	24,9	22,8	22,7	9,0	12,7		
Сравнение	(2:4) (2:7) (4:5) (4:6) (5:7) (6:7)									
<i>Гематокрит, %</i>										
1-я	МЕ	53,00	51,00	53,00	54,00	52,00	53,00	48,00	0,3455	
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	2,25	1,50	1,50	4,50	3,00	7,50	4,50		
2-я	МЕ	52,00	50,00	53,00	55,50	53,50	58,50	50,00		0,0085*
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	2,50	1,00	9,00	7,50	5,50	2,50	4,00		
Сравнение	(3:5) (3:7) (4:7) (5:8)									
<i>Еритроцити, 10<sup>12</sup>/л</i>										
1-я	МЕ	5,23	5,05	5,07	4,90	4,69	4,60	4,92	0,9760	
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	0,34	0,28	0,08	0,04	0,51	0,59	0,14		
2-я	МЕ	5,00	4,99	5,24	4,81	4,73	4,78	4,93		0,0330*
	ДМ <sub>[75 25]</sub>	0,08	0,42	0,58	0,24	0,27	0,39	0,27		
Сравнение	(2:6) (4:5) (4:6) (4:7)									

Примечание. \* Оценка повторных наблюдений – по тесту Фридмана; сравнение – по критерию Тьюки.

и кислородотранспортной функции крови у дельфинов, принимающих участие в дельфинотерапии, происходит из-за квазистати-

ческих нагрузок и вынужденных тактильных контактов с незнакомыми людьми. Возможной причиной этих изменений является

Таблиця 5. Рангова кореляція по тесту Спирмана між гематологічними показателями крові дельфінів 1-ї і 2-ї груп в часі 7-місячного спостереження (з лютого по серпень 2008 р.)

Група	Кореляційне порівняння між	r	t	p
1-я (n=3)	Гематокритом і гемоглобіном	0,6367	3,5990	0,0019*
	Гематокритом і еритроцитами	0,4039	1,9245	0,0694
2-я (n=4)	Гематокритом і гемоглобіном	0,5753	3,5860	0,0014*
	Гематокритом і еритроцитами	0,0363	0,1850	0,8546

Примітка. r – ранговий коефіцієнт кореляції; t – розрахована величина від r; \* достовірність визначали при рівні значимості  $p \leq 0,05$ .

комбінація фізичного і психологічного (соціального) стресу у дельфінів [1].

Дослідження, проведені на молодих морських лвах (*Eumetopias jubatus*), котрі знаходилися як в вільному плаванні, так і в ув'язненні, показали, що між вмістом еритроцитів і величиною гематокриту існує достовірний ( $p < 0,001$  в обох групах) негативний кореляційний зв'язок [4]. У наших дослідженнях відсутній кореляційний зв'язок між вмістом еритроцитів і величиною гематокриту. Для розуміння

механізмів, що визначають наявність або відсутність кореляційної залежності між цими показателями, потрібні додаткові дослідження.

Таким чином, вимушені тактильні контакти дельфінів з незнайомими людьми в часі дельфінотерапії викликали суттєві зміни в вмісті гемоглобіну і еритроцитів і величині гематокриту у дельфінів, тоді як відсутність тактильних контактів не супроводжувалося достовірними змінами досліджуваних показників.

#### Література

1. Reliability of hematocrit during rest and stress in healthy adults / C. Ring, S.M. Patterson, S.L. Bacon et al. // *Biol. Psychol.* – 2008. – V. 77, № 1. – P. 63–68.
2. Масберг І.В. Лейкоцитарна формула крові і швидкість осідання еритроцитів у чорноморських афалін (*Tursiops truncatus ponticus*) / І.В. Масберг, О.І. Попова, О.Н. Вербицький // *Експерим. і клін. медицина.* – 2010. – № 2. – С. 38–41.
3. Метод морфологічних досліджень елементів крові диференціальним підрахунком лейкоцитарної формули в процентах. Об'єднання клініко-лабораторних методів дослідження. Приказ МЗ СРСР №1175 від 21.11.1979 р.
4. *Thomton J.D.* Haptoglobin concentrations in free-range and temporarily captive juvenile Steller sea lions / *J.D. Thomton, J.A.E. Mellish* // *J. Wildl. Dis.* – 2007. – V. 43, № 2. – P. 258–261.

*І.В. Масберг, О.І. Попова, О.Н. Вербицький*

#### СТРЕС-ЗАЛЕЖНІ ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЧОРНОМОРСЬКИХ АФАЛІН, ЩО БЕРУТЬ УЧАСТЬ У ДЕЛЬФІНОТЕРАПІЇ

Вміст еритроцитів, концентрація гемоглобіну і величина гематокриту достовірно змінювалися із-за квазістатичних навантажень як наслідок вимушеного тактильного контакту з незнайомими людьми. Можливою причиною цих змін є комбінація таких чинників, як фізичний і психологічний (соціальний) стрес у дельфінів.

**Ключові слова:** дельфінотерапія, гематологічні показники, стрес.

*I.V. Masberg, O.I. Popova, O.N. Verbitskiy*

#### STRESS-RELATED HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF THE BLACK SEA BOTTLE-NOSED DOLPHIN PARTICIPATING IN DOLPHIN-ASSISTED THERAPY

Red blood cell count, hemoglobin concentration and hematocrit were significantly differed when the compelled contact of dolphins with unrecognized humans during dolphin-assisted therapy (DAT) were done. The possible reason of these of change is the combination both physical and psychological (social) stress in dolphins.

**Key words:** dolphin-assisted therapy, hematological parameters, stress.

Поступила 18.11.09

## ТЕРАПІЯ

УДК 616.12:001.5

*О.Д. Кучеренко*ОСОБЕННОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРТОНИЧЕСКИХ КРИЗОВ  
В СОВРЕМЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ (ЧАСТЬ I)*Харьковский национальный медицинский университет*

Показано, что для лечения неосложнённых гипертонических кризов используется пероральный приём таких препаратов, как каптоприл, клонидин, никардипин. Важное условие эффективности лечения – возможность наблюдения за больным. Лечение осложнённых гипертонических кризов необходимо проводить только в условиях стационара с использованием современных препаратов для внутривенного введения: никардипина, лабеталола, фенолдопама, эсмолола, нитропрусида натрия. Перспективным препаратом является клевидипин, который только начинает использоваться в клинической практике. Выбор препарата определяется клинической ситуацией, характером поражения органов-мишеней. Использование популярного до недавнего времени нифедипина не рекомендуется из-за частых побочных эффектов.

**Ключевые слова:** гипертонические кризы, диагностика, лечение.

Проблема профилактики, диагностики и лечения артериальной гипертензии (АГ) в современных условиях чрезвычайно актуальна в связи с высоким уровнем сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности, особенно среди трудоспособных лиц. В связи с этим представляется крайне важной разработка методов своевременной диагностики и лечения гипертонических кризов (ГК), которые могут дестабилизировать течение АГ и приводить к серьёзным поражениям органов-мишеней. ГК существенно ухудшают течение АГ у большинства больных [1–3]. ГК разделяются на осложнённые и неосложнённые [4, 5]. При осложнённом ГК развивается острое повреждение органов-мишеней, а при неосложнённом таких повреждений нет [4]. Острое повышение артериального давления (АД) может быть осложнением уже имеющейся АГ или развиваться в её отсутствие [5–7]. Согласно современным представлениям, развитие ГК начинается с выраженного повышения системного сосудистого сопротивления, что обусловлено воздействием гуморальных сосудосуживающих факторов [8, 9]. Однако до настоящего времени тонкие механизмы развития этого состояния изучены недостаточно [2]. Быстрое повышение АД вызывает

существенное увеличение механического напряжения сосудистой стенки и повреждение эндотелия [8, 9]. Это приводит к повышению проницаемости сосудистой стенки, активации свёртывающей системы крови, отложению фибрина [9, 10].

В стенке артериол при выраженном повышении АД развивается фибриноидный некроз [8, 9]. Дальнейшее сужение сосудов, выработка провоспалительных цитокинов связаны с активацией системы ренин-ангиотензин-альдостерон [9, 10]. На фоне уменьшения внутрисосудистого объёма крови, что связано с увеличением натрийуреза на фоне повышения АД, увеличивается высвобождение почечных сосудосуживающих веществ [2, 9, 10]. Считается, что сочетанное воздействие названных механизмов приводит к гипоперфузии органов-мишеней, развитию их дисфункции, обусловленной ишемией [2, 3, 10].

Клинически всё это проявляется в первую очередь в виде осложнённого ГК [11, 12]. Обычно в медицинской практике диагноз ГК с учётом клинических данных устанавливается при повышении систолического артериального давления (САД) > 179 мм рт. ст. и/или диастолического артериального давления (ДАД) > 109 мм рт. ст., независимо

© О.Д. Кучеренко.

от того, имеется ли повреждение органов-мишеней или нет [12]. Нужно, конечно же, учитывать, что ГК (как осложнённые, так и неосложнённые) могут развиваться и при более низких цифрах АД. Особенно это касается лиц с ранее нормальными цифрами АД.

Развитию ГК может способствовать острая кокаиновая интоксикация, патологическая беременность [11]. Согласно современным данным, при осложнённом ГК необходимо немедленно снизить АД до нормальных или субнормальных цифр, а при неосложнённом ГК АД может быть снижено постепенно в течение 1–2 суток [1, 2].

Касаясь клинических проявлений ГК, можно отметить, что у большинства больных его развитию (особенно осложнённого ГК) предшествует достаточно длительное течение АГ [3, 11].

К наиболее частым клиническим проявлениям осложнённого ГК относятся развитие гипертонической энцефалопатии, расслоение аорты, острый инфаркт миокарда, отёк легких, тяжёлая эклампсия, острая почечная недостаточность, острая послеоперационная АГ, микроангиопатическая гемолитическая анемия [13]. Поражения органов-мишеней особенно часто развиваются в том случае, если АД повышается быстро. В большинстве случаев повышение ДАД до 130 мм рт. ст. и более (за исключением детей и беременных женщин, у которых энцефалопатия развивается при повышении ДАД до 100 мм рт. ст.) приводит к поражениям органов-мишеней [13, 14].

При начальном обследовании больных с ГК необходимо, по возможности, тщательный сбор анамнеза. Требуется выяснить, какие препараты принимает больной. Если он страдает АГ, необходимо выяснить, какую антигипертензивную терапию он получает, как соблюдает врачебные рекомендации в целом, когда принимал последнюю дозу препарата [2, 15, 16]. Необходимо уточнить, использовал ли больной в последнее время амфетамин, ингибиторы моноаминоксидазы, кокаин, фенциклидин [2, 3]. Необходимо измерить АД на обеих руках с использованием манжеты соответствующего размера [15]. При обследовании больного проводят аускультацию лёгких (для исключения признаков застоя в лёгких), сердца, определяют характеристики пульса как на верхних, так и нижних конечностях [2, 12, 17]. Необходимо обследовать глазное дно для выявления очаговой неврологической симптоматики. Выявление очаговых невроло-

гических симптомов, как правило, свидетельствует о развитии нарушения мозгового кровообращения [16].

Если возникает острая сильная головная боль, то это может быть проявлением развития субарахноидального кровоизлияния [18]. При инфаркте миокарда у больных часто наблюдаются интенсивная боль за грудиной, одышка [19, 20]. Интенсивные боли в грудной клетке, разные характеристики пульса на симметричных артериях, особенно при обнаружении расширения тени средостения, могут свидетельствовать о развитии расслоения аорты. В этом случае необходимо проведение МРТ или КТ с контрастированием для исключения или подтверждения развития такого осложнения [21].

В настоящее время считается необходимым проведение ЭхоКГ у больных ГК при развитии у них острой левожелудочковой недостаточности. Это рекомендуется делать для того, чтобы установить наличие или отсутствие у больного систолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ), митральной регургитации или диастолической дисфункции [1, 2]. С учётом выявленных нарушений требуется проведение дифференцированного лечения (табл. 1) [18].

У многих больных с выраженной АГ при САД > 160 мм рт. ст. и/или ДАД > 110 мм рт. ст. не удаётся выявить поражения органов-мишеней, и тогда диагностируется неосложнённый ГК [18]. Оптимальным подходом к лечению таких больных считается применение препаратов, которые обеспечивают плавное снижение АД [2, 17]. При быстром снижении АД увеличивается риск развития осложнений в связи с ухудшением кровообращения в сердце, почках, сосудах головного мозга [22]. Слишком быстрое снижение АД, нарушающее ауторегуляцию в той или иной сосудистой области, может привести к развитию ишемии и инфаркта, обусловленных гипоперфузией [17, 24].

При развитии у больных осложнённого ГК необходимо снижать АД таким образом, чтобы не допустить снижения перфузии жизненно важных органов и не усугублять имеющиеся повреждения органов-мишеней [18, 24]. При лечении таких больных следует отдавать предпочтение длительной инфузии короткодействующих препаратов, что позволит более тщательно подобрать дозу применяемых средств [18].

Выбор конкретного препарата и его оптимальная дозировка определяются клинической ситуацией (таблица). Быстро-

*Дифференцированное лечение больных гипертоническим кризом  
в зависимости от клинических данных [2, 18, 22, 23]*

Клинические проявления поражений органов мишеней на фоне ГК	Рекомендуемые препараты и их дозировка	Побочные эффекты антигипертензивных препаратов
Острая почечная недостаточность и/или микроангиопатическая анемия	Никардипин  Фенолдопам	Отёки, тахикардия, головная боль, чувство дурноты, ощущение прилива  Головная боль, гипотония, головокружение, тошнота, ощущение приливов
Отёк лёгких у больных с систолической дисфункцией ЛЖ	Никардипин 5 мг/ч в/в с постепенным увеличением дозы каждые 5–15 мин; максимальная доза 15 мг/ч, или фенолдопам 0,1 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> в/в с постепенным увеличением дозы каждые 15–20 мин на 0,05–0,10 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> , максимальная доза 0,6 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> , или нитропруссид натрия по 0,5 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> в/в с увеличением до максимальной дозы 60 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> в сочетании с петлевыми диуретиками: фуросемид 20–40 мг в/в, при необходимости повторное введение через 30 мин; нитроглицерин 5 мг в/в, с увеличением дозы каждые 5–10 мин на 5 мкг/мин (максимальная доза 60 мкг/мин)	Отёки, тахикардия, головная боль, чувство дурноты, ощущение прилива  Головная боль, гипотония, головокружение, тошнота, ощущение приливов  Токсические эффекты, головная боль, тошнота, рвота, спастические сокращения мышц  Гипотензия, гипокалиемия, гиперурикемия  Гипотензия, тахикардия, головная боль, тахифилаксия
Отёк лёгких (остро развившийся) на фоне диастолической дисфункции ЛЖ	Эсмолол в/в, насыщающая доза 250–500 мкг/кг в течение 1 мин, затем 50–100 мкг·кг·мин <sup>-1</sup> в течение 4 мин, при необходимости повторить, или метопролол 5 мг в/в каждые 2 мин; возможно увеличение дозы до 15 мг,  или верапамил 5 мг в/в,  или лабеталол 0,5–2,0 мг/мин в/в медленно до общей дозы 20–50 мг, в сочетании с низкими дозами нитроглицерина и петлевыми диуретиками	Брадикардия, α-β-блокада I-й степени, бронхоспазм  Брадикардия, артериальная гипотензия, бронхоспазм α-V-блокада, брадикардия, гипотензия, остановка сердца  Артериальная гипотония, бронхоспазм, тошнота, желтуха
Острая ишемия миокарда	Лабеталол (дозировку см. выше) или эсполол в сочетании с нитроглицерином 5 мкг/мин капельно с постепенным увеличением дозы на 5 мкг/мин каждые 5–10 мин до максимальной дозы 60 мкг/мин	
Гипертоническая энцефалопатия	Никардипин, лабеталол или фенолдопам (дозировку см. выше), эналаприлат 1,25 мг в/в медленно каждые 6 ч (только в условиях стационара)	Гипотония, сердцебиение, цереброваскулярные нарушения, одышка
Острое расслоение аорты	Лабеталол или сочетание никардипина и эсмолола, или сочетание нитропрусида с эсмололом или метопрололом, вводимым в/в	
Преэклампсия или эклампсия	Лабеталол или никардипин	
Острая почечная недостаточность и/или микроангиопатическая анемия	Никардипин или фенолдопам	
Острая послеоперационная артериальная гипертензия	Эсмолол, никардипин или лабеталол	
Симпатические кризы или кризы, связанные с передозировкой кокаина	Верапамил, дилтиазем 5–10 мг в/в, или никардипин в сочетании с бензодиазепинами – диазепам 2–5 мг в/в	Гипотензия, брадикардия, α-V-блокада

действующие антигипертензивные препараты необходимо применять в условиях отделений интенсивной терапии, где имеются возможности и условия для наблюдения за больными [2, 18]. Согласно современным рекомендациям, начальная цель гипотензивной терапии – снижение ДАД на 10–15 % от исходного уровня или примерно до 110 мм рт. ст. в течение 30–60 мин [18, 25]. При развитии острого расслоения аорты следует стремиться быстро, в течение 5–10 мин, снизить АД. При этом САД должно быть снижено до уровня < 120 мм рт. ст., ДАД – до < 80 мм рт. ст. [25, 26]. Дальнейшая лечебная тактика сводится к следующему. Как только АД стабилизируется на фоне внутривенного введения антигипертензивных препаратов и будут отсутствовать признаки прогрессирования поражений органов-мишеней, целесообразно начать пероральный приём антигипертензивных средств [18, 25, 26].

Следует отметить, что в реальной клинической практике не существует согласованного подхода к лечению больных ГК. Это связано с тем, что в настоящее время отсутствуют результаты крупных рандомизированных клинических исследований по данной проблеме и в повседневной практике приходится опираться на мнение экспертов [2, 3, 18]. Наиболее полная современная работа по диагностике и лечению ГК принадлежит Р.Е. Marik et J. Varon [18] и отражает согласованное мнение авторов ряда крупных зарубежных медицинских центров и клиник [2, 18].

При лечении неосложнённых ГК допустимо использование пероральных антигипертензивных препаратов при обеспечении наблюдения за больными в условиях кратковременного пребывания в стационаре или амбулаторно. Лечение обычно начинают с приёма небольших доз антигипертензивных средств, постепенно увеличивая дозу (при необходимости) [11].

Цель лечения при неосложнённых ГК – снизить АД до 160/110 мм рт. ст. в течение нескольких часов или дней путём приёма стандартных антигипертензивных препаратов [11, 18]. Такая терапия должна обеспечить снижение среднего АД не более чем на 25 % в течение первых суток [11]. В настоящее время при лечении неосложнённого ГК применяются каптоприл, лабеталол, никардипин, клонидин [2, 11, 18]. Ингибитор АПФ каптоприл для лечения ГК назначается перорально в дозе 25 мг, при необходи-

мости через 1,5–2,0 часа доза может быть увеличена до 50–100 мг [27]. Наблюдения свидетельствуют, что минимальная эффективная доза составляет 25 мг [27] (при сублингвальном приёме). Антигипертензивное действие начинается через 15–30 мин, а максимальный эффект достигается через 60–90 мин [28]. Эффективным является назначение каптоприла по 12,5 мг через каждые 10–15 мин до достижения суммарной дозы 37,5 мг [2, 27]. При сублингвальном применении препарата максимальная концентрация в крови достигается через 45 мин, а при пероральном – только через 75 мин, то есть можно говорить о более целесообразном именно сублингвальном приёме препарата для купирования неосложнённого ГК [29]. Согласно опубликованным данным, сублингвальный приём каптоприла в дозе 25 мг приводит к снижению концентрации ангиотензина II, что сопоставимо с аналогичным эффектом 2 мг эналаприлата при внутривенном введении. Среди дигидропиридиновых антагонистов кальция следует особо выделить никардипин, эффективность применения которого при неосложнённых ГК изучалась в ходе проведения рандомизированных клинических исследований [27]. Обычная доза никардипина, которая может применяться каждые 8 часов до того момента, пока не будет достигнут необходимый уровень АД, составляет 30 мг [28]. Действовать препарат начинает через 30–90 мин после приёма.

В отличие от никардипина короткодействующий антагонист кальция нифедипин не рекомендуется использовать для купирования ГК [23]. Действует препарат быстро, максимальный эффект наступает уже через 10–15 мин [23]. Иногда наблюдается труднопрогнозируемое снижение АД, удлинение интервала QT, что может сопровождаться развитием инсульта, инфаркта, фибрилляцией желудочков [23, 30]. С учётом этого можно сделать важный вывод, что короткодействующий нифедипин должен использоваться при лечении АГ с большой осторожностью, если его применение вообще оправданно [30, 31]. При сравнительном изучении каптоприла (25 мг сублингвально) и нифедипина (10 мг перорально) у больных ГК было установлено, что при сопоставимой антигипертензивной активности побочные эффекты после приёма нифедипина наблюдались у 68 % больных, в то время как при применении ингибитора АПФ – только у 7 % больных [30, 31]. Кро-

ме того, имеются данные, что назначение нифедипина при значительном повышении АД сопровождается уменьшением вариабельности сердечного ритма, а при назначении каптоприла вариабельность сердечного ритма в подобной ситуации увеличивается [32]. Сублингвальный приём каптоприла сопровождается снижением индекса пульсации мозговых артерий (по данным транскраниальной доплерографии) до нормального уровня, а при сублингвальном применении нифедипина он увеличивается до патологического уровня [32, 33].

Лабеталол – это препарат, относящийся к группе  $\alpha$ - и  $\beta$ -адреноблокаторов, который начинает действовать в течение 60 мин после приёма. Начальная доза препарата составляет 200 мг. Повторный приём лабеталола возможен через каждые 3–4 часа [34].

### Литература

1. *Freed M.* Essential of Cardiovascular Medicine / M. Freed, C. Grines. – Birmingham, Michigan: Physycians Press, 1994. – P. 17–50.
2. *Гиляревский С.П.* Современные подходы к лечению гипертонических кризов / С.П. Гиляревский // Сердце. – 2008. – Т. 7, № 3. – С. 171–182.
3. *Grubb R.* Cardiology / R. Grubb, D. Newby. – Churchill–Livingstone, 2000. – P. 236–240.
4. *Laragh J.* Laragh's lessons in pathophysiology and clinical pearls for treating hypertension / J. Laragh // Am. J. Hypertens. – 2001. – V. 14. – P. 837–854.
5. *Macrae R.P.* Hypertensive crisis / R.P. Macrae, P.R. Liebson // Med. Clin. North Am. – 1986. – V. 70. – P. 740–767.
6. Malignant hypertension in the elderly / G.Y. Lip, M. Beevers, J.F. Potter, D.G. Beevers // QJM. – 1995. – V. 88. – P. 641–649.
7. The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure // Arch. Intern. Med. – 1993. – V. 153, № 2. – P. 118–125.
8. *Ault M.J.* Pathophysiological events leading to the end organ effects of acute hypertension / M.J. Ault, A.G. Ellrodt // Am. J. Emerg. Med. – 1985. – V. 3. – P. 10–15.
9. *Han Y.* Angiotensin II induces interleukin-6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors / Y. Han, M.S. Runge, A.R. Brasier // Circulation Response. – 1999. – V. 84. – P. 695–703.
10. Induction of interleukin-6 expression by angiotensin II in rat vascular smooth muscle cells / Y. Funakoshi, T. Ichiki, K. Ito, A. Takeshita // Hypertension. – 1999. – V. 34. – P. 118–125.
11. *Vaidya C.K.* Hypertensive urgency and emergency / C.K. Vaidya, J.R. Ouelette // Hospital Physician. – 2007. – March. – P. 43–50.
12. *Джанашия П.Х.* Неотложная кардиология / П.Х. Джанашия, Н.М. Шевченко. – М.: Бином, 2006. – С. 242–248.
13. *Zampaglione B.* Hypertensive urgencies and emergencies prevalence and clinical presentation / B. Zampaglione, C. Pascale, M. Marchisio // Hypertension. – 1996. – V. 27. – P. 144–147.
14. *Varon J.* The diagnosis and management of hypertensive crises / J. Varon, P.E. Marik // Chest. – 2000. – V. 118. – P. 214–227.
15. *Graves J.W.* Prevalence of blood pressure cuff sizes in a referral practice of 430 consecutive adult hypertensive's / J.W. Graves // Blood Press Monit. – 2001. – V. 6. – P. 17–20.
16. *Garcia J.G.* Current management of hypertensive emergencies / J.G. Garcia // Drugs. – 1987. – V. 34, № 2. – P. 263–278.
17. *Marik P.E.* Hypertensive Crisis. Challenges and Management / P.E. Marik, J. Varon // Chest. – 2007. – V. 131, № 6. – P. 1949–1962.
18. *Bennett N.M.* Hypertensive emergency: case criteria, sociodemographic profile, and previous care of 100 cases / N.M. Bennett, S. Shca // Am. J. Public Health. – 1988. – V. 78. – P. 636–640.
19. *Fromm R.E.* Congestive heart failure and pulmonary edema for the emergency physician / R.E. Fromm, J. Varon, L. Gibbs // J. Emerg. Med. – 1955. – V. 13, № 1. – P. 71–87.
20. *Gandchi S.K.* The pathogenesis of acute pulmonary edema associated with hypertension / S.K. Gandchi, J.C. Powers, A.M. Nomeir // NEJM. – 2001. – V. 344, № 1. – P. 17–22.

Клонидин относится к препаратам центрального действия, он – агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов. При использовании стандартного режима препарат принимают в начальной дозе 0,1–0,2 мг с последующим приёмом по 0,05–1,00 мг каждые 4 часа, пока не будет достигнут целевой уровень АД [35]. Допустимая суммарная максимальная доза – 0,7 мг [35].

Имеются сообщения об эффективности сублингвального приёма некоторых других препаратов (ингибиторов АПФ): эналаприла [36], блокаторов рецепторов ангиотензина II, лозартана и вальсартана при лечении больных с неосложнёнными гипертоническими кризами. На данном этапе развития гипертензиологии их использование не получило широкого распространения.

21. Should a moratorium be placed on sublingual nifedipine capsules given for hypertensive emergencies and pseudoemergencies / E. Grossman, F.H. Messerli, T. Grodzicki, P. Kowey // *JAMA*. – 1996. – V. 276, № 16. – P. 1328–1331.
22. *Strandgaard S.* Autoregulation of brain circulation in severe arterial hypertension / S. Strandgaard, J. Dlesen, E. Shinhoj // *BMJ*. – 1973. – V. 1. – P. 507–510.
23. *Khan I.A.* Clinical, diagnostic and management perspectives of aortic dissection / I.A. Khan, C.K. Nair // *Chest*. – 2002. – V. 122. – P. 331–328.
24. *Estrera A.L.* Outcomes of medical management of acute type B aortic dissection / A.L. Estrera, C.C. Miller, H.J. Safi // *Circulation*. – 2006. – V. 114. – P. 1384–1389.
25. *Castro del Castillo A.* Dose response effect of sublingual captopril in hypertensive crises / A. Castro del Castillo, M. Rodrigues, E. Gonsales // *J. Clin. Pharmacol.* – 1988. – V. 28, № 7. – P. 667–670.
26. Evaluation of the efficacy and safety of oral nicardipine in the treatment of urgent hypertension: a multicenter, randomized double-blind, parallel, placebo-controlled trial / G.B. Habib, L.M. Dunbar, R. Rodrigues et al. // *Amer. Heart J.* – 1995. – V. 129, №5. – P. 917–923.
27. *Furaih T.A.* Sublingual captopril – a pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation / T.A. Furaih, J.C. Mc Elnay, S. Elborns // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 1991. – V. 40, № 4. – P. 393–398.
28. Prolonged Q-T interval and ventricular fibrillation after treatment with sublingual nifedipine for malignant hypertension / F.P. Peters, C. de Zwaan, L. Kho et al. // *Arch. Intern. Med.* – 1997. – V. 157, № 22. – P. 2665–2666.
29. *Germici R.* A comparison of safety and efficacy of sublingual nifedipine in hypertensive crisis / R. Germici, Y. Karakoc, A. Ersoy // *Jnt. J. Angiol.* – 1990. – V. 8, № 3. – P. 147–149.
30. *Wolk R.* Nifedipine and captopril exert divergent effects on heart rate variability in patients with acute episodes of hypertension / R. Wolk, P. Kulakovski, L. Ceremuzynski // *J. Hum. Hypertension*. – 1996. – V. 10, № 5. – P. 327–332.
31. *Gemici K.* Evaluation of the effect of the sublingually administered nifedipine and captopril via transcranial Doppler ultrasonography during hypertensive crisis / K. Gemici, M. Baran // *Blood Press*. – 2003. – V. 12, № 1. – P. 46–48.
32. *Gonzalez E.R.* Dose response evaluation of oral labetalol in patients presenting to the emergency department with accelerated hypertension / E.R. Gonzalez, M.A. Peterson, E.M. Racht // *Ann. Emerg. Med.* – 1991. – V. 20, № 4. – P. 333–338.
33. *Houston M.C.* Treatment of hypertensive emergencies and urgencies with oral clonidine loading and titration / M.C. Houston // *Arch. Intern. Med.* – 1986. – V. 146, № 3. – P. 586–589.
34. *Pose Reino A.* Sublingual enalapril in hypertensive crisis. A preliminary study / A. Pose Reino, J.R. Gonzalez-Juanatey // *An. Med. Intern.* – 1980. – V. 8. – P. 421–423.
35. *Gokel G.* A comparison of the effectiveness of sublingual losartane, sublingual captopril and sublingual nifedipine in hypertensive urgency / G. Gokel, S. Satar, S. Paydas // *Turk. J. Med. Sci.* – 1999. – V. 29. – P. 655–650.
36. Sublingual valsartan in hypertensive urgency / G. Gokel, S. Paydas, G. Kuvandik, N. Alparslan // *Turk. J. Med. Sci.* – 2001. – V. 31. – P. 565–567.

**О.Д. Кучеренко**

#### ОСОБЛИВОСТІ ЛІКУВАННЯ ГІПЕРТОНІЧНИХ КРИЗІВ У СУЧАСНІЙ І КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ. ЧАСТИНА 1

Показано, що для лікування неускладнених гіпертонічних кризів використовується пероральний прийом таких препаратів, як каптоприл, клонідин, нікардипін. Важлива умова ефективності лікування – можливість спостереження за хворим. Лікування ускладнених гіпертонічних кризів необхідно проводити тільки в умовах стаціонара з використанням сучасних препаратів для внутрішньовенного введення: нікардипіну, лабеталолу, фенолдопаму, есмололу, нітропрусиду натрію. Перспективним препаратом є клеvedипін, що тільки починає використовуватися в клінічній практиці. Вибір препарату визначається клінічною ситуацією, характером ураження органів-мішеней. Використання популярного донедавна препарату ніфедипіну не рекомендується через часті побічні ефекти.

**Ключові слова:** гіпертонічні кризи, діагностика, лікування.

**О.Д. Kucherenko**

#### PECULIARITIES TREATMENT OF HYPERTENSIVE CRISES IN MODERN CLINICAL PRACTICE. PART I

It is shown, that for the patients with complicated hypertensive crises are necessary following drugs: captopril, clonidine or nicardipin. The nicardipine, esmolol, fenoldopam, labetalol, natrium nitroprusside are necessary for the patients with complicated hypertensive crises. The use of medicines are determined by clinical situation. The new drug clevidipine is very perspective for the treatment of the patients with hypertensive crises. Nifedipine is not recommended for the treatment of the patients with hypertensive crises because the complications are very often.

**Key words:** hypertensive crises, diagnostics, treatment.

Поступила 15.02.10

УДК 616.12-008.46-036.1-06:616.12-005.4-092:612.017

*М.Н. Кочуева, А.С. Шалимова, Г.И. Кочуев, А.П. Браславская*

## РОЛЬ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Представлены данные о роли иммунновоспалительной активации в механизмах развития хронической сердечной недостаточности, изложены современные представления об участии цитокинов в механизмах ремоделирования сердца у больных атеросклерозом, обоснована необходимость изучения роли факторов иммунного воспаления в развитии диастолической сердечной недостаточности.

**Ключевые слова:** *иммунновоспалительная активация, цитокины, хроническая сердечная недостаточность.*

В последние годы взгляды на патогенез хронической сердечной недостаточности (ХСН) претерпели существенные изменения. Возрос интерес к нейрогуморальной модели развития ХСН, который базируется на современных представлениях не только в области кардиологии, но и во многих других сложных дисциплинах, таких как эндокринология, иммунология, молекулярная биология [1–4]. Одним из крупнейших достижений науки является создание учения о цитокинах – классе растворимых пептидных медиаторов иммунной системы, необходимых для её развития, функционирования и взаимодействия с другими системами организма [4]. Цитокины – это белки, вырабатываемые активированными клетками иммунной системы и являющиеся медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе, воспалении и межсистемных взаимодействиях. Цитокины, ответственные за индукцию иммунитета, одновременно являющиеся инициаторами воспалительного ответа, называются «провоспалительными» [4]. Особенность цитокиногенеза – секреция их практически всеми клетками, участвующими в иммунологических реакциях. К синтезу провоспалительных цитокинов способны и кардиомиоциты. Цитокины объединены в систему, основными компонентами которой являются клетки-продуценты цитокинов, сами цитокины, рецепторы к ним и клетки-мишени, несущие рецепторы к цитокинам. Провоспалительные цитокины являются одни-

ми из важнейших факторов иммунной системы, вовлечёнными в процессы ремоделирования миокарда, лежащего в основе прогрессирования ХСН [4, 5]. Более того, с системой цитокинов тесно связаны основные патоморфологические проявления ремоделирования миокарда, а так как повышение уровня цитокинов выявляют при ХСН различной этиологии, предполагают, что это общий механизм развития сердечной недостаточности (СН), не зависящий от этиологии [5]. Значение активности цитокинов в патогенезе ХСН не совсем ясно, так же остаются неуточнёнными причины активации системы цитокинов при ХСН. Большинство учёных считают, что изменения цитокинового звена иммунной системы являются причиной СН, а не её следствием [5, 6]. Молекулярно-клеточные механизмы ремоделирования миокарда под влиянием цитокинов остаются неизученными. Существует предположение о том, что деградация фибриллярного коллагена при ХСН связана с регуляцией провоспалительными цитокинами экспрессии тканевых ингибиторов металлопротеиназ, а кардиодепрессивный эффект последних связывают с цитокин-индуцированной продукцией кислородзависимых свободных радикалов, нарушением функций кальциевых каналов, изменением экспрессии в гладкомышечных клетках «индуцируемой» формы NO-синтазы [4, 7]. Содержание провоспалительных цитокинов у больных ХСН тесно связано с состоянием других факторов иммунной сис-

© М.Н. Кочуева и др.

темы: функциональной активностью клеточного звена иммунитета, продукцией хемоаттрактантов и экспрессией молекул адгезии [8]. Основными эффекторами клеточного иммунитета служат макрофаги, Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>) и полиморфноядерные гранулоциты [8–10]. Интенсивная продукция цитокинов обеспечивает активацию самих эффекторов (макрофагов, нейтрофилов, естественных киллеров), их амплификацию в иммунном ответе, координацию соотношения Т-хелперы-1/Т-хелперы-2, определяющего направление последующих иммунных реакций [4–6].

По мнению большинства исследователей, в основе современной теории прогрессирования СН лежит представление об активации иммунной системы и системном воспалении как о маркерах высокого кардиоваскулярного риска и неблагоприятного прогноза [11]. При этом эволюцию дисфункции левого желудочка во многом определяют именно провоспалительные цитокины, индуктором синтеза которых является активация моноцитов и макрофагов в плазме и межтканевой жидкости [4, 6, 11]. Цитокины разделяют на несколько групп. Открытие самого большого класса цитокинов – интерлейкинов, секреторных регуляторных белков, обеспечивающих медиаторные взаимодействия в иммунной системе и её связь с другими классами цитокинов, относится к 50-м годам прошлого столетия, однако и в настоящее время они во многом остаются «загадкой для исследователей», «чудо-молекулами» [8]. В условиях нормы цитокины, образуемые при первичном иммунном ответе, в системный кровоток не поступают, но принцип локальности нарушается при патологии, когда возникает генерализованная активация клеток иммунной системы. Результатом этого является повышение в сыворотке крови концентрации провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha_1$ ) [11–13]. Основными эффектами провоспалительных цитокинов являются ремоделирование сердца, отрицательное инотропное действие, нарушение эндотелийзависимой дилатации артериол, усиление процессов апоптоза КМЦ и клеток периферической мускулатуры, развитие сердечной кахексии [4, 6, 8]. Таким образом, системное воспаление является важным фактором патогенеза ХСН, но причины активации иммунной системы остаются неуточнёнными. Харак-

тер иммунных нарушений при ХСН изучен недостаточно [1, 4].

Воспалительному синдрому у больных с ХСН в современной кардиологии придаётся особое значение. Известно, что провоспалительные цитокины стимулируют синтез оксида азота в КМЦ путём индукции фермента iNOS. Индуцированная цитокинами форма оксида азота оказывает прямое токсическое действие на миокард, активирует процессы интерстициального роста и фиброза, способствующие повышению жёсткости миокарда и развитию диастолической дисфункции сердца. Адренергические агонисты, ангиотензин-II (АТ-II) и вазопрессин повышают экспрессию индуцированной цитокинами NO-синтазы в КМЦ. Кроме того, доказано, что ФНО- $\alpha_1$  индуцирует процессы запрограммированной гибели КМЦ, то есть апоптоза, утрачивающего в условиях патологии свой адаптивный характер, и усиливает процессы оксидативного стресса в них. Таким образом, у больных с ХСН снижается количество жизнеспособных КМЦ, что приводит к утрате функциональной способности миокарда и прогрессированию систолической и диастолической ХСН [14]. ФНО- $\alpha_1$ , ИЛ-6 и ИЛ-1 $\beta$  обладают способностью оказывать кардиодепрессивное действие и индуцировать гипертрофию миокарда, способную выступать морфологическим субстратом диастолической дисфункции сердца [14, 15]. Общее свойство этих цитокинов, являющихся признанными маркерами иммунной активации, – отрицательное инотропное действие [14, 16]. Имеются данные о том, что ФНО- $\alpha_1$  влияет на метаболизм и пролиферацию миокардиальных фибробластов, повышенная активность ФНО- $\alpha_1$  в которых может стимулировать экспрессию коллагеназы. Последняя может приводить к разрушению структуры коллагена и нарушению взаимосвязей между КМЦ, что является одним из этапов ремоделирования миокарда, лежащего в основе прогрессирования ХСН, в том числе её диастолического варианта [15, 17].

В развитии атеросклероза наблюдаются все этапы воспалительного процесса, а именно адгезия лимфоцитов и моноцитов к эндотелию, их хемотаксис в субинтимальный слой аорты, повышение пролиферации гладкомышечных клеток и эндотелиоцитов, фиброз и кальциноз зрелой атеросклеротической бляшки, а также синтез эндотелиоцитами ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha_1$ , поэтому начали исследовать роль иммуновоспалитель-

ных механизмов в развитии и прогрессировании атеросклероза [9, 15, 16]. В атеросклеротическом поражении сосудов воспалительный компонент имеет существенное значение, поэтому атеросклероз можно рассматривать как своеобразную форму хронического воспалительного процесса [9]. При этом признанными иммунологическими маркерами, являющимися предметом изучения в кардиологии, считаются провоспалительные цитокины, в первую очередь ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha_1$ , а патогенетическое значение в развитии атеросклероза придаётся именно гиперпродукции ИЛ-6 [16, 18, 19]. Продукция ИЛ-6 контролируется ИЛ-1, ФНО- $\alpha_1$  и другими цитокинами. Считают, что уровень ИЛ-6 в крови больных ИБС имеет прогностическое значение [16]. Установлено, что важную роль в развитии и прогрессировании атеросклероза играет активация эндотелиальных и гладкомышечных клеток, комплемента, образование провоспалительных медиаторов (цитокинов, факторов роста, окисленных липопротеидов низкой плотности) [3, 9]. Воспалительные процессы могут иметь большое значение при дестабилизации атеросклеротической бляшки, а развитие осложнений атеросклероза при стабильной и прогрессирующей стенокардии может быть связано с исходными уровнями маркеров воспаления в крови [3, 9, 14, 16]. Выделяемые из атеросклеротически изменённых тканей лимфоидные клетки обладают высокой способностью продуцировать большое количество провоспалительных цитокинов, повышение концентраций которых в крови у больных нестабильной стенокардией больше, чем при её стабильной форме. При этом из группы провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha_1$  считается маркером более выраженного воспалительного компонента и нестабильности атеросклеротической бляшки [13, 17]. ФНО- $\alpha_1$  повышает тромбогенную и вазоконстрикторную активность эндотелия, стимулирует экспрессию адгезивных молекул для активированных лейкоцитов и тромбоцитов, вызывает инфильтрацию сосудистой стенки воспалительными клетками [3, 4, 9].

Основой патофизиологических механизмов развития ХСН при ИБС является нейрогормональная активация, большую роль в которой играют симпатoadrenalовая система и ренин-ангиотензин-альдостероновая система [2]. Правильность этой концепции доказана достижениями в области патофизиологии, биохимии, клинической

фармакологии, кардиологии: улучшилась выживаемость больных с ХСН при использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторов, антагонистов рецепторов АТ-II [4, 7, 12]. Однако даже максимальная блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы не обеспечивает полную защиту от прогрессирования ХСН [12]. По-видимому, необходима одновременная блокада факторов иммунного воспаления, прежде всего провоспалительных цитокинов. Так, известно, что ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha_1$  стимулируют синтез оксида азота в КМЦ, который оказывает прямое токсическое действие на миокард, активирует процессы интерстициального роста и фиброза, вызывая отрицательные инотропные эффекты и геометрическое ремоделирование сердца [7, 19]. ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha_1$  играют важную роль в повышении коагуляции крови, нарушениях регуляции сосудистого тонуса, формировании дисфункции эндотелия. Перечисленные эффекты провоспалительных цитокинов при ИБС способствуют прогрессированию заболевания. Доказано, что ФНО- $\alpha_1$  при ИБС индуцирует апоптоз КМЦ, способствует структурным изменениям эндотелиоцитов, может вызывать некроз клеток и ускорять образование пристеночных тромбов, формируя так называемые «осложнённые» атеросклеротические бляшки [2, 3, 7, 15, 17]. Механизмы ИЛ-4 в развитии атеросклероза, ХСН и патологии сердечно-сосудистой системы в целом пока не определены. Сведения о способности ИЛ-4 ингибировать ремоделирование тканей стенок сосудов при атеросклерозе и уменьшать синтез фибриногена гепатоцитами позволяют отнести его к цитокинам, предположительно обладающим противовоспалительными эффектами. Как противовоспалительный цитокин ИЛ-4 обладает способностью подавлять секрецию цитокинов моноцитарного происхождения (ФНО- $\alpha_1$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6), снижать цитотоксичность макрофагов и синтез в них оксида азота индуцибельной NO-синтазой, ингибировать экспрессию молекул адгезии эндотелием. Существует мнение, что повышение уровня ИЛ-4 носит компенсаторный, контррегуляторный по отношению к провоспалительным цитокинам характер, а его концентрация в крови выступает в качестве фактора, стабилизирующего течение заболевания [18]. Одновременно в эксперименте на лабораторных животных показано, что уровень ИЛ-4 игра-

ет значительную роль в прогрессировании воспалительного компонента начальных атеросклеротических поражений, вызванных иммунизацией хитшоковым белком 65. Высказывается предположение о том, что в сосудистом русле ИЛ-4 может проявлять провоспалительную активность [18]. Данные литературы об участии ИЛ-4 в патогенезе атеросклероза, ИБС и ХСН малочисленны. Эти вопросы требуют дальнейшего изучения.

Имеются единичные сведения о расстройствах иммунного ответа у больных коронарным атеросклерозом в виде повышения активности гуморального звена иммунной системы и дефицита её Т-клеточного звена [3, 9]. Считают, что высокий уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) у больных прогрессирующей стенокардией может служить показателем прогрессирования атеросклероза и рассматриваться как фактор, повреждающий целостность монослоя эндотелиальных клеток

сосудов, в то время как отсутствие существенного повышения ЦИК может быть связано с их отложением в сосудистой стенке при активации атеросклеротического процесса или с усилением моноцитарного клиренса ЦИК из крови [3, 9].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о существенном вкладе иммунных механизмов в патогенез ХСН, при этом роль иммунных факторов в развитии диастолического варианта ХСН не изучена [20]. По результатам изучения участия факторов иммунного воспаления в развитии диастолического варианта ХСН [21] у больных ИБС и АГ выявлена положительная зависимость между уровнем ФНО- $\alpha_1$  и тяжестью диастолической СН. Изучение иммуновоспалительных механизмов начальных стадий диастолической ХСН будет способствовать разработке методов её ранней диагностики и своевременной патогенетической терапии, направленных на улучшение прогноза больных.

### Литература

1. Арутюнов Г.П. Микрофлора кишечника у больных хронической сердечной недостаточностью как возможный фактор возникновения и генерализации системного воспаления / Г.П. Арутюнов, Л.И. Кафарская, В.К. Власенко // Сердечная недостаточность. – 2003. – Т. 4, № 5 (21). – С. 256–260.
2. Бабов К.Д. Особенности иммунологического статуса больных с различными формами ишемической болезни сердца / К.Д. Бабов, В.А. Шумаков, В.В. Братусь // Укр. кардіол. журн. – 1995. – № 4. – С. 17–21.
3. Баркаган З.С. Воспалительная концепция атеротромбоза / З.С. Баркаган // Клин. геронтология. – 2005. – № 1. – С. 25–31.
4. Ольбинская Л.И. Роль системы цитокинов в патогенезе хронической сердечной недостаточности / Л.И. Ольбинская, С.Б. Игнатенко // Тер. архив. – 2001. – № 18. – С. 82–84.
5. Кремнева Л.В. Молекулярно-клеточные механизмы ремоделирования миокарда при сердечной недостаточности / Л.В. Кремнева, О.В. Абатурова // Клин. медицина. – 2003. – № 2. – С. 4–7.
6. Лукина Е.А. Система мононуклеарных фагоцитов и биологические эффекты провоспалительных цитокинов / Е.А. Лукина // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 1998. – № 5. – С. 7–13.
7. Хроническая сердечная недостаточность: Вопросы этиологии, эпидемиологии, патогенеза (гемодинамические, нейрогуморальные, иммунные, генетические аспекты), диагностики и лечения: учеб. пособие / В.В. Калюжин, О.В. Калюжин, А.Т. Тепляков, А.В. Караулов. – М.: Мед. информ. агентство, 2006. – 288 с.
8. Беленков Ю.Н. Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? / Ю.Н. Беленков, Ф.Т. Агеев, В.Ю. Мареев. // Сердечная недостаточность. – 2000. – № 4. – С. 135–138.
9. Братусь В.В. Воспаление как патогенетическая основа атеросклероза / В.В. Братусь, Т.В. Талаева // Укр. кардіол. журн. – 2007. – № 1. – С. 90–96.
10. Васильева Г.И. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами / Г.И. Васильева, И.А. Иванова, С.Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 11–17.
11. Визир В.А. Иммуновоспалительная активация как концептуальная модель формирования и прогрессирования сердечной недостаточности / В.А. Визир, А.Е. Березин // Тер. архив. – 2000. – Т. 72, № 4. – С. 77–80.
12. Гуревич М.А. Хроническая сердечная недостаточность: руководство для врачей / М.А. Гуревич. – М.: Мед. информ. агентство, 2005. – 280 с.
13. Жиронкина Н.П. Нейроиммунные эффекты интерлейкинов / Н.П. Жиронкина, Е.А. Олейникова // Междунар. мед. журнал. – 1999. – № 1. – С. 144–146.

14. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов / Е.Л. Насонов, М.Ю. Самсонов, Ю.Н. Беленков, Д. Фукс // Кардиология. – 1999. – № 3. – С. 66–71.
15. Ageing, TNF-alpha and atherosclerosis / H. Bruunsgaard, P. Skinhoj, A.N. Pedersen et al. // Clin. Exp. Immunol. – 2000. – V. 121. – P. 255–260.
16. *Bachetti T.* The dynamic balance between heart function and immune activation / T. Bachetti, R. Ferrari // Eur. Heart J. – 1998. – V. 19. – P. 681–682.
17. *Henriksen P.A.* Therapeutic inhibition of tumour necrosis factor  $\alpha$  in patients with heart failure: cooling an inflamed heart / P.A. Henriksen, D.E. Newby // Heart. – 2003. – V. 89. – P. 14–18.
18. *Opal S.M.* Anti-inflammatory cytokines / S.M. Opal, V.A. DePalo // Chest. – 2000. – V. 117, № 4. – P. 1162–1172.
19. *Sharma R.* The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide, and endothelin-1 / R. Sharma, A.J. Coats, S.D. Anker // Int. J. Cardiol. – 2000. – V. 72. – P. 175–186.
20. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction / T.E. Owan, D.O. Hodge, R.M. Herges et al. // N. Engl. J. Med. – 2006. – V. 355 (3). – P. 251–259.
21. Изменение содержания цитокинов в сыворотке у больных с диастолической сердечной недостаточностью / Е.Н. Амосова, Я.В. Шпак, А.В. Недождий, Л.В. Продусевич // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 4. – С. 62–64.

***М.М. Кочуєва, А.С. Шалімова, Г.І. Кочуєв, А.П. Браславська***

#### **РОЛЬ ІМУНОЗАПАЛЬНИХ МЕХАНІЗМІВ У РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ**

Наведені дані про роль імунзапальної активації в механізмах розвитку хронічної серцевої недостатності, викладені сучасні уявлення про участь цитокинів у механізмах ремоделювання серця у хворих атеросклерозом, обґрунтована необхідність вивчення ролі факторів імунного запалення в розвитку діастолическої серцевої недостатності.

***Ключові слова:*** імунзапальна активація, цитокини, хронічна серцева недостатність.

***M.N. Kochuyeva, A.S. Shalimova, G.I. Kochuyev, A.P. Braslavskaya***

#### **ROLE OF THE IMMUNE INFLAMMATION'S MECHANISMS IN DEVELOPMENT OF CHRONIC HEART FAILURE**

The article provides with the results of the role immune inflammation activating in the mechanisms of development of chronic heart failure, modern views about participating of cytokines in the mechanisms of remodelling of myocardium in patients with atherosclerosis, the necessity of study of role factors of immune inflammation is grounded in development of diastolic heart failure.

***Key words:*** immune inflammation activating, cytokines, chronic heart failure.

*Поступила 19.04.10*

УДК 616.12-005.4-056.1-092:612.123

*Ю.О. Ковальова*

## ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК АКТИВНОСТІ ЗАПАЛЬНИХ РЕАКЦІЙ І ЛЕПТИНУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ З ОЖИРІННЯМ

*Харківський національний медичний університет*

Обстежено 106 хворих на стенокардію з ожирінням. У досліджуваних хворих виявлено зміни цитокинової активності, які визначають наявність поточної запальної реакції незначної активності. Рівень лептину в сироватці крові хворих на стенокардію з ожирінням підвищувався одночасно з підвищенням маси тіла і був більше виражений у жінок. При супутньому ожирінні із стенокардією визначаються більш високі рівні прозапальних і знижені рівні протизапальних цитокінів, що може свідчити про патогенетичний вплив ожиріння на розвиток атеросклерозу через запальні механізми.

**Ключові слова:** стенокардія, цитокіни, лептин, С-реактивний протеїн, запалення, ожиріння.

В патогенезі різних захворювань, у тому числі і атеросклерозу, велике значення має запалення. Запальна теорія атеросклерозу підтверджується знаходженням в крові при ішемічній хворобі серця (ІХС) підвищених концентрацій маркерів запальної відповіді [1]. Першою ланкою до розвитку запалення стінки судини є фіксація комплексу антиген-антитіло на поверхні судин, що згодом призводить до потовщення внутрішнього прошарку артерії [1]. Такі епізоди запалення супроводжуються некрозом, сегментарною клітинною проліферацією серединного і внутрішнього прошарку, відкладенням ліпідів і кальцію, утворенням тромбів на патологічно змінених сегментах артерій. Властивості антигенів можуть набувати продукти обміну (парапротеїни, параглікопротеїни), а в ряді випадків і білки молекул інсуліну [2].

Ураженню ендотеліальних клітин сприяють гіперхолестеринемія, гіперглікемія, підвищення вмісту катехоламінів, імунних комплексів, а також інфекція. В ряді випадків серед гемодинамічних факторів, які уражають ендотелій, слід розглядати травматизацію ендотелію натиском крові в розгалуженнях артеріального русла, особливо виражену у хворих на артеріальну гіпертензію [3].

Індукторами запальної відповіді, що обумовлюють зміну фенотипу гладеньком'язових клітин медії із набуттям ними харак-

теру макрофагів, у тому числі хемотаксичних і хемоатрактантних властивостей, здатності до секреції протеази і проліферації, вважають вільні радикали, реактогенні форми кисню і ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ), які зазнали перекисного окиснення [4]. Зв'язування молекули оксиду азоту, який секретує ендотелій судин і є потужним вазодилататором, інгібує його дію і підсилює ендотеліальну дисфункцію.

Відмічається тісний взаємозв'язок ожиріння з розвитком ІХС, АГ, інсульту. З урахуванням того, що головною функцією жирової тканини є обмін тригліцеридів, дисліпідемія розцінюється як основний патологічний вплив ожиріння. Зараз появляється все більше даних, які дозволяють вважати генералізоване і абдомінальне ожиріння як стани, що супроводжуються запаленням з незначною активністю. Жирова тканина розглядається не просто як тканина для розміщення жиру, а як активний орган енергетичного гомеостазу. Введено термін «адипоцитокіни», щоб описати біоактивні фактори, які впливають на функцію інших тканин організму [5, 6]. Виходячи з цього, виявлення факторів запалення при атеросклерозі з ожирінням вважають актуальною проблемою.

Метою нашого дослідження було вивчення взаємозв'язку активності запальних реакцій і лептину у хворих на ІХС з ожирінням.

© Ю.О. Ковальова.

**Матеріал і методи.** Обстежено 106 хворих з верифікованим діагнозом ІХС, які знаходились на лікуванні в кардіологічних відділеннях міської клінічної лікарні № 27 м. Харкова. Хворі розподілені на чотири групи: 1-ша (контрольна) – 21 особа без клінічних чинників загострення ІХС і без супутньої патології; 2-га – 43 хворих із стабільною стенокардією II ФК з ожирінням; 3-тя – 31 хворий із стенокардією III ФК; 4-та – 32 хворих на нестабільну стенокардію з ожирінням. Середній вік хворих складав ( $61,2 \pm 6,7$ ) року. Групи пацієнтів були порівнянні за статтю і віком. Діагноз ІХС встановлювали на основі типових больових нападів, анамнезу захворювання, даних електрокардіографії, навантажувальних тестів, у деяких випадках – коронарографії. Ожиріння діагностували при визначенні індексу маси тіла більш  $30 \text{ кг/м}^2$ . Визначали співвідношення ОТ/ОС.

В дослідження не включали пацієнтів з гострим інфарктом міокарда, при наявності супутніх захворювань, які б могли вплинути на досліджувані показники, такі як злоякісні новоутворення, системні захворювання, захворювання легень, травного тракту і нирок в стадії загострення. При лікуванні в клініці хворі отримували традиційну терапію ІХС:  $\beta$ -адреноблокатори, антиагреганти, іАПФ, при больовому синдромі – нітрати.

Усім хворим проводився динамічний контроль ЕКГ, визначалися артеріальний тиск (АТ), частота серцевих скорочень (ЧСС), біохімічні показники крові (КФК, МВ-КФК, ЛДГ, АсАТ, АлАТ, білірубін; ліпідний профіль: загальний холестерин, холестерин ЛПНЩ, ЛПДНЩ і ЛПВЩ, три-

гліцериди; глюкоза, глікемічний рівень; сечовина, креатинін; С-реактивний протеїн – СРП); електролітні показники крові; проводився загальний аналіз крові і сечі. Цитокіни сироватки крові (інтерлейкіни – ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, фактор некрозу пухлин- $\alpha$  – ФНП- $\alpha$ ) і лептин визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних наборів тест-систем «Укрмедсервіс», Україна.

Отримані дані були статистично оброблені з використанням t-критерію Стьюдента.

Дослідження виконані у відповідності з Гельсінською декларацією.

**Результати та їх обговорення.** Порівняльна оцінка вмісту ФНП- $\alpha$  у хворих в залежності від ступеня ожиріння і виразності стенокардії показала, що при стабільній стенокардії II ФК його рівень складав ( $58,6 \pm 4,43$ ) пг/мл, що достовірно перевищувало показники контрольної групи (таблиця). В групі хворих зі стабільною стенокардією III ФК вміст ФНП- $\alpha$  був значно підвищеним і складав ( $62,27 \pm 6,07$ ) пг/мл, а при нестабільній стенокардії – ( $67,52 \pm 7,75$ ) пг/мл, що достовірно ( $p < 0,05$ ) перевищувало показники контрольної групи.

Рівень ІЛ-1 $\beta$  у пацієнтів зі стабільною стенокардією II ФК з ожирінням достовірно перевищував такий у здорових осіб. Рівень ІЛ-1 $\beta$  у хворих зі стабільною стенокардією III ФК з ожирінням був підвищеним у порівнянні з хворими зі стенокардією II ФК і складав ( $123,60 \pm 34,52$ ) пг/мл, а при нестабільній стенокардії – ( $203,85 \pm 30,35$ ) пг/мл, що достовірно в порівнянні з хворими із стабільною стенокардією ( $p < 0,05$ ).

Аналіз вмісту ІЛ-4 в залежності від прогресування ступеня ФК стенокардії показав

*Вміст ФНП- $\alpha$  інтерлейкінів, СРП і лептину при різних формах стенокардії за наявності ожиріння ( $M \pm m$ )*

Група	ФНП- $\alpha$ , пг/мл	ІЛ-1 $\beta$ , пг/мл	ІЛ-4, пг/мл	СРП, мг/л	Лептин, нг/мл	
					чол.	жін.
1-ша (контрольна)	$41,4 \pm 8,6$	$42,86 \pm 7,14$	$18,25 \pm 1,75$	$4,05 \pm 0,45$	$3,6 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,7$
2-га (стабільна стенокардія II ФК з ожирінням)	$58,60 \pm 4,43^*$	$111,91 \pm 13,22^*$	$15,06 \pm 1,42^*$	$12,72 \pm 0,54^*$	$4,2 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,8^*$
3-тя (стабільна стенокардія III ФК з ожирінням)	$62,27 \pm 6,07^*$	$123,65 \pm 34,52^*$	$10,27 \pm 2,37^*$	$16,48 \pm 2,17^*$	$7,5 \pm 1,4^*$	$8,8 \pm 2,1^*$
4-та (нестабільна стенокардія з ожирінням)	$67,52 \pm 7,75^*$	$203,85 \pm 30,35^{*\#}$	$4,67 \pm 2,05^{*\#}$	$22,43 \pm 3,61^{*\#}$	$8,5 \pm 2,3^*$	$9,1 \pm 2,4^*$

*Примітка.*  $p < 0,05$ ; \* в порівнянні з контрольною групою; # в порівнянні з групою зі стабільною стенокардією.

наступне. У хворих із стабільною стенокардією П ФК він знизився до  $(15,06 \pm 1,42)$  пг/мл, що відповідало загальній тенденції зниження протизапальних цитокінів у хворих з ІХС ( $p < 0,05$ ). При стабільній стенокардії П ФК з ожирінням він знизився до  $(10,27 \pm 2,37)$  пг/мл, а при нестабільній стенокардії – до  $(4,67 \pm 2,05)$  пг/мл.

Вміст в крові маркера запалення СРП достовірно підвищувався у хворих усіх груп у порівнянні з контрольною групою (таблиця).

Отже, при співставленні рівнів прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$  у хворих з ожирінням були виявлені значно більш високі рівні досліджуваних показників, ніж в групі хворих без супутніх факторів ризику. Рівні протизапальних цитокінів мали протилежну тенденцію – відмічалось зниження ІЛ-4 в порівнянні з хворими контрольною групи.

Аналіз рівнів лептину показав достовірне підвищення його в сироватці крові у всіх хворих на стенокардію з ожирінням в порівнянні з контрольною групою. При цьому більш виражене підвищення лептину відзначено у жінок, і у них була більше підвищена маса тіла. Це можна пояснити тим, що більше лептину секретується при більшій кількості жирової тканини.

На сьогодні не виникає сумнівів, що жирова тканина є дуже динамічним ендокринним органом. Адипоцити секретують різні біологічні молекули – адипокіни, які відіграють важливу роль в регуляції енергетичного балансу, чутливості до інсуліну, імунологічної відповіді і стану кровоносних судин. До них відносять ФНП- $\alpha$ , адипонектин, інгібітор активатора плазміногену-1, ІЛ-6, ангіотензиноген, інсуліноподібний фактор росту-1 [6, 7].

Розвиток як ожиріння, так і ендотеліальної дисфункції є комплексним і визначається дією різних ендо- і екзогенних чинників.

Ряд дослідників у хворих з ожирінням виявили активність жирової тканини в продукуванні цитокінової активності [8]. Відмічається виділення жировою тканиною під час незапальних станів у людини ІЛ-6. При цьому жирова тканина сальника виділяє ІЛ-6 у 6 разів більше, ніж підшкірно-жирова тканина [8]. Динамічне дослідження показало, що рівень ІЛ-6 у людини підвищується після прийому їжі паралельно з рівнем глюкози і інсуліну в інтерстиціальній рідині підшкірної жирової тканини [9]. Можна очікувати, що ожиріння при ІХС буде приводити до підвищення секреції ІЛ-6 з його шкідливими метаболічними ефектами.

В регуляції метаболізму жирової тканини ключову роль, як і в ліпідному обміні, відіграє ФНП- $\alpha$ . Виявлено більш високі рівні ФНП- $\alpha$  у хворих з ожирінням, ніж у худих людей [10]. У осіб з ожирінням і наявністю цукрового діабету 2-го типу спостерігається посилена експресія в жировій тканині і м'язах ФНП- $\alpha$  пропорційно підвищенню маси тіла і об'єму жирової тканини [5, 11]. Вважається, що поряд з підвищенням продукції ФНП- $\alpha$  знижується швидкість обробки трансмембранного ФНП- $\alpha$  в дозрілих адипоцитах, що приводить до його підвищення в жировій тканині при ожирінні [12].

Передбачають, що локус гена ФНП- $\alpha$  впливає на розподіл жиру в тілі відповідно статі. Ліпопротеїнліпаза, яка приймає участь у каскаді ФНП- $\alpha$ , також специфічна у своїй дії в залежності від статі. Рівень її активності вище у жінок в абдомінальних клітинах, у чоловіків – у стегових [13]. Встановлено, що жінки з ожирінням експресують у 2 рази більше рецепторів ФНП- $\alpha$  в жировій тканині у порівнянні з худими, і це корелює з масою тіла.

Введення ліпополісахаридів, цитокіну ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1 викликає експресію лептинів і його секрецію жировою тканиною. Недавні роботи передбачають існування осі ФНП- $\alpha$  – лептин, у якій лептин і ФНО- $\alpha$  повинні бути у взаємозв'язку. ФНО- $\alpha$  стимулює секрецію лептину в адипоцитах, які культивуються і у мишей, у яких розвинулось ожиріння. Введення лептину щурам знижувало експресію ФНП- $\alpha$  на 40 %. Дійсно, введення ФНП- $\alpha$  підвищує рівні лептинів у сироватці людини. Проте можлива роль резистентності лептину в цих взаємозв'язках у людини все ще не до кінця зрозуміла. Ці факти важливі в розумінні патофізіології абдомінального ожиріння, тому що продукування лептину залежить від розподілу жиру в тілі. Більш того, хоча лептин вперше був описаний у відношенні його ролі в модуляції прийому їжі і затрат енергії, зараз існують дані, що він також бере участь в імунних процесах організму. Це підтверджується здатністю лептину підсилювати продукцію цитокінів і фагоцитоз макрофагів. Дійсно, підвищена концентрація лептину корелює з підвищеними концентраціями запальних маркерів у індивідуумів з патологічним ожирінням. Проте роль лептину в дії інсуліну у людини чи в запаленні, пов'язаному з ожирінням, вірогідно дуже мала.

Аналіз рівнів прозапального цитокіну ІЛ-1 $\beta$  показав, що найбільш високими вони

були у пацієнтів з нестабільною стенокардією порівняно з групою контролю і групою зі стабільною стенокардією. Рівні протизапальних цитокінів ІЛ-4 найбільш низькими були в 4-й групі. При цьому спостерігалась синергічна зміна показників – підвищення рівнів прозапальних цитокінів і зниження рівнів протизапальних цитокінів у порівнянні з 2-ю і 3-ю групами (таблиця).

Вважаючи, що абдомінальне ожиріння і порушення вуглеводного обміну є основними критеріями метаболічного синдрому, в основі розвитку якого значна роль приписується інсулінорезистентності, зміни досліджуваних цитокінів можна прямо пов'язати з цим фактором.

Треба думати, що при ожирінні відбувається накопичення вільних жирних кислот і гліцерину. Вільні жирні кислоти надходять до печінки, де стають основним джерелом формування атерогенних ЛПДНЩ [3]. Підвищення рівня тригліцеридів підсилює інсулінорезистентність, бо тригліцериди є негормональними антагоністами інсуліну [2].

В період гострофазового запалення цитокіни викликають реакції в плазмі і тканинах, які призводять до змін в ліпопротеїдах. Індукована гіперліпопротеїдемія може являти собою неспецифічну реакцію, яка різними шляхами направлена на зниження шкідливих біологічних і хімічних агентів і здійснює перерозподіл надходження поживних речовин до клітин. Гіпертригліцеридемія описана при СНДі, кістозному фіброзі та інших запальних захворюваннях [14].

Зв'язок між запаленням, ожирінням і захворюваннями серцево-судинної системи може здійснюватися різними шляхами, включаючи метаболізм жирних кислот. Є дослідження, в яких вказано на здатність жирних кислот в їжі модулювати вивільнення різних цитокінів. Продуктування ІЛ-1, ІЛ-6, гранулоцитів, ФНП- $\alpha$ , фактора, який

стимулює колонії макрофагів периферичними мононуклеарними клітинами, знижується у жінок після додавання в їжу поліненасичених жирних кислот [15]. Не можна виключити, що хронічні або субклінічні інфекції можуть сприяти одночасно підвищенню рівня ІЛ-6 і ожирінню [4].

СРБ є представником одразу декількох функціональних груп гострофазових білків: медіаторів, транспортних білків, імунорегуляторів. Показана участь цього білка в регуляції функції імунокомпетентних клітин. СРБ активує моноцити, регулює функцію нейтрофілів, здійснює контроль потенціальної цитотоксичності нейтрофілів, підвищує фагоцитоз нейтрофільних часток. На ранніх етапах запалення СРБ є елементом механізму активації макрофагів. Індукуючи хемотаксис і виробку супероксиду, він виконує захисну функцію в організмі, блокуючи продукцію медіаторів запалення, зв'язуючи фосфоліпіди мембран. Виявлені більш високі рівні СРБ у хворих з супутнім ожирінням підтверджують підсилення запальних процесів у хворих з коронарною патологією при наявності факторів ризику.

#### Висновки

1. У хворих на стенокардію з ожирінням виявляються зміни цитокінової активності, яка визначає наявність поточних запальних процесів незначної активності при даній патології.

2. Рівень лептину в сироватці крові хворих на стенокардію з ожирінням підвищувався паралельно з підвищенням маси тіла і був більше виражений у жінок.

3. У хворих з ожирінням і стенокардією виявляються більш високі рівні прозапальних і більш низькі рівні протизапальних цитокінів, що може свідчити про патогенетичний вплив ожиріння на розвиток атеросклерозу через запальні механізми.

#### Література

1. *Лутай М.И.* Роль дисфункции эндотелия, воспаления и дислипидемии в атерогенезе / М.И. Лутай, И.П. Голикова, В.А. Слободской // Укр. кардиол. журн. – 2007. – № 5. – С. 37–46.
2. *Аметов А.С.* В-клетка: секреция инсулина в норме и в патологии / А.С. Аметов, О.М. Смирнова, М.В. Шестакова. – М., 2005. – 23 с.
3. The central roles of obesity-associated dyslipidaemia, endothelial activation and cytokines in the metabolic syndrome – an analysis by structural equation modeling / J.C.N. Chan, J.C.K. Cheung, C.D.A. Stehouwer et al. // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. – 2002. – V. 26, № 7. – P. 994–1008.
4. *Назаров П.Г.* Реактанты острой фазы воспаления / П.Г. Назаров. – СПб.: Наука, 2001. – 423 с.
5. *Greenberg A.S.* Identifying link between obesity, insulinresistance and  $\beta$ -cell function potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes / A.S. Greenberg, M.L. McDaniel // Eur. J. Clin. Invest. – 2002. – V. 32, suppl. 3. – P. 24–34.
6. *Rajala M.W.* Minireview: The adipocyte – at the crossroads of energy homeostasis, inflammation and atherosclerosis / M.W. Rajala, P.E. Scherer // Endocrinol. – 2003. – V. 144. – P. 3765–3773.

7. Ковальова О.Н. Фактор некроза опухолей. Свойства и биологическая роль / О.Н. Ковальова, Т.В. Ащеулова // Имунологія і алергологія. – 2002. – № 4. – С. 3–7.
8. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly / T. Harris, L. Ferrucci, R.P. Tracy et al. // Am. J. Med. – 1999. – V. 106. – P. 506–512.
9. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease the central role of interleukin-6 / A. Woods, D.J. Brull, S.E. Humphries, H.K. Montgomery // Eur. Heart J. – 2000. – V. 21. – P. 1574–1583.
10. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function / K.T. Uysal, S.M. Wiesbrock, M.W. Marino, G.S. Hotamisligil // Nature. – 1997. – V. 389. – P. 610–614.
11. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity related insulin resistance / H. Xu, G.I. Barner, Q. Vang et al. // J. Clin. Invest. – 2003. – V. 112. – P. 1821–1830.
12. Tumor necrosis factor- $\alpha$  contributes to obesity related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes / T.G. Kirchgessauer, K.T. Uysal, S.M. Wiesbrock et al. // J. Clin. Invest. – 1997. – V. 100. – P. 2777–2782.
13. The methionine 196 arginine polymorphism in exon 6 of the TNF-receptor 2 gene (TNFRSF2) is associated with the polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism / B. Penal, J.L. San Millan, R. Castello et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – V. 87. – P. 3977–3983.
14. Чуклин С.Н. Интерлейкины / С.Н. Чуклин, А.А. Переяслов. – Львов: Лига-Пресс, 2005. – 481 с.
15. Vogel R.A. Cholesterol, cholesterol lowering and endothelial function / R.A. Vogel, M.C. Coretti, G. Gellman // Progr. Cardiovasc. Dis. – 1998. – V. 41. – P. 117–136.

**Ю.А. Ковалёва**

#### **ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ И ЛЕПТИНА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА С ОЖИРЕНИЕМ**

Обследовано 106 больных стенокардией с ожирением. Установлено, что у обследованных больных происходят изменения цитокиновой активности, которые определяют наличие вялотекущей воспалительной реакции. Уровень лептина в сыворотке крови у больных стенокардией с ожирением повышался параллельно с повышением массы тела и был более выражен у женщин. При сопутствующем ожирении со стенокардией определяются более высокие уровни провоспалительных и сниженные уровни противовоспалительных цитокинов, что может свидетельствовать о патогенетическом влиянии ожирения на развитие атеросклероза через воспалительные механизмы.

**Ключевые слова:** стенокардия, цитокины, лептин, С-реактивный протеин, воспаление, ожирение.

**Yu.O. Kovalyova**

#### **INTERACTION ACTIVITY OF INFLAMMATORY PROCESS AND LEPTIN IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASES ASSOCIATED WITH OBESITY**

We observed 106 patients with angina pectoris associated with obesity. We discovered, that in patients are revealed changes of cytokines activities, and this changes definite the presence of weak inflammatory process. The level of leptin in these patients increased according to mass of body, and more significant in women. The investigation showed higher levels of pro-inflammatory cytokines and lower levels of anti-inflammatory cytokines in patients with ischemic heart diseases associated with obesity. It can be evidence of pathogenetic influence of obesity on the development atherosclerosis through inflammatory process.

**Key words:** angina pectoris, cytokines, leptin, C-reactive protein, inflammatory, obesity.

Поступила 10.02.10

УДК 616.24-007.272-0361-008.9-085.225

*В.М. Погорелов, В.В. Брек, С.В. Денисова*

## ВПЛИВ САРТАНІВ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ ХРОНІЧНИМИ ОБСТРУКТИВНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ЛЕГЕНЬ

*Харківський національний медичний університет, м. Харків*

У 60 хворих хронічними обструктивними захворюваннями легень з ішемічною хворобою серця, які приймали блокатори рецепторів ангіотензину II: лозартан (група порівняння) і телмісартан (дослідна група), вивчали вміст ліпідів і ліпопротеїдів, стан ренін-ангіотензинової системи, а також динаміку циклічних нуклеотидів і ендотеліну-1. У групі хворих, що приймали телмісартан, позитивні клінічно-лабораторні зміни були більш виражені, ніж у групі порівняння.

**Ключові слова:** лозартан, телмісартан, хронічні обструктивні захворювання легень, атеросклероз.

Згідно з даними популяційних досліджень у хворих хронічними обструктивними захворюваннями легень (ХОЗЛ) серцево-судинна смертність становить приблизно 50 % від загальної кількості летальних випадків [1, 2], що пов'язано з переважно підвищеним ризиком розвитку атеросклеротичного ушкодження судин у цих хворих. Необхідно відзначити, що не всі дослідники підтримують погляд на розвиток атеросклерозу як на морфологічний субстрат для ішемічної хвороби серця (ІХС) у хворих ХОЗЛ [3], але наявність загальних факторів ризику ІХС у хворих ХОЗЛ, таких як паління, персистувальне системне запалення, хронічні інфекції, заперечувати складно [4].

З віком ІХС перебігає на фоні ХОЗЛ нерідко без явних клінічних ознак. Як для ІХС, так і для ХОЗЛ існує прямий зв'язок між природно виникаючими віковими змінами й характером перебігу цих двох захворювань. Крім того, запалення, ендотеліальна дисфункція і місцева активність ренін-ангіотензинової системи спостерігаються у хворих ІХС, так само як і у хворих з ХОЗЛ, легеневою гіпертензією та ін. [5–9].

У терапії ІХС хворих ХОЗЛ використовуються різні лікарські засоби: антагоністи кальцію, інгібітори АПФ (іАПФ), блокатори рецепторів ангіотензину II (АП) та ін. На фоні прийому блокаторів рецепторів АП кашель і ангіоневротичний набряк, властивий іАПФ, зустрічаються значно рідше. В дослідженні ONTARGET/TRANSCEND пока-

зано, що телмісартан підвищує активність оксиду азоту і покращує ендотеліальну функцію судин серця [6, 8]. Експериментальні і клінічні дослідження показали, що телмісартан має властивості захищати органи-мішені від гіперреактивності ренін-ангіотензинової системи і позитивно впливати на обмін вуглеводів, ліпідів. Унікальні фармакокінетичні і фармакодинамічні властивості телмісартану вигідно вирізняють його серед інших сартанів у цілому по групі блокаторів рецепторів АП [10].

Мета роботи – порівняльна оцінка блокаторів рецепторів АП – лозартану і телмісартану у хворих ХОЗЛ з ІХС.

**Матеріал і методи.** У терапевтичному відділенні ДКЛ ст. Харків в 2006–2009 рр. під спостереженням перебували 60 хворих ХОЗЛ з ІХС, середній вік яких складав ( $60 \pm 2$ ) роки. Усі хворі додатково одержували антиангінальні, антикоагулянтні і метаболічні лікарські засоби. Хворим 1-ї групи (20 чоловік) у комплексну терапію додатково включали лозартан 50 мг/добу (група порівняння), хворим 2-ї групи (40 чоловік) – телмісартан 80 мг/добу. Обидві групи хворих були порівнянні за такими показниками: стать, вік, клініко-функціональна форма (ІХС+ХОЗЛ) захворювання. Відзначалася клініко-лабораторна ідентичність хворих. Усім хворим проводили загальноприйнятні клініко-лабораторні й інструментальні дослідження. Стан внутрішньосерцевої гемодинаміки оцінювали за допомогою ЕхоКГ, си-

© В.М. Погорелов та ін.

столічний тиск у легеневій артерії (СТЛА) – за допомогою доплерЕхоКГ. Функцію зовнішнього дихання (ФЗД) вивчали методом спірографії. Стан газового складу крові оцінювали за показниками  $pCO_2$  і  $pO_2$  в артеріальній крові. Рівень ендотеліну-1 і циклічних нуклеотидів визначали радіоімунним методом. Вміст холестерину (ХС), ХС ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ХС ліпопротеїдів дуже низької і низької щільності (ЛПДНЩ, ЛПНЩ), коефіцієнт атерогенності (КА), апоА-1 і апоВ, а також співвідношення апоВ/апоА-1 визначали по А.Н. Климову (1999). Використані методи дослідження і отримані результати характеризують стан гемодинаміки, ФЗД і фактори релаксації судин, а також вплив блокаторів рецепторів АП – лозартану і телмісартану на ліпідний і ліпопротеїдний обмін у групах хворих ХОЗЛ. Отримані дані статистично обробили.

**Результати та їх обговорення.** Після терапії із включенням телмісартану у хворих (2-га група) порівняно з хворими 1-ї групи, які отримували лозартан, відзначалося значне поліпшення загального стану, зменшення інтенсивності, тривалості і частоти виникнення ангінального синдрому, що супроводжувалося збільшенням порога перенесення фізичного навантаження без по-

мітного для хворого приросту ЧСС. Крім того, зменшувалися слабкість, нездужання та задишка. Стан компенсації супроводжувався позитивними змінами показників ліпідного й ліпопротеїдного обміну.

Дані про вплив лозартану і телмісартану на ліпіди й ліпопротеїди наведені в табл. 1.

Лікування хворих ХОЗЛ 1-ї групи не призвело до істотних змін як ліпідів, так і ліпопротеїдів. У хворих 2-ї групи це лікування супроводжувалося зниженням рівня загального ХС, ХС ЛПНЩ і підвищенням рівня ХС ЛПВЩ і апоА-1. Підвищення рівня ХС ЛПВЩ і зниження ХС ЛПНЩ у 2-й групі свідчить, що телмісартан у порівнянні з лозартаном є засобом антиатерогенної дії.

Зміни показників ренін-ангіотензинової системи на фоні проведеної терапії (табл. 2) свідчать, що свої ефекти ці препарати реалізують через вплив на ренін-ангіотензинову систему, де депресорна роль АП є головною. Це підтверджує зниження рівня АП як у 1-й, так і у 2-й групі. Вміст іонів натрію і калію в сироватці крові в групах спостереження під впливом терапії практично не змінювався.

Поліпшення клініко-функціональних проявів у хворих ХОЗЛ супроводжувалося змінами стану циклічних нуклеотидів. Показники цАМФ, цГМФ і ендотеліну-1 наведені в табл. 3.

Таблиця 1. Вміст ліпідів і апопротеїдів у сироватці крові хворих ХОЗЛ під впливом лозартану (1-ша група) і телмісартану (2-га група) ( $M \pm m$ )

Показник	1-ша група (n=20)		2-га група (n=40)	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Загальний ХС, мг/дл	243,0±6,2	238,0±4,2	248,0±5,3	215,0±4,5*
Тригліцериди, мг/дл	142,0±9,3	133,0±6,2	138,0±6,1	134,0±10,0
ХС ЛПВЩ, мг/дл	44,2±2,1	48,3±3,0	41,0±1,7	48,9±1,6*
ХС ЛПДНЩ, мг/дл	24,5±1,4	28,4±1,7	28,0±1,4	32,0±2,1
ХС ЛПНЩ, мг/дл	163,0±5,2	160,0±4,9	162,0±4,9	141,0±4,3*
КА	4,12±0,14	4,06±0,12	4,17±0,11	4,05±0,20
АпоА-1	95,3±4,5	96,0±4,8	98,4±5,3	112,0±2,9*
АпоВ	132,0±6,9	133,0±6,5	131,0±4,9	127,0±5,5
Співвідношення апоВ/апоА-1	1,41±0,11	1,43±0,05	1,45±0,09	1,15±0,13*

Примітка. \*  $p < 0,05$ ; відмінності достовірні в порівнянні з даними до лікування. Тут і в табл. 2, 4, 5.

Таблиця 2. Зміна показників ренін-ангіотензинової системи і вмісту калію й натрію в плазмі крові хворих ХОЗЛ під впливом лозартану (1-ша група) і телмісартану (2-га група) ( $M \pm m$ )

Показник	1-ша група (n=20)		2-га група (n=40)	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Ренін, нг·мол·год <sup>-1</sup>	7,39±1,19	4,38±1,02*	8,42±1,14	4,22±1,12*
АП, нг/мол	17,90±2,30	12,05±1,90*	19,40±1,50	11,02±1,60*
Альдостерон, нг/мол	331,40±41,60	202,30±33,80*	328,00±30,60	182,90±20,50*
Na, ммоль/л	144,60±4,10	142,90±3,84	143,50±2,20	136,10±3,60
K, ммоль/л	4,11±0,18	4,19±0,23	3,96±0,37	3,78±0,25

Таблиця 3. Зміна стану цАМФ, цГМФ і ендотеліну-1 у сироватці крові хворих ХОЗЛ під впливом телмісартану ( $M \pm m$ )

Показник	Здорові (n=15)	2-га група (n=40)	
		до лікування	після лікування
цАМФ, нмоль/л	10,7±1,3	24,60±0,18*	31,20±0,01 <sup>#</sup>
цГМФ, нмоль/л	8,1±2,0	7,42±0,22*	6,20±0,04 <sup>#</sup>
Ендотелін-1, пг/мл	6,0±1,9	7,44±0,02*	6,80±0,02 <sup>#</sup>

Примітка.  $p < 0,05$ ; \* відмінності достовірні в порівнянні зі здоровими; <sup>#</sup> розходження достовірні в порівнянні з вихідним рівнем.

Отже, зміни стану нуклеотидів і ендотеліну-1 опосередковано підтверджують активність оксиду азоту, який викликає сундінну релаксацію, відповідь якої підтверджує зниження рівня СТЛА (табл. 4). Достовірне підвищення рівня ендотеліну-1 у порівнянні зі здоровими особами і його зниження під впливом телмісартану дає підстави стверджувати, що цей лікарський засіб має антиатерогенні властивості. Наявність антиатерогенних властивостей у телмісартану дає можливість більш широко використовувати його у хворих з ІХС на фоні ХОЗЛ.

до II і у 45 хворих до I класу стенокардії. Такі показники дозволяють припустити, що вказані лікарські засоби знімають пресорні ефекти АП і опосередковано діють на місцеві тканинні рецептори серця. Отже, такі позитивні зміни свідчать, що поряд з антигіпертензивною дією ці лікарські засоби мають і кардіопротекторну направленість.

Показники внутрішньосерцевої гемодинаміки на фоні проведеної терапії супроводжувалися поліпшенням функції зовнішнього дихання і газового складу крові (табл. 5).

Таблиця 4. Зміна показників гемодинаміки у хворих ХОЗЛ під впливом лозартану (1-ша група) і телмісартану (2-га група) ( $M \pm m$ )

Показник	1-ша група (n=20)		2-га група (n=40)	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
СТЛА, мм рт. ст.	41,10±1,26	36,80±1,35*	40,80±2,25	26,20±2,42*
КДО ПШ, мл	132,90±9,30	158,10±11,00*	132,00±11,90	160,90±12,90*
КСО ПШ, мл	45,10±4,10	50,40±3,11*	44,70±2,02	55,00±2,02*
УІ ПШ, мол/м <sup>2</sup>	36,90±1,54	39,20±1,69	36,20±1,20	39,90±1,54
СІ ПШ, л·хв·м <sup>2</sup>	3,01±0,09	3,07±0,11	3,15±0,08	3,08±0,12*
ФВ ПШ, %	49,00±2,04	53,60±2,22	48,00±2,14	59,80±2,03*
ЧСС в 1 хв	80,50±2,14	78,40±2,30	84,90±2,12	76,60±2,20*

Показники гемодинаміки у хворих ХОЗЛ під впливом лозартану і телмісартану наведені в табл. 4.

Після лікування у хворих обох груп відмічалася достовірне зменшення СТЛА, ЧСС і збільшення фракції викиду (ФВ). Крім того, у 23 хворих 2-ї групи відзначалося зменшення функційного класу з III

Наведені дані свідчать, що лозартан і телмісартан реалізують свій вплив через механізми ренін-ангіотензинової системи, циклічних нуклеотидів, ендотеліну. Крім того, телмісартан позитивно впливає на зміни рівня ліпідів і ліпопротеїдів, що веде до регресу дисфункції ендотелію і формування атеросклерозу у хворих з ХОЗЛ.

Таблиця 5. Зміна показників функції зовнішнього дихання і газового складу крові у хворих ХОЗЛ під впливом лозартану (1-ша група) і телмісартану (2-га група) ( $M \pm m$ )

Показник	1-ша група (n=20)		2-га група (n=40)	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
ЖОЛ, % до належного	68,40±2,72	78,90±3,04*	68,90±2,07	84,40±2,51*
МВЛ, % до належного	51,30±3,88	74,80±3,96*	51,90±3,31	74,60±3,52*
ОФВ <sub>1</sub> , % до належного	51,80±3,27	70,30±3,84*	50,90±2,43	69,50±2,24*
ІТ, %	49,00±2,84	60,00±2,78*	47,90±2,14	59,90±2,23*
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	69,90±3,68	80,50±3,77*	70,40±5,15	81,20±3,32*
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	40,80±3,08	38,40±2,19	41,00±2,45	37,20±2,41

**Висновки**

1. Динаміка показників ліпідів і ліпопротеїдів, ренін-ангіотензинової системи, циклічних нуклеотидів, ендотеліну позитивно характеризує застосування блокаторів рецепторів АПІ – лозартану і телмісартану в терапії хворих з ХОЗЛ і ІХС.

2. Застосування лозартану і телмісартану в терапії хворих з ХОЗЛ і ІХС супроводжувалося поліпшенням показників внут-

рішньосерцевої гемодинаміки, функції зовнішнього дихання та клінічних проявів синдрому взаємного ускладнення.

3. Порівняльна оцінка лозартану і телмісартану свідчить про перевагу останнього як засобу антиатерогенної дії у хворих з ХОЗЛ і ІХС. Зазначені позитивні клініко-функціональні і гуморальні зрушення створюють позитивні умови для коронарного кровотоку і регресу ІХС у хворих з ХОЗЛ.

**Література**

1. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study / A.S. Buist, M.A. McBurnie, W.M. Vollmer et al. // *Lancet*. – 2007. – V. 370 (9589). – P. 741–750.
2. *Huiart L. Cardiovascular morbidity and mortality in COPD* / L. Huiart, P. Ernst, S. Suissa / *Chest*. – 2005. – V. 128 (4). – P. 2640–2646.
3. Response to hypoxia of pulmonary arteries in chronic obstructive pulmonary disease: an in vitro study / V. Peinado, S. Santos, J. Ramires et al. // *Eur. Respir. J.* – 2002. – V. 20. – P. 332–338.
4. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview / C.I. Schwartz, A.J. Valente, E.A. Sprague et al. // *Clin. Cardiol.* – 1991. – V. 14 (Suppl. 1). – P. 11–116.
5. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein / S. Verma, S.H. Li, M.V. Badiwala et al. // *Circulation*. – 2002. – V. 105 (16). – P. 1890–1896.
6. Reduction of morbidity and mortality by statins, angiotensin-converting enzyme inhibitors, and angiotensin receptor blockers in patients with chronic obstructive pulmonary disease / G.B. Mancini, M. Etminan, B. Zhang et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – V. 47 (12). – P. 2554–2560.
7. Особенности клинико-функционального состояния миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и хроническими заболеваниями легких / И.М. Фуштей, С.Л. Подсевакина, А.И. Паламарчук, О.В. Ткаченко // *Кровообіг та гемостаз*. – 2008. – № 4. – С. 85–88.
8. *Погорелов В.Н. Кардиопульмональная взаимосвязь между ишемической болезнью сердца и хронической обструктивной болезнью легких. Терапия сочетанной патологии* / В.Н. Погорелов, С.В. Денисова // *Эксперим. і клін. медицина*. – 2009. – № 3. – С. 77–82.
9. *Sin D.D. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease* / D.D. Sin, S.F. Man // *Circulation*. – 2003. – V. 107 (11). – P. 1514–1519.
10. *Ковалева О.Н. Антиатерогенные эффекты телмисартана* / О.Н. Ковалева, С.В. Виноградова // *Практична ангіологія*. – 2009. – № 3–4. – С. 11–13.

*В.Н. Погорелов, В.В. Брек, С.В. Денисова*

**ВЛИЯНИЕ САРТАНОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЁГКИХ**

У 60 больных ХОЗЛ с ИБС, получавших блокаторы рецепторов ангиотензина II: лозартан (группа сравнения) и телмисартан (опытная группа), изучали содержание липидов и липопротеидов, состояние ренин-ангиотензиновой системы, а также динамику циклических нуклеотидов и эндотелина-1. У больных, получавших телмисартан, отмечались более выраженные положительные клинико-лабораторные изменения, чем у пациентов группы сравнения.

**Ключевые слова:** лозартан, телмисартан, хронические обструктивные заболевания лёгких, атеросклероз.

*V.M. Pogorelov, V.V. Brek, S.V. Denisova*

**INFLUENCE OF SARTANS ON FIGURES OF LIPID METABOLISM AT PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES**

There were investigated 60 patients suffered from chronic obstructive pulmonary diseases and ischemic heart disease treated by angiotensin II receptor blockers. The first group (comparative) was cured by losartan and another one received telmisartan. Figures of lipids, lipoproteids, renin-angiotensin system, dynamics of cyclic nucleotids and endothelin-1 of the patients in these groups were investigated. There were discovered that more positive clinical-laboratory changes were in the group treated by telmisartan.

**Key words:** losartan, telmisartan, chronic obstructive pulmonary diseases, atherosclerosis.

*Поступила 23.03.10*

УДК 616.61:616.379-008.01.64-085:546.23:616.155.34

*И.И. Топчий, А.Б. Тверетинов, Т.Д. Щербань*

## ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЕНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

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

У 79 больных (42 с диабетической нефропатией и 37 с гипертонической болезнью) исследовали особенности функционального состояния нейтрофилов и показатели оксидантного стресса в динамике лечения. Было установлено, что снижение активности ферментов антиоксидантной системы у больных диабетической нефропатией сопровождается увеличением активности iNOS в нейтрофилах и повышением их агрегационных свойств. Использование у больных диабетической нефропатией комплексной терапии с применением фитоселена приводило к снижению агрегационных свойств нейтрофилов и уменьшению в них активности iNOS.

**Ключевые слова:** *диабетическая нефропатия, агрегация нейтрофилов, активность NO-синтаз, антиоксидантная система, органический селен.*

Для сахарного диабета (СД) 2-го типа наряду с ожирением, инсулинорезистентностью, гипергликемией и гиперлипидемией характерно развитие и прогрессирование диабетической нефропатии (ДН). Растущая популяция пациентов с диабетом привела к драматическому увеличению и количества пациентов, у которых развивается хроническая почечная недостаточность (ХПН), требующая в дальнейшем лечения методом диализа [1]. Эта угроза может быть предотвращена комплексными усилиями, направленными на изучение механизмов развития диабетической нефропатии и поиск терапевтических средств для её профилактики. Многочисленные исследования показали роль в развитии поражения почек окислительного стресса и нарушения функции эндотелия как у больных СД [2, 3], так и в эксперименте на животных [4]. Увеличенная генерация супероксидных радикалов была продемонстрирована непосредственно в островках Лангерганса молодых ZDF (Zucker Diabetic Fatty) крыс с преддиабетом [5]. При этом в крови возрастает количество пероксинитрита, играющего важную роль в патофизиологии системной васкулопатии [6]. Какой из этих механизмов имеет определяющее значение в нарушении функции почек и играют ли они па-

тофизиологическую роль в прогрессировании ДН, окончательно ещё не установлено. Мы попытались проверить вероятность участия оксидантного стресса в нарушении функциональных параметров нейтрофилов в процессе развития нефропатии. Наряду со стандартной ренопротекторной терапией часть пациентов получала превентивное лечение селеносодержащим органическим соединением Фитоселен (Vitamax), который принимает участие в синтезе фермента глутатионпероксидазы, препятствующей образованию свободных радикалов [7].

**Материал и методы.** Диагноз хронической болезни почек – ДН устанавливали согласно классификации Украинской ассоциации нефрологов (2005) [8]. Группу сравнения составили больные ГБ II стадии (n=37). В контрольную группу вошли 15 практически здоровых лиц соответствующего пола и возраста. Всем больным было проведено комплексное клиническое обследование с учётом жалоб, данных анамнеза, объективных и дополнительных методов исследований. Обязательными являлись клиническое исследование крови и мочи, биохимическое исследование крови (функциональные пробы печени, определение скорости клубочковой фильтрации, уровня креатинина в плазме крови).

© *И.И. Топчий и др.*

Клинико-инструментальное обследование включало электрокардиографию в покое, рентгенотелевидение органов грудной клетки, количественную двухмерную эхокардиографию и эхосоноскопию почек. Для лечения больных в соответствии со стандартами применяли ингибитор АПФ моэксиприл по 7,5–15,0 мг/сут или блокатор ангиотензиновых рецепторов лосартан в дозе 50–100 мг/сут, гликлазид 30–90 мг/сут. Дозу препаратов подбирали индивидуально, в зависимости от уровня артериального давления и показателей глюкозы в крови пациентов. Семнадцать больных дополнительно принимали 200 мкг органического селена в сутки (фитоселен).

Кровь для биохимического исследования брали утром, на следующий день после поступления больного в стационар, через 12–18 часов после приёма пищи. Забор крови проводили из локтевой вены силиконизированной иглой, самотёком, в пробирки с внесёнными реактивами. Состояние антиоксидантной системы оценивали по содержанию SH-групп [9], активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы [8], гидропероксидазы (ГПО) [10] в сыворотке крови. Нейтрофилы выделяли из периферической крови больных и здоровых лиц по общепринятому методу [11]. В исследовании использовали суспензию нейтрофилов, содержащую не менее 90 % живых клеток. Жизнеспособность клеток определяли с помощью окрашивания 0,1% -ным раствором трипанового синего. Нейтрофилы ( $1 \times 10^6$  клеток/мл) инкубировали в среде 199 («ПанЭко», Россия) с 10 % -ным содержанием телячьей эмбриональной сыворотки («ПанЭко»). Адгезию нейтрофилов определяли по изменению световой трансмиссии с использованием индуктора агрегации формилового пептида FMLP (formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine), «Sigma» (США) [11]. Активность NOS в нейтрофилах исследовали по количеству нитрит-аниона, который определяли в колориметрической реакции методом Грина с использованием реактива

Грисса. Для определения активности iNOS вместо  $\text{CaCl}_2$  в инкубационную смесь вводили ЭДТА. Активность sNOS рассчитывали как разницу между активностями общей NOS и iNOS [12]. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ показателей про- и антиоксидантного статуса крови у обследованных больных показал, что уровень МДА был повышен во всех исследованных группах (таблица). Содержание МДА было увеличено при ГБ на 10 % ( $p < 0,01$ ), при ДН на 30 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Активность антиоксидантных ферментов была угнетена во всех группах больных. Активность СОД, обеспечивающей инактивацию супероксидного анион-радикала, была снижена на 9,2 % в группе с ГБ ( $p < 0,05$ ) и на 25,9 % у больных ДН ( $p < 0,01$ ). Активность гидропероксидазы, восстанавливающей различные органические пероксиды, включая гидропероксиды липидов, у больных всех групп также была снижена по сравнению с контролем (у пациентов с ГБ на 11,1 %,  $p < 0,05$ ; у больных ДН на 19,3 %,  $p < 0,05$ ). Активность каталазы была достоверно снижена на 19,0 % в группе больных ГБ,  $p < 0,05$ ; при ДН – на 29,3 %. Выявлена отрицательная корреляционная связь между концентрациями маркера окислительного стресса (МДА) и показателя состояния антиоксидантной системы (SH-группы):  $r = -0,64$ ,  $p < 0,05$ .

Известно, что окислительный стресс стимулирует toll-like-рецепторы на клетках белой крови, которые, в свою очередь, индуцируют продукцию провоспалительных цитокинов и экспрессию адгезивных молекул: E-селектина, межклеточной адгезивной молекулы-1 (ICAM-1) и сосудистой адгезивной молекулы-1 (VCAM-1) [3]. Ранее нами было показано увеличение содержания адгезивных молекул и у больных ДН, при этом в нейтрофилах таких пациентов было установлено повышение содержания актив-

Содержание показателей про- и антиоксидантной системы крови ( $M \pm m$ )

Группа	МДА, мкмоль/л	SH-группы, мкмоль/л	СОД, усл. ед/мг белка	Каталаза, мккатал/л	ГПО, мккатал/л
Контрольная	6,28±0,42	23,20±0,20	12,22±0,48	26,84±0,48	17,60±0,38
Больные ГБ	6,88±0,26	22,40±0,30	10,40±0,28*	20,40±0,48*	15,80±0,58*
Больные ДН	8,42±0,32*	18,80±0,40*	8,48±0,16*	18,40±0,30*	14,60±0,68*

Примечание. \*  $p < 0,05$ . Достоверность различий по сравнению с группой контроля.

ности индуцибельной NO (iNOS) при одновременном снижении активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [5, 13]. Эти события приводят к активации лейкоцитов, инфильтрации ткани этими клетками (то есть к развиту воспаления *in situ*), продукции кислородных радикалов лейкоцитами и резидентными клетками (например, макрофагами, сосудистыми гладкомышечными клетками, эндотелиальными клетками и фибробластами) [14], что выдвигает на первый план восстановление биологического баланса путём коррекции нарушений в системе антиоксидантной защиты.

У обследованных нами больных с ДН до лечения определялось достоверное повышение процента агрегированных нейтрофилов по сравнению как с контрольной группой, так и с группой больных ГБ (25 % против 15,6 и 14,8 % соответственно). При этом была установлена отрицательная корреляционная зависимость между агрегационными свойствами нейтрофилов и активностью гидропероксидазы в крови ( $r = -0,58$ ;  $p < 0,05$ ). В процессе лечения в группе больных ДН с базовой терапией и группе больных с базовой терапией + фитоселен отмечалось снижение процента агрегированных нейтрофилов в обеих группах: у больных ДН (базовая терапия) до 21,6 %, а у больных ДН (базовая терапия + селен) до 18,7 % ( $p < 0,05$ ). Изменения агрегационных свойств нейтрофилов в группе больных, принимающих селен, были более достоверными ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем статистически достоверных изменений активности глутатионпероксидазы выявлено не было. Возможно, это было обусловлено недостаточно продолжительным приёмом фитоселена.

Анализ содержания NO-синтаз в нейтрофилах показал, что содержание iNOS в клетках больных ГБ составило ( $0,427 \pm 0,034$ ) пмоль/мин на мг белка, а у больных ДН – ( $0,536 \pm 0,052$ ) пмоль/мин на мг белка. При лечении больных ДН с применением стандартной терапии активность iNOS в нейтрофилах уменьшилась с ( $0,522 \pm 0,052$ ) до ( $0,475 \pm 0,031$ ) пмоль/мин на мг белка, а у больных, в лечении которых применялся фитоселен, – с ( $0,552 \pm 0,063$ ) до ( $0,435 \pm 0,031$ ) пмоль/мин на мг белка ( $p < 0,05$ ).

Окислительный стресс в почке и сосудистых тканях может приводить к нарушению целостности эндотелиального барьера с помощью нескольких механизмов, главный из которых – редуцирование биодос-

тупности NO – играет решающую роль в регулировании функции как эндотелия, так и сосудистой системы в целом. Например, при наличии окислительного стресса кислородные радикалы вступают в реакцию с NO и инактивируют его с образованием пероксинитрита ( $\text{NO} + \text{O}_2^- = \text{ONOO}^-$ ) – крайне токсичного соединения [6]. Эти очень реактивные оксиданты производятся с участием активированных фагоцитов – нейтрофилов и являются необходимым компонентом врождённого иммунитета против внедрившихся микроорганизмов. Их биохимическое воздействие направлено в основном против структурных компонентов инфекционных организмов, но эти компоненты, по-видимому, беспрепятственно пропускаются антиоксидантной системой и при окислительном стрессе, вызванном неинфекционным воспалением.

Значительную роль в окислительно-восстановительных реакциях, синтезе кофермента Q1 и глутатионпероксидазы играет селен. Он обладает антиоксидантными свойствами и принимает участие в нейтрализации пероксинитрита [2, 6]. Это имеет большое значение в профилактике перекисного окисления липидов, так как сложности в коррекции окислительного стресса при почечных и сердечно-сосудистых заболеваниях обусловлены как недостатком в организме антиоксидантов, так и тем, что воспалительный процесс в сосудах имеет прежде всего локальный характер и назначение препаратов антиоксидантов не может существенно влиять на продукцию избыточных кислородных радикалов *in situ* [15]. Экзогенные антиоксиданты часто не могут проникать во внутриклеточное пространство, в котором эти кислородные радикалы синтезируются. Например, эффективность водорастворимых антиоксидантов в уменьшении окислительных реакций будет в значительной степени ограничена биохимическими свойствами мембран тех отделов клеточного пространства, где происходят соответствующие реакции [16]. Кроме того, скорость взаимодействия между такими мощными эндогенными оксидантами, как хлорноватистая кислота или пероксинитрит, и молекулами-мишенями часто превышает способность антиоксидантной системы предотвратить взаимодействия. Поэтому методы стимуляции эндогенной антиоксидантной системы, в том числе и органических соединений селена, могут быть одним из дополнительных способов ле-

чення захворювань, протекаючих с вираженим оксидантним стресом.

### Выводы

1. Снижение активности ферментов антиоксидантной системы у больных диабетической нефропатией сопровождается уве-

личением активности iNOS в нейтрофилах и повышением их агрегационных свойств.

2. Использование у больных диабетической нефропатией комплексной терапии с применением фитоселена приводит к снижению агрегационных свойств нейтрофилов и снижению активности iNOS.

### Литература

1. Медико-санітарна допомога хворим нефрологічного профілю в Україні в 2007 році / М.О. Колесник, Н.О. Сайдакова, Н.І. Козлюк, Г.С. Владзієвська // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2008. – № 4 (20). – С. 7–15.
2. Scavenging of peroxynitrite ameliorates lipid peroxidation and DNA damage in experimental ischemic acute renal failure / E. Noiri, A. Nakao, K. Uchida et al. // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2001. – V. 281. – P. 948–957.
3. Rees A.J. The role of infiltrating leukocytes in progressive renal disease: implications for therapy / A.J. Rees // *Nephrology*. – 2006. – V. 2. – P. 348.
4. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARE / M.L. Onozato, A. Tojo, A. Goto et al. // *Kidney Int.* – 2002. – V. 61. – P. 186–194.
5. *Топчий И.И.* Иммуномодулирующее влияние аторвастатина на функциональные свойства нейтрофилов у больных диабетической нефропатией / И.И. Топчий, А.Б. Тверетин, Г.А. Кордеро // *Эксперим. і клін. медицина*. – 2009. – № 2. – С. 109–112.
6. Kossenjans W. Role of peroxynitrite in altered fetal-placental vascular reactivity in diabetes or preeclampsia / W. Kossenjans, A. Eis, R. Sahay // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2000. – V. 278. – P. 1311–1319.
7. Ebselen in acute ischemic stroke; a placebo-controlled, double-blind clinical trial / T. Yamaguchi, K. Sano, K. Takakura et al. // *Stroke*. – 1998. – V. 29. – P. 12–17.
8. *Костюк В.А.* Простой и чувствительный метод определения активности СОД, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.Н. Потапова, Ж.В. Ковалева // *Вопросы мед. химии*. – 1990. – № 2. – С. 88–91.
9. *Горчинский Ю.М.* Определение SH-групп при помощи 5'-5'-дитио-бис (2-нитробензоат) / Ю.М. Горчинский // *Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков*. – М.: Наука, 1971. – 197 с.
10. *Меин В.М.* Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Меин // *Лаб. дело*. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
11. *Дуглас С.Д.* Исследование фагоцитоза в клинической практике: пер. с англ. / С.Д. Дуглас, П.Г. Куи. – М.: Медицина, 1983. – 112 с.
12. *Salter M.* Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca(2+)-dependent and Ca(2+)-independent nitric oxide synthases / M. Salter, R.G. Knowles, S. Moncada // *FEBS Lett.* – 1991. – V. 291 (1). – P. 145–149.
13. *Топчий И.И.* Активность NO-синтаз и агрегационные свойства нейтрофилов у больных хронической болезнью почек в динамике лечения / И.И. Топчий, Т.Д. Щербань, С.В. Оксененко // *Укр. журн. нефрології та діалізу*. – 2009. – № 1 (21). – С. 39–42.
14. Плотность капилляров, гистохимические особенности распределения NO-синтаз и лейкоцитов в почках больных гломерулонефритом и диабетической нефропатией / И.И. Топчий, И.К. Кондаков, Ю.В. Криворотко, В.В. Гаргин // *Укр. журн. нефрології та діалізу*. – 2009. – № 2 (22). – С. 13–18.
15. Oxidative stress and asymmetric dimethylarginine is independently associated with carotid intima media thickness in peritoneal dialysis patients / H. Kocak, S. Gumuslu, C. Ermis et al. // *Am. J. Nephrol.* – 2008. – V. 28. – P. 91–96.
16. Процеси синтезу оксиду азоту при хронічній гіперімунокомплексемії та їх зміни під впливом кверцетину в умовах *in vitro* / І.В. Вальчук, В.В. Чоп'як, С.І. Павлович, О.О. Мойбенко // *Серце і судини*. – 2006. – № 1. – С. 50–57.

**І.І. Топчий, О.Б. Тверетин, Т.Д. Щербань**

### ВПЛИВ ОРГАНІЧНОГО СЕЛЕНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ НЕЙТРОФІЛІВ У ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ НЕФРОПАТІЮ

У 79 хворих (42 на діабетичну нефропатію і 37 на гіпертонічну хворобу) вивчали особливості функціонального стану нейтрофілів і показники оксидантного стресу в динаміці лікування. Було встановлено, що зниження активності ферментів антиоксидантної системи у хворих на ДН супроводжується підвищенням активності iNOS в нейтрофілах і збільшенням їх агрегаційних властивостей. Використання у хворих на ДН комплексної терапії з застосуванням фітоселену

приводило до зменшення агрегаційних властивостей нейтрофілів і зниженню в них активності iNOS.

**Ключові слова:** *діабетична нефропатія, агрегація нейтрофілів, активність iNOS, антиоксидантна система, органічний селен.*

*I.I. Topchij, A.B. Tveretinov, T.D. Shcherban*

**INFLUENCE OF ORGANIC SELENIUM ON FUNCTIONAL PROPERTIES NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH DIABETIC NEPHROPATHY**

At 79 patients (42 with diabetic nephropathy and 37 with hypertensive illness) investigated features of a functional condition neutrophils and indicators oxidative stress in dynamics of treatment. It has been established, that decrease in activity of enzymes antioxydative systems at patients DN is accompanied by increase activity of iNOS in neutrophils and increase their aggregation. Complex treatment with using with phytoselenium application led to decrease aggregation of neutrophils and to reduction in them activity of iNOS.

**Key words:** *diabetic nephropathy, aggregation of neutrophils, activity of iNOS, antioxydative, organic selenium.*

*Поступила 10.03.10*

УДК 612:613.71+615.851.8

*О.В. Мусяєнко, К.О. Крапівіна\**

## ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ СИЛИ І ТОНУСУ М'ЯЗІВ ПІД ВПЛИВОМ ОЗДОРОВЧИХ ТРЕНУВАНЬ

*Львівська державна фінансова академія, м. Львів  
\* Львівський національний університет ім. Івана Франка*

Запропонована система оздоровчих тренувань, яка містить динамічні фізичні вправи в аеробному, аеробно-анаеробному режимі, статичні вправи Хатха-Йоги, релаксацію, ефективніше за інші методики занять впливає на силу і тонус м'язів молодих жінок, що, у свою чергу, покращує їхній фізичний розвиток і фізичну підготовленість.

**Ключові слова:** оздоровчі тренування, динамометрія, електроміотонометрія.

Здоров'я людини визначається не тільки функціональним станом організму, а й фізичним розвитком і фізичною підготовленістю [1–4]. Існують різні думки щодо того, який показник найбільшою мірою характеризує фізичний стан. Однак більшість авторів схиляється до думки, що фізичний стан визначається не одним показником, а сукупністю взаємопов'язаних ознак [5].

Як відомо, скелетно-м'язова система людини виникла як один з найбільш ефективних механізмів адаптації організму до постійної дії сил гравітації. Скелетні м'язи певним чином реагують на зовнішнє по відношенню до тіла людини гравітаційне поле. Однією з таких реакцій є тонічне скорочення м'язів. Тонус – це такий фізичний стан скелетних м'язів, у якому вони знаходяться в полі земної гравітації. Тонус відображає пружно-в'язкі властивості м'яза, які, у свою чергу, залежать від стану центральних і периферичних механізмів його нейромоторної регуляції [6]. Тонус і сила – взаємопов'язані характеристики функціонального стану скелетних м'язів, а також механізмів його регуляції.

**Матеріал і методи.** Одними з об'єктивних і досить розповсюджених методів дослідження функціонального стану нервово-м'язової системи у спорті є методи динамометрії й електроміотонометрії [7–11].

Динамометрію проводили за допомогою станогого (для визначення сили м'язів спини) і кистьового (для визначення сили м'язів кисті) динамометрів. Метод електроміотонометрії використовували для визна-

чення тренувального ефекту від занять. Визначали тонус напруження (ТН), тонус розслаблення (ТР) і амплітуду м'язів (АМ) до початку занять і в кінці навчального року. Показники тонусу м'язів визначали на широкому (ШМС) і трапецієподібному (ТПС) м'язах спини, прямому м'язі живота (ПМЖ), великому сідничному м'язі (ВСМ), камбалоподібному м'язі гомілки (КМГ), двоголовому (ДМС) і чотирьохголовому (ЧМС) м'язах стегна в умовних одиницях-мітонах. Використовували прилад «Тонус-1» [12] з прямим підключенням до нього універсального вольтметра В7-16.

Заняття за запропонованою системою проводили протягом навчального року двічі на тиждень, по три академічних години (135 хв) у вечірній час. Кожне заняття складалось із шести частин. Навантаження після кожної частини контролювали за частотою серцевих скорочень [4].

У першій частині заняття (розминка), тривалість якої становила 17–20 хв, проводили вправи в русі: різні види ходьби, перекувань, стрибків, бігу та танцювальних кроків у режимі помірної потужності з метою адаптації організму до наступної роботи.

У другій частині заняття (20–25 хв) виконували вправи на всі м'язові групи поточним методом, при вертикальному положенні тіла, у великому і субмаксимальному режимі потужності, спрямовані на розвиток аеробної працездатності, координації рухів, гнучкості та сили м'язів рук і ніг.

У третій частині заняття (20–28 хв) пропонували вправи на великі м'язові групи

© О.В. Мусяєнко, К.О. Крапівіна.

(у горизонтальному положенні тіла), що проводили потоковим методом у режимі великої потужності з метою розвитку витривалості, гнучкості та сили м'язів ніг, черевного преса і спини.

У четвертій частині заняття (23–27 хв) проводили статичні вправи Хатха-Йоги, при горизонтальному положенні тіла, в ізометричному режимі потужності, спрямовані на поліпшення функціонального стану внутрішніх органів і систем організму, а також на розвиток гнучкості і сили м'язів.

П'ята частина занять (10–15 хв) – це релаксація з психорегулюванням, спрямованим на послідовне розслаблення окремих груп м'язів (з метою відпочинку), прискорення відновлювальних процесів в організмі та регулювання емоційного стану.

У шостій частині заняття (10–23 хв) проводили статичні вправи Хатха-Йоги в положенні сидячи, спрямовані на унормування функціонального стану організму після релаксації і розвитку гнучкості, вправи у висі на гімнастичній стінці.

Отже, на кожному занятті виконували динамічну роботу в помірному, великому і субмаксимальному режимах потужності, яка сприяє поліпшенню функціонального стану серцево-судинної і дихальної систем, статичну роботу ізометричної потужності, що нормалізує функції всіх внутрішніх органів і систем організму, активізує процеси після динамічної роботи, а також сприяє розвитку фізичних якостей (витривалості, спритності, сили, гнучкості).

Було обстежено дві групи студенток ЛНУ ім. І. Франка. Студентки контрольної (1-ї) групи займалися фізичним вихованням в основній медичній групі за загальноприйнятною методикою. Студентки експериментальної (2-ї) групи займалися за запропонованою нами системою оздоровчих тренувань [4].

Метою даної роботи було встановити вплив оздоровчих тренувань за запропонованою системою на силу і тонус м'язів тулуба і кінцівок, оцінити фізичну підготов-

леність усіх обстежених студенток на початку і в кінці навчального року.

**Результати та їх обговорення.** Показники станової динамометрії, що характеризують силу м'язів-розгиначів спини, до початку експерименту практично не розрізнялися в обстежуваних групах (табл. 1).

У кінці навчального року приріст сили м'язів-розгиначів спини становив у контрольній групі в середньому 96 Н, тобто 17,1 % ( $p > 0,95$ ), в експериментальній групі – 311 Н, тобто 55,3 % ( $p > 0,99$ ).

Одержані цифри свідчать про поліпшення показників в обох групах, однак у представниць експериментальної групи вони значно вищі. Показники кистьової динамометрії в усіх обстежуваних і на початку і наприкінці навчального року були дуже низькими.

Незначний приріст сили м'язів-розгиначів пальців кисті становив ( $88,2 \pm 16,6$ ) Н. Силовий індекс наприкінці року не перевищував 35 % при нормі 50–60 %, що, на наш погляд, пов'язано з недостатньою кількістю тренувальних вправ для цих м'язів на заняттях обох груп.

При доброму функціональному стані нерво-м'язової системи ТН перевищує 70 міотонів, а АМ становить 34–39 міотонів.

На початку навчального року в усіх студенток ТН не досягав 70 міотонів у жодному з м'язів, які досліджували. Найвищими показники ТН були на м'язах спини, передньої поверхні стегна і гомілки (табл. 2). АМ була дуже низькою: найменша – на ВСМ (6,2–9,2 міотону) і ТМС (9,4–16,0 міотону), найбільша – на ДМС (23,3–27,3 міотону).

Наприкінці навчального року незначні поліпшення відбулись у 1-й групі, однак показники ТН, ТР і АМ не досягли норми.

В експериментальній групі всі показники суттєво поліпшились. Так, ТН ШМС зріс на 22,7–26,8 %, ТР знизився на 5,4–11,6 %, а АМ зросла на 117,1–129,6 %, що становить 41,8–43,0 міотони.

ТН у ТМС приблизно зріс з 68,8 до 83,3 міотону, що становить 21,0 %. ТР змен-

Таблиця 1. Середні показники сили м'язів на початку (чисельник) і наприкінці (знаменник) навчального року в контрольній (1-ша) і експериментальній (2-га) групах ( $M \pm \sigma$ )

Група	Динамометрія станова, Н	Динамометрія кистьова, Н		Силовий індекс, %	
		права рука	ліва рука	права рука	ліва рука
1-ша (n=24)	$562,5 \pm 40,2$	$190,1 \pm 27,4$	$146,0 \pm 37,2$	33,8	25,9
	$658,6 \pm 46,1$	$198,9 \pm 26,4$	$156,8 \pm 25,5$	35,0	27,6
2-га (n=22)	$561,5 \pm 87,2$	$191,1 \pm 25,5$	$147,0 \pm 41,1$	34,6	26,6
	$872,2 \pm 72,5$	$200,9 \pm 29,4$	$163,6 \pm 25,5$	35,1	28,8

Таблиця 2. Середньостатистичні показники м'язового тону на початку (чисельник) і наприкінці (знаменник) навчального року в контрольній (1-ша) і експериментальній (2-га) групах, ( $M \pm \sigma$ ) міотонів

М'яз	Тонус	1-ша група		2-га група	
		права рука	ліва рука	права рука	ліва рука
Чотирьохголовий стегна	Н	68,6±5,6	68,2±6,3	67,8±7,4	67,6±6,4
		69,1±3,7	70,0±4,5	82,6±1,7	81,3±1,9
	Р	51,3±6,0	50,3±6,0	50,4±6,4	48,4±6,4
		51,2±2,2	50,2±3,1	49,3±1,6	48,2±1,8
	А	15,9±5,8	16,2±7,2	17,4±6,5	19,2±6,2
		18,9±2,3	19,7±3,1	33,3±1,7	33,1±1,8
Двоголовий стегна	Н	56,0±6,2	56,4±5,9	55,6±8,3	56,4±6,6
		60,4±2,8	60,4±1,9	75,5±2,5	73,3±2,6
	Р	32,6±4,4	32,0±4,0	32,3±5,3	29,1±5,1
		31,0±2,3	30,8±2,1	27,0±2,3	28,3±2,1
	А	23,2±7,9	22,3±6,3	23,3±4,8	27,3±3,9
		29,4±2,4	29,5±2,1	48,5±2,3	45,0±2,4
Камбалоподібний гомілки	Н	69,0±4,6	68,6±4,9	69,1±7,0	60,8±9,0
		71,6±3,0	70,8±3,5	86,1±2,2	87,1±1,4
	Р	51,7±6,3	51,0±5,7	53,7±6,5	51,3±6,7
		49,6±2,4	49,8±3,0	40,1±2,6	41,1±1,9
	А	17,9±6,0	17,5±6,4	15,4±5,4	17,5±6,3
		22,0±3,7	20,2±3,3	46,0±2,5	46,0±1,8
Великий сідничний	Н	31,6±3,8	31,3±4,0	33,3±5,2	32,1±4,2
		35,8±4,0	35,5±3,8	62,5±1,6	61,1±1,9
	Р	25,3±3,6	24,2±2,8	26,6±5,2	22,9±5,0
		23,8±2,4	24,0±2,0	24,2±4,9	24,6±4,6
	А	6,2±2,6	8,4±4,2	7,8±3,3	9,2±2,6
		11,3±3,9	10,8±3,8	30,3±3,2	36,5±3,5
Прямий живота	Н	47,0±12,0	48,0±10,3	51,2±10,4	50,3±9,8
		60,6±5,4	61,1±6,2	82,0±1,8	82,3±1,9
	Р	31,8±9,4	32,3±8,7	35,2±8,3	34,0±9,0
		31,0±2,9	31,4±3,0	31,1±1,8	31,5±1,5
	А	13,2±6,4	13,9±5,9	16,0±9,1	16,7±8,6
		27,7±4,1	27,9±3,8	51,1±1,7	50,8±1,8
Трапецієподібний спини	Н	67,0±5,4	67,8±6,3	69,8±6,0	68,0±6,5
		68,3±2,8	68,6±3,2	83,3±7,1	83,2±2,1
	Р	57,0±6,6	58,1±7,0	54,9±9,5	52,0±8,8
		54,8±3,4	55,9±4,3	32,8±2,1	32,9±2,2
	А	9,4±3,0	9,5±2,8	14,9±6,1	16,0±6,6
		12,8±4,8	12,7±3,9	50,5±2,0	50,3±2,2
Широкий спини	Н	68,8±3,6	68,4±6,2	69,2±5,9	70,8±8,3
		68,9±2,1	68,9±2,2	87,8±1,4	86,9±1,6
	Р	52,0±2,0	52,7±3,6	49,4±7,5	51,0±6,5
		50,4±1,9	51,1±2,0	44,8±1,9	45,1±2,2
	А	16,0±4,3	15,0±4,4	19,8±5,6	18,2±4,6
		18,5±1,4	17,7±1,5	43,0±1,7	41,8±1,8

Примітка. Н – напруження; Р – розслаблення; А – амплітуда.

шився на (20,6±0,7) міотону, тобто на (62,8±0,3) %, а АМ збільшилася з (15,5±0,5) до (50,4±0,1) міотону, що становить 225,1 %.

Значно зріс ТН у ПМЖ, його приріст склав (58,8±0,3) %, ТР знизився, але всього на (9,6±0,3) %, а АМ зросла з (16,3±0,2) до

(50,9±0,2) міотону, що становить (212,2±0,2) %.

Отже, в експериментальній групі значно поліпшився функціональний стан м'язів тулуба, показники міотометрії перебільшили норму на всіх м'язах, які досліджували. У м'язах нижніх кінцівок показники міотометрії теж значно поліпшилися у студенток цієї групи.

Тонус напруження ВСМ хоч і не досягнув норми, однак зріс практично вдвічі – з (33,2±0,1) до (62,3±0,2) міотону, АМ внаслідок зростання ТН збільшилась на (329,8±0,4) % і перебільшила норму.

У ЧМС ТН зріс на (21,1±0,2) %, ТР знизився всього на 0,27 міотону, АМ зросла з (18,3±0,4) до (33,2±0,1) міотону, що становить (81,4±0,2) %.

В ДМС ТН зріс до (74,4±1,2) міотону, що становить (32,8±0,2) %, ТР зменшився з (30,6±1,5) до (2,7±0,6) міотону, АМ зросла на (83,7±0,7) % і склала близько (46,5±1,5) міотону.

Значні поліпшення в показниках міотометрії зафіксовані на КМГ. Так, ТР зріс на (25,5±0,2) % і становив (86,6±0,5) міотону, ТР знизився на (29,3±0,6) %, тобто з (52,5±0,8) до (40,6±0,5) міотону, а АМ зросла з (16,4±0,8) до (46,0±0,1) міотону, що становить приріст (180,4±0,2) %.

Аналіз функціонального стану нервово-м'язової системи у студенток експериментальної групи показує, що протягом навчального року відбулись значні поліпшення скорочувальної функції в усіх м'язах, значна здатність до розслаблення зафіксована на м'язах спини, живота і м'язах гомілки, АМ збільшилась на всіх м'язах і в більшості випадків перевищила норму.

*Таблиця 3. Результати тестування на початку і наприкінці навчального року у студенток контрольної (1-ї) і експериментальної (2-ї) груп, (M±σ) балів*

Тест	1-ша група			2-га група		
	на початку навч. року	наприкінці	приріст, %	на початку навч. року	наприкінці	приріст, %
Біг						
на 2000 м	11,50±0,06	11,30±0,08	+1,8	11,59±0,07	10,25±0,05	+11,6
на 100 м	17,80±0,40	17,20±0,12	+3,4	17,90±0,38	16,30±0,16	+9,0
Стрибок у довжину	172,0±15,0	183,0±14,7	+6,3	170,5±15,2	186,3±14,9	+9,2
Гнучкість	11,70±0,56	16,30±0,54	+39,3	10,80±0,60	18,10±0,49	+67,5
Утримання тіла у висі	12,00±0,45	12,60±0,83	+5,0	11,90±0,42	20,60±0,47	+73,1
Черевний прес	27,90±0,65	31,40±7,60	+12,5	25,80±0,63	41,40±0,58	+60,4
Човниковий біг	11,70±0,04	11,30±0,05	+3,5	11,80±0,05	11,00±0,03	+6,8
Сума балів	13,00±0,39	19,20±0,59	+47,6	12,80±0,40	33,40±0,43	+160,9

Крім того, в обстежуваних 1-ї і 2-ї груп не відмічено функціональної асиметрії, тобто розбіжності між правим і лівим боком недостовірні як на вхідних, так і на вихідних даних (p<0,9).

Отже, треба зазначити, що у студенток експериментальної групи всі одержані показники фізичного розвитку (крім кистьової динамометрії) значно поліпшилися протягом навчального року і перевищили такі ж показники обстежуваних контрольної групи, що дає змогу позитивно характеризувати запропоновану систему занять.

Фізичну підготовленість студенток обох груп визначали за допомогою державних тестів [13]. За результатами тестів визначили загальний рівень фізичної підготовленості, а також розвиток окремих якостей: витривалості, сили, швидкості, спритності, гнучкості у кожній студентки.

Як видно із даних табл. 3, рівень фізичної підготовленості на початку навчального року у студенток експериментальної групи становив (12,8±4,0) бала, контрольної – (13,0±3,9) бала, що відповідає оцінці «незадовільно» і характеризує рівень фізичної підготовленості на межі між низьким і нижчим від середнього. Причому в контрольній групі оцінку «задовільно» одержали 2 особи, «незадовільно» – 10, «погано» – 9 осіб; в експериментальній – відповідно 1, 13 та 7 осіб, тобто первинні результати в обох групах майже не розрізнялися.

Наприкінці навчального року результати тестування поліпшилися в обох групах. У контрольній середньогруповий показник становив (19,2±0,5) бала, і хоч сума балів збільшилась на 6,2, однак за шкалою оцінок рівень фізичної підготовленості зали-

пийся нижчим від середнього, тобто значного поліпшення не відбулося. На оцінку «добре» в цій групі склали тести 4 особи, на «задовільно» – 8, на «незадовільно» – 8, на «погано» – 1 особа. В експериментальній групі сума балів наприкінці навчального року зросла до  $33,4 \pm 0,4$ , що відповідає оцінці «добре» і характеризує рівень фізичної підготовленості як вищий від середнього. В цій групі оцінку «відмінно» одержали 3 особи, «добре» – 12, «задовільно» – 6 осіб. Оцінок «незадовільно» і «погано» не отримав ніхто.

Аналіз результатів окремих тестів засвідчив, що в 2-й групі відбулися більші зміни, ніж у 1-й. Так, у пацієнтів 2-ї групи значно поліпшився показник витривалості, який визначали за результатами бігу на 2000 м. Час пробігання цієї дистанції з  $(11,59 \pm 0,07)$  хв на початку навчального року скоротився наприкінці року до  $(10,25 \pm 0,05)$  хв. У 1-й групі незначне поліпшення результату пробігання дистанції [з  $(11,50 \pm 0,06)$  – до  $(11,30 \pm 0,08)$  хв] не вплинуло на оцінку нормативних вимог (табл. 3).

Швидкість характеризували за пробіганням стометрової дистанції. У 1-й групі результат поліпшився на  $(3,4 \pm 0,2)$  %, у 2-й – на  $(9,0 \pm 0,32)$  %.

Важливо зазначити, що студентки 1-ї групи протягом навчального року тренувались тільки в цих вправах, тобто на заняттях були і кросовий біг, і біг на короткі дистанції, а студентки 2-ї групи займалися різноманіт-

ними вправами на різні м'язові групи в аеробному і аеробно-анаеробному режимах, що виявилось більш ефективним.

Результати тестування засвідчили, що фізична підготовленість протягом навчального року поліпшилась у студенток обох груп.

### Висновки

1. Проведені дослідження дали можливість не тільки визначити рівень фізичного розвитку, фізичної підготовленості студенток Львівського національного університету ім. І. Франка та функціональний стан і резервні можливості їхньої серцево-судинної, дихальної і нервово-м'язової систем, а й експериментально перевірити вплив запропонованої системи оздоровлення на організм.

2. На сучасному етапі розвитку суспільства фізичний розвиток, фізична підготовленість та функціональний стан організму у студентської молоді знаходяться на низькому рівні, що терміново потребує подальшого удосконалення системи фізичного виховання для всіх вікових груп.

3. Експериментальна перевірка запропонованої системи оздоровчої гімнастики засвідчила значну її ефективність порівняно з функціонуючою. Заняття з елементами аеробіки, Хатха-Йоги, релаксації тощо сприяли зміцненню здоров'я, поліпшенню фізичного розвитку, вони збільшують резервні можливості організму і загальну фізичну підготовленість обстежуваних.

### Література

1. Амосов М.М. Роздуми про здоров'я / М.М. Амосов; пер. з рос. – К.: Здоров'я, 1990. – 168 с.
2. Амосов Н.М. Физическая активность и сердце / Н.М. Амосов, Я.А. Бендет. – К.: Здоров'я, 1989. – 216 с.
3. Апанасенко Г.Л. Физическое развитие детей и подростков / Г.Л. Апанасенко. – К.: Здоров'я, 1985. – 96 с.
4. Крапівіна К.О. Нетрадиційний підхід до традиційної фізичної культури / К.О. Крапівіна, О.В. Мусієнко. – Львів, 2006. – 300 с.
5. Виру А.А. Аэробные упражнения / А.А. Виру, Т.А. Юримяз, Т.А. Смирнова. – М.: ФиС, 1988. – 142 с.
6. Кашуба В. Динамика изменения тонуса мышц, которые принимают участие в поддержании рабочих поз при работе студентов за компьютером / В. Кашуба, А. Алёшина, Н. Колос // Фізичне виховання, спорт і культура здоров'я у сучасному суспільстві: Зб. наук. праць. – 2008. – Т. 3. – С. 58–62.
7. Воронов А. Определение вида зависимости сила-длина-скорость мышечного сокращения с использованием изокинетической динамометрии / А. Воронов // Человек в мире спорта: Новые идеи, технологии, перспективы: Тез. докл. Междунар. конгресса. – М.: 1998. – Т. 1. – С. 18.
8. Гурфинкель В.С. Скелетная мышца: структура и функция / В.С. Гурфинкель, Ю.С. Левик. – М.: Наука, 1985. – 142 с.
9. Загрядский В.П. Методы исследования в физиологии труда / В.П. Загрядский, З.К. Сулимо-Самуйло. – Л.: Наука, 1976. – 93 с.
10. Лутовинов Ю.А. Сравнительный анализ физического развития и физической подготовленности учащихся-лицейцев / Ю.А. Лутовинов // Педагогика, психология и медико-биологические проблемы физического воспитания и спорта. – Харьков: ХДАДМ, 2008. – № 5. – С. 35–38.

11. Тенденции физического развития тяжелоатлетов-ветеранов / В.Г. Олешко, Ю.А. Лутовинов, К.В. Ткаченко и др. // Педагогика, психология и медико-биологические проблемы физического воспитания и спорта. – Харьков: ХДАДМ, 2008. – № 8. – С. 75–80.

12. Электромеханический тонометр на основе прецизионного серийного резистора / В.И. Чукарин, А.Н. Руднев, В.П. Горобец, Ю.Н. Шипуш // Теор. и практ. физ. культуры. – 1976. – № 7. – С. 70–72.

13. Положення про державні тести і нормативи оцінки фізичної підготовленості населення України. Затв. Постановою Кабінету Міністрів України від 15.01.1996 р. № 80.

*Е.В. Мусиенко, Е.А. Крапивина*

**ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИЛЫ И ТОНУСА МЫШЦ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ ТРЕНИРОВОК**

Предложенная система оздоровительных тренировок, содержащая динамические физические упражнения в аэробном, аэробно-анаэробном режимах, статические упражнения Хатха-Йоги, релаксацию, оказывает более эффективное влияние, чем другие методики, на силу и тонус мышц молодых женщин, что, в свою очередь, улучшает их физическое развитие и физическую подготовленность.

*Ключевые слова:* оздоровительные тренировки, динамометрия, электромиотонометрия.

*О.В. Musiyenko, К.О. Krapivina*

**CHANGES OF INDEXES OF FORCE AND TONE OF MUSCLES UNDER INFLUENCING OF HEALTH TRAININGS**

The system of the health trainings, containing dynamic physical exercises in aerobic and aerobic-anaerobic modes, static exercises of Hatha Yoga, and relaxation, proved to be more effective than other training methods in muscles force and tone increase among young women. The observed changes improved physical development of young women and their training state.

*Key words:* health trainings, dinamometrie, electromiotonometrie.

*Поступила 30.03.10*

УДК 616.001.29-615.831

*Л.І. Сімонова, В.З. Гертман, Л.В. Білогурова, С.М. Пушкар,  
Г.В. Кулініч, Л.В. Забобоніна*

## ЗАСТОСУВАННЯ ОПТИЧНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ДЛЯ ЗАПОБІГАННЯ МІСЦЕВИХ ПРОМЕНЕВИХ УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ

*ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМН України», м. Харків  
Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України*

Досліджено дію фототерапії синім світлом (довжина хвилі 440–470 нм) на шкіру хворих на рак грудної залози під час курсу післяопераційної променевої терапії. У той час як у пацієнтів контрольної групи, які не отримували фототерапії, розвивалися променеві шкірні реакції II–III ступеня тяжкості за шкалою Національного інституту раку (США), в групі хворих, які отримували фототерапію, шкірні реакції з'являлися пізніше, були помірними, а їх тяжкість не перевищувала I ступеня. Використання фототерапії синім світлом у період проведення променевого лікування онкологічних хворих є ефективним методом для запобігання або мінімізації місцевих променевих ушкоджень шкіри.

**Ключові слова:** фототерапія, рак грудної залози, променева терапія, місцеві променеві ушкодження шкіри.

Однією з актуальних проблем онкології залишається лікування раку грудної залози (РГЗ), який посідає перше місце у структурі онкологічних захворювань жіночого населення в усіх економічно розвинених країнах світу. Незважаючи на появу в XX ст. багатьох ефективних методів лікування цього захворювання (хемо-, гормоно-, імунотерапія), дотепер найбільш розповсюдженим залишається хірургічний метод і променева терапія, особливо на ранніх стадіях онкологічного процесу. Променева терапія застосовується більш ніж у половині випадків після хірургічної операції, що дозволяє суттєво знизити відсоток виникнення рецидивів і метастазування пухлин [1–3]. Апаратура для опромінення постійно удосконалюється, але, незважаючи на усю сучасну техніку, гострі радіаційні реакції шкіри виникають приблизно у 87 % хворих на РГЗ, які отримують променеву терапію [4]. Тому важливою проблемою залишається розробка способів лікування побічних реакцій променевої терапії, у тому числі променевих пошкоджень шкіри.

Відомо, що дія іонізуючої радіації викликає біологічні ефекти у вигляді реакцій

опромінених клітин різного ступеня виразності. Вже після перших сеансів променевої терапії в клітинах шкіри і підшкірній клітковині розвиваються патологічні реакції, які можуть зникати після припинення опромінення. Такі ранні пострадіаційні клітинні реакції вважаються фізіологічними і досить легко переносяться, тому що в цьому випадку структурні і метаболічні внутрішньоклітинні порушення активно відновлюються [5]. З підвищенням дози опромінення біологічного об'єкта, в даному випадку шкіри, посилюється й реакція на нього у вигляді пригнічення синтезу ДНК і поділу клітин при зростанні пошкоджень внутрішньоклітинних структур [5, 6].

В останні десятиріччя з'явилися фундаментальні і прикладні дослідження щодо використання концентрованих пучків світла оптичного діапазону, які генеруються надяскравими світлодіодами, для відновлення метаболізму, функціональної активності імункомпетентних клітин, зниження запальних реакцій і посилення проліферації й регенерації тканин [7–9]. При фототерапії квант світла поглинається клітинами шкіри і світлова енергія внаслідок фотохі-

© Л.І. Сімонова та ін.

мічних перетворень призводить до посилення біоенергетичних і біосинтетичних процесів у клітинах [10, 11].

У зв'язку з цим метою даного дослідження була розробка методу фізичного модифікування радіаційних ушкоджень шкіри, які розвиваються при променевої терапії у хворих на рак грудної залози, для зниження тяжкості променевого ураження нормальних тканин у зоні дії іонізуючого випромінювання.

**Матеріал і методи.** Спостереження за розвитком пострадіаційних шкірних реакцій проведено у 17 хворих на РГЗ ПБ–ПА ст. в період проведення курсу післяопераційної променевої терапії. Вік пацієнток складав 35–65 років. В усіх випадках діагноз «злоякісна пухлина грудної залози» був верифікований морфологічно. Обстежені були розподілені на дві групи: 1-ша (контрольна) група – 9 пацієнток, які отримували тільки стандартний курс променевої терапії; 2-га (основна) група – 8 пацієнток, які паралельно із стандартним курсом променевої терапії отримували фототерапію шкіри грудної залози синім світлом ( $\lambda_{\max}=470$  нм). Усі пацієнтки після мастектомії отримували курс післяопераційної променевої терапії (на над-, підключичну і парастермальну ділянки). Опромінення проводили на гамма-терапевтичному апараті «РОКУС-АМ» (Росія) у класичному режимі. Кожна пацієнтка отримувала 20 сеансів – по 5 сеансів на тиждень на два поля протягом чотирьох тижнів (РОД – 2,0 Гр; СОД – 40,0 Гр).

Схема проведення фототерапії шкіри: опромінювання на над-, підключичну і парастермальну ділянки – по 3 хв, на зону хірургічного рубця – 6 хв за один сеанс. Для підвищення системної дії фототерапії додатково проводили опромінення шкіри над зонами проекції кубітальних вен, вілочкової залози, печінки, селезінки для імунomodуляції й нормалізації мікроциркуляції [12–15]. Вивчення дії фотодіодного світла на перебіг місцевих променевих ушкоджень (МПУ) здійснювали з використанням фотонного матричного приладу «Барва-Флекс» (Україна). Ця установка містить декілька окремих матриць різного кольору в межах оптичного спектра. Окрема фотонна матриця являє собою гнучку пластину, на якій розташовані 24 світлодіоди відповідного кольору. Потужність випромінювання кожного світлодіода – 5 мВт [12].

Фотонний вплив на шкіру хворих починали здійснювати одразу після кожного

сеансу променевої терапії протягом усього курсу лікування. Інтенсивність фотодіодного випромінювання – 0,3 мВт/мм<sup>2</sup>. Моніторинг стану опроміненої шкіри пацієнток проводили протягом усього курсу променевої терапії (30 діб). Спостереження за змінами шкіри, підлеглих тканин і тканин грудної залози проводили на 3, 7, 15 та 30-ту добу. Шкірні прояви оцінювали за системою Національного інституту раку США (NCI) [4]. Згідно з цією класифікацією виділяли чотири ступені тяжкості МПУ:

відсутність ознак змін на шкірі вважається за 0 ступінь;

I ступінь – бліда первинна еритема;

II ступінь – гіперемія від помірної до дуже вираженої (від червонуватого до яскраво-червоного, червоно-коричневого або синюшного кольору), ознаки набряку та вологої десквамації;

III ступінь – виражений набряк, почуття оніміння, болю, поява великої кількості пухирців, які можуть зливатися (зливна волога десквамація);

IV ступінь – некроз, укривання виразками (пухирці, які луснули, покриваються гнійною кіркою).

В процесі променевої терапії у хворих урахували інтенсивність проявів шкірних реакцій для кожного ступеня. В межах кожного ступеня інтенсивність прояву МПУ оцінювали за 10-бальною шкалою; реакції I ступеня давали значення від 0 до 10 балів, II ст. – від 11 до 20 балів, III ст. – від 21 до 30 балів, IV ст. – від 31 до 40 балів. Отримані дані статистично обробили.

Дослідження здійснювали під контролем Комітету з медичної етики Інституту медичної радіології ім. А.С. Григор'єва у відповідності з принципами Гельсінської декларації прав людини, конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та законами України з одержанням інформованої згоди пацієнток.

**Результати.** В контрольній групі хворих спостерігалися шкірні реакції у вигляді яскравої еритеми, помірного і вираженого набряку, свербіжжю, вологої десквамації. Шкірні реакції варіювали від II до III ступеня тяжкості за шкалою NCI і лише в одній пацієнтки були I ступеня (табл. 1).

Із даних табл. 1 видно, що у більшості хворих контрольної групи (7 осіб – 77,7 %) вже з 5-ї доби від початку променевої терапії розвивалися шкірні прояви переважно II ступеня (16–20 балів) у вигляді яскравої еритеми, едеми. Ці променеві шкірні реакції

Таблиця 1. Ступінь радіаційно-індукованих пошкоджень шкіри хворих на рак грудної залози, які отримували післяопераційну променевою терапію (СОД=40,0 Гр), контрольна група

Номер пацієнток пп.	Ступінь пошкоджень, балів, на добу				
	3-тю	5-ту	15-ту	21-шу	30-ту
1	I, 3 (1, 2)	I, 5 (1, 2)	I, 8 (1) 9 (2)	I, 8 (1) 10 (2)	I, 6 (1) 7 (2)
2	I, 4 (1, 2)	II, 13 (1, 2)	II, 16 (1) 18 (2)	II, 17 (1) 19 (2)	II, 14 (1, 2)
3	I, 4 (1, 2)	II, 14 (1) 15 (2)	II, 18 (1) 19 (2)	II, 19 (1, 2)	II, 15 (1, 2)
4	I, 3 (1, 2)	II, 13 (1, 2)	II, 17 (1, 2)	II, 17 (1) 18 (2)	II, 14 (1, 2)
5	I, 2 (1) I, 3 (2)	II, 13 (1, 2)	II, 16 (1) 17 (2)	II, 16 (1, 2)	II, 13 (1, 2)
6	I, 7 (1, 2)	II, 15 (1, 2)	II, 19 (1) 20 (2)	II, 20 (1, 2)	II, 16 (1, 2)
7	I, 4 (1, 2)	II, 14 (1, 2)	II, 19 (1, 2)	II, 18 (1) 19 (2)	II, 15 (1, 2)
8	I, 5 (1, 2)	II, 16 (1, 2)	II, 18 (1) 20 (2)	I, 18 (1) II, 20 (2)	II, 16-17 (1, 2)
9	I, 6 (1, 2)	II, 15 (1) 17 (2)	III, 21 (1, 2)	III, 22 (1, 2)	II, 19 (1, 2)

Примітка. 1 – зона у парастернальній, над- і підключичній ділянках; 2 – зона у ділянці післяопераційного рубця.

ції досягали максимуму у період 15-та–21-ша доба. В цей час у однієї пацієнтки зареєстровано навіть III ступінь радіаційно-індукованого ушкодження (20–22 бали) у вигляді зростаючої едеми з ділянками вологої десквамації. Наприкінці курсу променевої терапії, тобто к 30-й добі, променеві реакції декілька знижуються до I–II ступеня, але зберігаються практично в усіх хворих контрольної групи.

У хворих, які одержували фототерапію синім світлом, спостерігалася інша картина (табл. 2).

Слід підкреслити, що на відміну від контролю у перші три доби проходження курсу променевої терапії жодна пацієнтка основної групи, яка одночасно одержувала фототерапію, не мала навіть мінімальних ознак радіоіндукованих шкірних реакцій. Порівняння з контрольною групою показує, що у цей термін в контрольній групі шкірні реакції у вигляді гіперемії I ступеня (від 3 до 6 балів) спостерігалися в усіх хворих.

Перші мінімальні ознаки реакцій шкіри на іонізувальне випромінювання у пацієн-

ток основної групи з'являлися на 5-ту добу. Однак інтенсивність гіперемії в них не перевищувала 2 бали з 10 можливих для I ступеня. З підвищенням сумарної дози променевого навантаження в зонах опромінення шкіри інтенсивність гіперемії збільшувалася, в окремих випадках до 5 балів, переважно на 15-ту добу променевої терапії в над- і підключичних ділянках. Але навіть у цей період спостережень тяжкості променевих реакцій у балах була значно нижчою, ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Тобто, незважаючи на продовження дії іонізувальної радіації, тривалий вплив оптичного випромінювання на шкіру в діапазоні 440–470 нм відновлював метаболічні процеси в зоні, яка підлягає дії радіації. Так, на 21-шу добу ступінь пострадіаційних ознак реакцій шкіри в зоні опромінення знижувався у 1,5–2,0 рази у порівнянні з попереднім терміном – 15-та доба ( $p < 0,05$ ). На 30-ту добу променеві реакції шкіри у хворих основної групи ще зберігалися, але були значно менші, ніж у контролі, і не перевищували I ступеня тяжкості.

Таблиця 2. Ступінь радіаційно-індукованих пошкоджень шкіри хворих на рак грудної залози, які отримували післяопераційну променево (СОД=40,0 Гр) і фототерапію (синє світло), основна група

Номер пацієнток пп.	Ступінь пошкоджень, балів, на добу			
	5-ту	15-ту	21-шу	30-ту
1	I, 1 (1, 2)	I, 2 (1, 2)	I, 2 (1) 5 (2)	I, 2 (1) 4 (2)
2	I, 1 (1, 2)	I, 2 (1) 3 (2)	I, 1 (1) 2 (1)	I, 1 (1) 1 (2)
3	I, 4 (2) 0 (1)	I, 5 (1) 6 (2)	3 (1) I, 3 (2)	I, 1 (1) 2 (2)
4	I, 1 (1, 2)	I, 3 (1) 4 (2)	I, 2 (1) 2 (2)	I, 1 (1, 2)
5	I, 2 (1, 2)	I, 2 (1, 2)	I, 2 (1, 2)	I, 1 (1, 2)
6	I, 3 (1, 2)	I, 4 (1) 5 (2)	I, 2 (1, 2)	I, 1 (1, 2)
7	I, 1 (1, 2)	I, 2 (1, 2)	I, 1 (1, 2)	I, 1 (1, 2)
8	I, 1 (1) 2 (2)	I, 2 (1, 2)	I, 1 (1, 2)	I, 1 (1, 2)

Примітки: 1. На 3-тю добу ознак змін на шкірі не було (0 ст.).

2. 1 – зона у парастернальній, над- і підключичній ділянках; 2 – зона у ділянці післяопераційного рубця.

Згідно з даними літератури, при дії світла на біологічні об'єкти виникає фотобіологічна реакція із структурно-функціональною перебудовою клітинних мембран і мембран внутрішньоклітинних органел, що призводить до підсилювання енергетичних і біосинтетичних процесів у клітині [11–13]. Кінцевий фотобіологічний ефект виявляється активацією імунної системи, зниженням запалення, зменшенням набряку і болі через підсилення мікроциркуляції і відновлення тканинного метаболізму [16–19].

Одержані нами результати підтверджують наведені літературні дані. Так, наприкінці променевої терапії з паралельною фототерапією синім світлом (30-та доба) набряклість і гіперемія у хворих основної групи були відсутні (I ступінь – 1–2 бала). Зовнішній вигляд шкіри пацієнтки після курсу променевої терапії з фототерапією наведено на рисунку.

Дослідження показали, що використання фототерапії синім світлом у період проведення променевої терапії дозволило не тільки уникнути розвитку тяжких радіаційно-індукованих шкірних реакцій на різних етапах променевої дії, але й відсунути термін первинних їх проявів. У хворих, які отримували фототерапію синім світлом,



Пострадіаційні шкірні реакції на 30-ту добу після променевої і фототерапії синім світлом (440–470 нм). Помірна еритема, 5–6 балів, I ступінь променевої ушкодження шкіри не перевищували I ступінь, при цьому у більшості випадків тяжкість цих проявів була помірною і складала не більше 2–3 балів.

#### Висновки

Розроблено спосіб фізичного модифікування радіаційних ушкоджень шкіри при променевій терапії хворих на рак грудної залози.

Фотомодуляція за допомогою надяскравих світлодіодів (синє світло, 440–470 нм) сприяла полегшенню перебігу місцевих

променевиx ушкоджень, відсувала термін первинних проявів розвитку місцевих променевиx ушкоджень і прискорювала їх загоєння.

### Література

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Effect of radiotherapy and surgery in early breast cancer: An overview of the randomized trials // *N. Engl. J. Med.* – 1995. – V. 333. – P. 1444–1455.
2. Протоколи надання медичної допомоги хворим на злоякісні новоутворення. Галузевий стандарт / Укл. М.І. Пилипенко, Л.Я. Васильєв, І.М. Пономарьов І.М. та ін. – Харків, 2004. – 122 с.
3. Сучасна методика опромінення хворих з пухлинами молочної залози / Д.С. Бондарук, Г.Ю. Чорнай, В.С. Іванкова та ін. // *Променева діагностика, променева терапія.* – 2005. – № 1. – С. 77–80.
4. Treatment of radiation-induced dermatitis with light-emitting diode (LED) photomodulation / M.M. DeLand, R.A. Weiss, D.H. McDaniel, R.G. Geronemus // *Lasers in Surgery and Medicine.* – 2007. – V. 39. – P. 164–168.
5. *Ярмоненко С.П.* Радиобиология человека и животных: Учеб. пособие для студентов медицинских и биологических специальностей вузов / С.П. Ярмоненко, А.А. Вайнсон; под ред. С.П. Ярмоненко. – М.: Высш. шк., 2004. – 549 с.
6. *Гродзинський Д.М.* Радиобіологія / Д.М. Гродзинський. – К.: Либідь, 2000. – 448 с.
7. *Жаров В.П.* Фотоматричные аппараты для терапии пространственно-протяженных патологий / В.П. Жаров, К.И. Калинин, М.Л. Стаханов // *Биомед. радиоэлектроника.* – 1999. – № 5. – С. 46–48.
8. *Гевондян В.С.* Изучение влияния низкоинтенсивного оптического излучения на гуморальный иммунитет / В.С. Гевондян, Н.М. Гевондян, С.А. Ермилов // Там же. – С. 32–35.
9. *Земляная О.В.* Об использовании света на различных этапах восстановительного лечения / О.В. Земляная, И.В. Касс // *Применение лазеров в медицине и биологии: Матер. XXII Междунар. научн.-практ. конф., 12–16 октября 2004 г., г. Ялта.* – Харьков, 2004. – С. 141–143.
10. *Владимиров Ю.А.* Физико-химические основы фотобиологических процессов: учеб. пособие для мед. и биол. спец. вузов / Ю.А. Владимиров. – М.: Высш. шк., 1989. – 199 с.
11. Лазеротерапия: клиническая эффективность и молекулярно-клеточные механизмы / Г.И. Клебанов, М.В. Крейнина, М.Г. Мархолия и др. // *Сб. тр. Восьмой междунар. научн.-практ. конф. по квантовой медицине, 17–22 ноября 2001 г., г. Блэд, Словения.* – М.: Ассоциация квантовой медицины и ЗАО «Милта – ПКП ГИТ», 2002. – С. 53–66.
12. *Коробов А.М.* Фототерапевтические аппараты Коробова серии «Барва» / А.М. Коробов, В.А. Коробов, Т.А. Лесная. – Харьков: ИПП «Контраст», 2008. – 175 с.
13. *Меняев Ю.А.* Перспективы светодиодной фотоматричной терапии [Электронный ресурс] / Ю.А. Меняев, Д.А. Петров. – Режим доступа: <http://www.library.mephi.ru/data/scientificsessions/2005/t5/0-1-31.doc>
14. Осложнения лучевой терапии у онкологических больных / В.И. Иваницкая, В.А. Кисличенко, И.Г. Геринштейн и др. – К.: Здоров'я, 1989. – 184 с.
15. Досвід застосування препарату «Бальзам-911» для зниження токсичності променевої терапії шкіри і підшкірної клітковини / О.М. Сухіна, Г.В. Кулінич, В.П. Старенький та ін. // *УРЖ.* – 2007. – № 2. – С. 201–202.
16. Владимиров Ю.А. Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного облучения / Ю.А. Владимиров, А.Н. Осипов, Г.И. Клебанов // *Биохимия.* – 2004. – Т. 69, № 1. – С. 103–113.
17. Тондий Л.В. Использование фотонных матриц Коробова «Барва-Флекс» на различных этапах восстановительного лечения / Л.В. Тондий // *Применение лазеров в медицине и биологии: Матер. XXIX Междунар. научн.-практ. конф., 21–24 мая 2008 г., г. Харьков.* – Харьков, 2008. – С. 85–88.
18. Жаров В.П. Фотоматричные аппараты для терапии пространственно-протяженных патологий / В.П. Жаров, К.И. Калинин, М.Л. Стаханов // *Биомед. радиоэлектроника.* – 1999. – № 5. – С. 46–48.
19. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on molecular changes for wound healing in diabetic mice / H.T. Whelan, E.V. Buchmann, A.J. Dhokalia et al. // *Clin. Laser. Med. Surg.* – 2003. – V. 21. – P. 67–74.

**Л.И. Симонова, В.З. Гертман, Л.В. Белогурова, С.Н. Пушкарь, Г.В. Кулинич, Л.В. Забобонина**  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Изучено воздействие фототерапии синим светом (длина волны 440–470 нм) на кожу больных раком грудной железы во время курса послеоперационной лучевой терапии. В то время как у пациентов контрольной группы, не получавших фототерапию, развивались лучевые

реакции кожи II–III степени тяжести по шкале Национального института рака (США), в группе больных, получавших фототерапию, кожные реакции появлялись позже, были умеренно выраженными, а их тяжесть не превышала I степени. Использование фототерапии синим светом в период лучевого лечения онкологических больных является эффективным методом для предотвращения или минимизации местных лучевых повреждений кожи.

**Ключевые слова:** фототерапия, рак грудной железы, лучевая терапия, местные лучевые повреждения кожи.

**L.I. Simonova, V.Z. Gertman, L.V. Belogurova, S.N. Pushkar, G.V. Kulinich, L.V. Zabobonina**  
**PROSPECTS OF OPTICAL EMISSION USING FOR LOCAL RADIATION SKIN INJURES PREVENTION IN BREAST CANCER PATIENTS DURING RADIATION THERAPY**

Was carry out the research of blue light phototherapy action (wave-length 440–470 nm) to skin of breast cancer patients during radiation therapy. In control group, who patients don't received phototherapy, the skin radiation reactions of II–III grade NCI scale have developed. In contrast, in group who patients received phototherapy skin reactions have developed later, were feebly marked, and it's heaving not exceeding of I grade. It been shown that phototherapy of blue light using during radiation treatment of oncological patients is the effective method for local radiation skin injures prevention or minimization.

**Key words:** phototherapy, breast cancer, radiation therapy, local radiation skin injures.

*Поступила 18.03.10*

## ФТИЗИАТРІЯ

УДК 616.24-002.5-008.853-092.18

*С.І. Зайцева, Д.О. Бутов, Г.І. Губіна-Вакулук,  
М.М. Пітенько, Т.С. Бутова*

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ  
У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ  
ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ  
ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ОРГАНОЗБЕРІГАЮЧОЇ ФАРМАКОТЕРАПІЇ

*Харківський національний медичний університет*

Проведено дослідження кількості мієлопероксидази в нейтрофілах (НФ) та їх розміру у 29 практично здорових донорів і 124 хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень до початку лікування і через місяць після проведеної терапії. У хворих на туберкульоз спостерігається морфофункціональна активація НФ. Лікування хворих, яким проводили стандартну протитуберкульозну терапію (СПТ), не вплинуло на активність нейтрофілів. Додання корвітину до СПТ обумовило збільшення оптичної щільності цитоплазми при забарвленні на мієлопероксидазу на фоні достовірного зменшення або тенденції до зменшення розмірів НФ, що розцінюється як підвищення їх морфофункціональних, у тому числі пенетруючих можливостей. Додатково була розроблена схема лікування хворих на туберкульоз з використанням корвітину в комплексній хіміотерапії.

**Ключеві слова:** туберкульоз, органозберігаюча фармакотерапія, корвітин, мієлопероксидаза, нейтрофіли.

На початку 90-х років відбувся переломний момент в епідеміологічній ситуації з туберкульозу: почалось її погіршення. Зараз туберкульоз в Україні є найбільш поширеною інфекційною хворобою, яка займає перше місце у структурі смертності людей від інфекційної патології [1–3]. За 1990–2008 рр. захворюваність усіма формами активного туберкульозу збільшилася з 32,0 до 77,8 на 100 тис. населення, з них деструктивні форми туберкульозу серед уперше виявлених хворих складають 29,5 на 100 тис. населення [4]. В Україні від туберкульозу щорічно помирає більше 10 тис. чоловік, що складає 80–90 % смертей від усіх інфекційних і паразитарних хвороб разом узятих [1, 2, 5]. Ефективність лікування хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень (ДТЛ) із бактеріовиділенням, неважаючи на успіх антибактеріальної терапії, залишається досить низькою [6]. Тому ро-

боти, присвячені новим методикам лікування хворих на ДТЛ, є актуальними.

Одним з компонентів захисної реакції при захворюванні є нейтрофіли, які знищують мікобактерії туберкульозу при генералізованому процесі, руйнуючи їх своїми позаклітинними ферментами (такими, як мієлопероксидаза) [7]. Взагалі завдяки цій властивості вони відіграють ключову роль у руйнуванні чужорідних клітин [7–9]. Тому застосування препаратів, які були б здатними підвищувати вміст мієлопероксидази в нейтрофілах, на сьогоднішній день є необхідним для поліпшення лікування хворих на туберкульоз.

Метою дослідження було вивчення розміру нейтрофілів і вмісту мієлопероксидази в цитоплазмі нейтрофілів у хворих на вперше діагностований ДТЛ при використанні органозберігаючої фармакотерапії.

**Матеріал і методи.** В якості органозберігаючого препарату був узятий корвітин.

© С.І. Зайцева та ін.

Проте в літературі немає відомостей про застосування його при туберкульозі. Корвітин складається з комплексу кверцетину із полівінілпіролідом (повідоном). Він відноситься до групи капіляростабілізуючих засобів і антиоксидантів (біофлавоноїдів). Випускається у вигляді порошку, в упаковці по п'ять флаконів, розчиняється в ізотонічному розчині натрію хлориду, вводиться внутрішньовенно. Застосовується в клінічній практиці, переважно у хворих з інфарктом міокарда. Головною дією корвітину при лікуванні інфаркту міокарда є відмежування некрозу тканини від здорових ділянок. Таким чином зупиняється розповсюдження некрозу на здорові ділянки, локалізується патологічний процес в ураженому органі, що веде до його збереження. Саме збереження органу спонукало нас до вивчення ефективності корвітину у хворих на вперше діагностований ДТЛ, оскільки властивістю препарату є дія не тільки на «стерильний» некроз, але й, можливо, на запалення при інфекційному патологічному процесі.

Під нашим спостереженням було 124 хворих [91 (73,39 %) чоловік і 33 (26,61 %) жінки] на вперше діагностований ДТЛ у віці від 20 до 70 років, котрі лікувалися в Харківському обласному протитуберкульозному диспансері № 1. До 1-ї (порівняльної) групи увійшов 31 (25 %) хворий, котрі лікувалися антимікобактеріальними препаратами по першій категорії, п'ятикомпонентний режим. У 2-гу (основну) групу включено 93 (75 %) хворих, які отримували аналогічні антимікобактеріальні препарати і корвітин. З метою розробки більш ефективної схеми лікування хворих 2-ї групи розподілили на три підгрупи: 2А, 2Б та 2В. Хворим підгрупи 2А (31 особа) корвітин вводили внутрішньовенно крапельно 0,5 г у 100 мл 0,9% -ного ізотонічного розчину натрію хлориду один раз на добу протягом 10 днів; 2Б (32 особи) – препарат застосовували один раз на добу протягом 5 днів; 2В (30 осіб) – корвітин вводили при госпіталізації хворого до стаціонара, потім через 2 і 12 год; протягом 2-ї і 3-ї діб після першого введення вводили 2 рази на день з інтервалом 12 годин. До контрольної (3-ї) групи увійшло 29 практично здорових донорів. Усі хворі на туберкульоз були обстежені із застосуванням обов'язкових і додаткових методів дослідження. Перед початком лікування у хворих переважав інфільтративний туберкульоз: у всіх хворих 1-ї групи і у 88 (94 %) – 2-ї групи (у 2А підгрупі – 29 (94 %), 2Б – 31 (96 %) і 2В під-

групі – 28 (90 %). З ДТЛ до 1-ї групи не увійшов жодний хворий, у 2-й спостерігалось 5 (6 %): у 2А підгрупі – 2 (6 %), 2Б – 1 (4 %) і 2В підгрупі – 2 (10 %).

Дослідження проведено на мазках крові у ранкові часи (8–9 год ранку) натще як у практично здорових, так і у хворих на туберкульоз у перші дні та через місяць після проведеної терапії. Крім загального цитохімічного дослідження нейтрофілів, виконана цитометрія: визначені площа нейтрофілів і оптична щільність цитоплазми нейтрофілів. Кількість мієлопероксидази в нейтрофілах лейкоцитів і розміри нейтрофілів визначали за цитохімічною методикою, на препаратах мазків капілярної крові, які були забарвлені методом Грегема–Кнолля [10]. Кількісний аналіз проводився з використанням мікроскопа «Axio-star plus» (Zeiss, Німеччина) з морфометрією за допомогою програмного забезпечення мікроскопа (ВідеоТест, Росія), за методом К. Ташке [11].

**Результати.** У групі відносно здорових донорів гранули мієлопероксидази у цитоплазмі нейтрофілів знаходилися в неупорядкованому стані, а у хворих на туберкульоз спостерігалась концентрація гранул мієлопероксидази біля клітинної оболонки, і самі по собі розміри цих гранул були більші за об'ємом і кількістю, вони розташовувались у клітині у вигляді «бус». Через місяць після проведеної терапії у хворих спостерігали ще більшу концентрацію гранул мієлопероксидази на периферії клітини, особливо у хворих 2-ї групи. Під впливом застосованої терапії у хворих 1-ї групи спостерігається візуально помітна тенденція до збільшення розмірів нейтрофілів, а у хворих 2-ї групи, навпаки, до їх зменшення. Це свідчить про можливо більш ефективну дію (викид) мієлопероксидази при туберкульозному запаленні.

Цитометричне дослідження показало, що до початку лікування розміри нейтрофілів у хворих 1-ї і 2-ї груп були більшими у порівнянні з такими відносно здорових донорів (таблиця). Після проведеної місячної терапії даний показник у хворих 1-ї групи значно не змінився у порівнянні з початковими результатами, а у хворих 2-ї групи розміри нейтрофілів достовірно зменшились, крім підгрупи 2А, де цей показник істотно не змінився.

Отже, при використанні стандартної схеми лікування хворих на ДТЛ нейтрофіли периферійної крові не змінюються ні за роз-

## Зміни розмірів і стану мієлопероксидази нейтрофілів (МП НФ)

Група	Площа НФ, мкм <sup>2</sup>		Кількість МП НФ, ум. од. опт. щільн.	
	до лікування	через місяць проведеної терапії	до лікування	через місяць проведеної терапії
1-ша	131,60±3,24*	133,40±1,49 <sup>^</sup>	0,0874±0,0031*	0,0878±0,0032 <sup>^</sup>
2-га	135,00±3,24*	126,60±0,99 <sup>#</sup>	0,0770±0,0034*	0,0963±0,0013 <sup>#</sup>
2А	129,80±1,71*	127,70±2,34 <sup>^</sup>	0,0800±0,0026*	0,0992±0,0022 <sup>#</sup>
2Б	131,60±2,82*	125,00±1,16 <sup>#</sup>	0,0705±0,0035*	0,0951±0,0019 <sup>#</sup>
2В	146,10±9,25*	126,80±1,48 <sup>#</sup>	0,0813±0,0029*	0,0947±0,0027 <sup>#</sup>
Відносно здорові	122,10±1,58		0,0549±0,0025	

*Примітка.* р≤0,05; \* розбіжність достовірна при зіставленні з відносно здоровими; # при зіставленні до лікування і через місяць між групою (підгрупою); <sup>^</sup> р>0,05; розбіжність не достовірна при зіставленні з періодом до лікування.

міром, ні за кількістю мієлопероксидази у цитоплазмі клітини. При додатковому використанні корвітину спостерігається зменшення розмірів нейтрофілів і збільшення кількості і розмірів гранул мієлопероксидази у цитоплазмі клітини. Такі зміни обумовлюють більшу рухливість і проникність нейтрофілів через стінку капілярів, більшу кількість синтезованої мієлопероксидази.

Кількість мієлопероксидази нейтрофілів у 1-й групі до початку лікування була достовірно вищою, ніж у здорових донорів, і в 2-й групі цей показник був також достовірно вищим, ніж у здорових донорів. При проведенні чергового дослідження через місяць спостерігалось незначне підвищення даних показників у деяких випадках у пацієнтів 1-ї групи, а у хворих 2-ї групи спостерігалось достовірне підвищення цих показників у порівнянні з початковими показниками.

Таким чином, отримані результати свідчать про більш виражену реакцію накопичення мієлопероксидази в нейтрофілах під впливом корвітину у порівнянні з 1-ю (порівняльною) групою.

Крім того, можна припустити, що застосований препарат збільшує концентрацію мієлопероксидази в нейтрофілах, що у свою чергу допоможе більш швидкому одужуванню хворих на ДТЛ завдяки збільшенню лі-

тичної активності нейтрофілів у осередку запалення.

**Висновки**

1. У хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень спостерігається морфофункціональна активація нейтрофілів.

2. Лікування хворих з використанням стандартної протитуберкульозної терапії не вплинуло на морфофункціональну активність нейтрофілів.

3. Додання корвітину до стандартної протитуберкульозної терапії у всіх варіантах лікування обумовило збільшення оптичної щільності цитоплазми при забарвленні на мієлопероксидазу на фоні достовірного зменшення або тенденції до зменшення розмірів нейтрофілів, що розцінюється як підвищення морфофункціональних, у тому числі пенетруючих можливостей.

4. Оптимальною схемою лікування хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень (інфільтративний) з використанням корвітину є наступна: 0,5 г препарату у 50 мл 0,9% -вого ізотонічного розчину натрію хлориду, потім через 2 і 12 год 0,5 г у 100 мл 0,9% -вого ізотонічного розчину натрію хлориду. Протягом 2-ї і 3-ї діб після першого введення вводили 0,5 г у 100 мл 0,9% -вого ізотонічного розчину натрію хлориду два рази на день з інтервалом 12 год.

**Література**

1. Двадцять четверте березня 2008 р. – Всесвітній день боротьби із захворюванням на туберкульоз / Ю.І. Феценко, В.М. Мельник, В.Г. Матусевич, Л.В. Ареф'єва // Укр. пульмонол. журн. – 2008. – № 1. – С. 7–8.
2. Стан та інфраструктура протитуберкульозної служби України в період епідемії туберкульозу / Ю.І. Феценко, В.М. Мельник, В.Г. Матусевич та ін. // Укр. пульмонол. журн. – 2009. – № 1. – С. 5–7.
3. Феценко Ю.І. Стан надання фтизіатричної допомоги населенню України / Ю.І. Феценко // Укр. пульмонол. журн. – 2008. – № 3. – С. 7–9.

4. Туберкульоз в Україні: аналітично-статистичний довідник за 1998–2008 роки / Міністерство охорони здоров'я України; Центр медичної статистики України. – К., 2009. – 88 с.
5. *Фещенко Ю.І.* Сучасні методи діагностики, лікування і профілактики туберкульозу / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2002. – 904 с.
6. *Фещенко Ю.І.* Туберкульоз легень в період епідемії: епідеміологічні, клініко-діагностичні, лікувально-профілактичні та організаційні аспекти / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Лотос, 1998. – 284 с.
7. Физиология человека / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. – М.: Мир, 1996. – Т. 2. – 313 с.
8. *Михайлов В.В.* Основы патологической физиологии: руководство для врачей / В.В. Михайлов. – М.: Медицина, 2001. – 704 с.
9. *Найда І.В.* Фагоцитуючі клітини та їх роль при туберкульозі / І.В. Найда // Укр. пульмонол. журн. – 2001. – № 3. – С. 67–71.
10. Лабораторные методы исследования в клинике / под ред. В.В. Миньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
11. *Ташке К.* Введение в количественную цитогистологическую морфологию / К. Ташке; пер. И. Пятницкого. – Бухарест: Акад. СРР, 1980. – 192 с.

*С.И. Зайцева, Д.А. Бутов, Г.И. Губина-Вакулук, Н.Н. Питенько, Т.С. Бутова*

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННЫМ ДЕСТРУКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩЕЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ**

Проведено исследование количества миелопероксидазы в нейтрофилах (НФ) и их размера у 29 практически здоровых доноров и 124 больных впервые диагностированным деструктивным туберкулёзом лёгких до лечения и через месяц после проведённой терапии. У больных туберкулёзом, которым проводили стандартную противотуберкулёзную терапию (СПТ), наблюдалась морфофункциональная активация нейтрофилов. Лечение не повлияло на активность нейтрофилов. Добавление корвитина к СПТ обусловило увеличение оптической плотности цитоплазмы при окраске на миелопероксидазу на фоне достоверного уменьшения или тенденции к уменьшению размеров нейтрофилов, что расценивается как повышение морфофункциональных, в том числе пенетрирующих возможностей. Дополнительно была разработана схема лечения больных туберкулёзом с использованием корвитина.

**Ключевые слова:** туберкулёз, органосохраняющая фармакотерапия, корвитин, миелопероксидаза, нейтрофилы.

*S.I. Zajtseva, D.A. Butov, G.I. Gubina-Vakulik, N.N. Pitenko, T.S. Butova*

**MORPHOFUNCTIONAL BLOOD NEUTROPHILS CONDITION OF NEWLY DIAGNOSED DESTRUCTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS PATIENTS WITH CONSERVATIVE PHARMACOTHERAPY**

Myeloperoxidase (MP) quantity research in neutrophils (NP) leucocytes and NP size of 29 almost healthy donors and 124 newly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis patients before the beginning of treatment and after carrying out a therapy during one month was conducted. Tuberculosis patients, which were carrying out a standard antituberculous therapy (SAT), have NP activation. Treatment in comparison group had no influence on morphofunctional NP activation. Addition of corvitin to a SAT in all the cases cause to cytoplasm optical density increasing when MP painting against a background of reliable decreasing or tendency to NP size decreasing. This is consider to be an increasing of their morphofunctional including penetrating possibilities. In addition a treatment scheme of tuberculosis patients using corvitin was elaborated.

**Key words:** tuberculosis, conservative pharmacotherapy, corvitin, myeloperoxidase, neutrophils.

*Поступила 01.04.10*

## ПЕДІАТРІЯ

УДК 616-018.1-092: 612-083:616.248-053.2/.6

*В.Г. Чернуский\**, *А.Д. Морозова\*\**, *О.Л. Говаленкова\**, *А.В. Летяго\**БИОХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАПУСКА СИСТЕМЫ АПОПТОЗА  
В БРОНХОЛЁГОЧНОЙ СИСТЕМЕ  
ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ*\* Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина**\*\* Харьковский национальный медицинский университет*

Исследовано изменение свободнорадикального окисления липидов по уровню малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и эритроцитах, ферментов антиоксидантной защиты, маркеров клеточного звена иммунитета CD<sub>4</sub>-Т-хелперов, CD<sub>8</sub>-Т-супрессоров, CD<sub>95</sub>-моноклеаров, несущих на клеточной мембране один из маркеров апоптоза, у 92 детей, больных атопической бронхиальной астмой, в возрасте от 5 до 14 лет в периодах обострения и ремиссии заболевания. Установлена прямая корреляционная зависимость повышения уровня МДА от активации процесса апоптоза и тяжести течения заболевания.

**Ключевые слова:** свободнорадикальное окисление липидов, малоновый диальдегид, ферменты антиоксидантной защиты, апоптоз, маркеры Т-лимфоцитов, патогенез, обоснование терапии.

Бронхиальная астма (БА) – хроническое воспаление бронхолёгочной системы, в патогенезе которого лежит не только изменение функциональной активности эффекторных клеток, участвующих в патологических процессах, но и различные формы клеточной гибели – апоптоз [1–3].

Апоптоз – процесс запрограммированной «физиологической» клеточной гибели, при котором происходят изменения в ядре (конденсация хроматина, кариопикноз, последующая фрагментация ядра, сопровождающаяся образованием апоптических телец), сморщивание цитоплазмы, утрата рецепторов, экспрессия на поверхности не обнаруживаемых в норме молекул (фосфосерин, тромбосподин и др.) [2, 3].

Механизмы апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы, последовательность морфологических и биохимических изменений, происходящих в ядре, цитоплазме и клеточной мембране, при БА у детей на настоящий момент до конца не изучены [3, 4].

© В.Г. Чернуский и др.

При стимуляции тканей каким-либо митогеном их клетки переходят в состояние повышенной митогенной активности, которая обязательно сопровождается некоторой активацией апоптоза. Судьба клеточных элементов (выживут они или подвергнутся апоптозу) зависит от соотношения активаторов и ингибиторов апоптоза: ингибиторы включают факторы роста, клеточный матрикс, половые гормоны, некоторые вирусные белки; активаторы включают факторы, влияющие на потерю связи с матриксом, глюкокортикоиды, некоторые вирусы, ионизирующую радиацию и свободнорадикальное окисление липидов (СРОЛ) [5–7].

СРОЛ непрерывно протекает в норме во всех тканях живых организмов и при низкой интенсивности является одним из типов нормальных метаболических процессов. СРОЛ – жизненно важное звено в регуляции липидного состава биомембран и мембрано-содержащих ферментов, участвует в реакциях окислительного фосфорилирования,

в регуляции проницаемости и транспорта веществ через мембрану, в синтезе простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов, простациклинов, в метаболизме катехоламинов и стероидных гормонов, в дифференцировке и скорости клеточного деления, в фагоцитозе [5–7]. Однако чрезмерное накопление продуктов СРОЛ в клетках приводит к их деградации, причём отмечается прямая корреляционная связь между уровнем перекиси и степенью повреждения ткани. Доказано, что конечные продукты СРОЛ окисляют сульфгидрильные группы белков, могут замедлять и даже прекращать клеточное деление и рост, дестабилизировать биологические мембраны, в том числе мембраны лизосом, активировать гены p53, вах, вак, bad, bcl-xS [3, 5]. Этому процессу способствуют образующиеся при окислении жирных кислот, наряду с гидроперекисями, спирты, кетоны и альдегиды. В частности, малоновый диальдегид (МДА) вызывает полимеризацию компонентов мембран эритроцитов, что снижает деформируемость клеток и неблагоприятно отражается на их функциональной активности и жизнедеятельности [7]. Установлено, что СРОЛ изменяет структуру липопротеидов плазмы крови, являющихся основной транспортной формой циркулирующих липидов низкой и высокой плотности и участвующих в обновлении и формировании липидного спектра мембран эритроцитов. Последние не обладают собственным синтезом белков и липидов, определяют выработку цитокинов с бронхоконстрикторными свойствами сенсibilизированными Т-лимфоцитами, регулируют их цитотоксичность относительно клеток-мишеней бронхолегочной системы, стимулируя реакции гиперчувствительности замедленного типа и апоптоз клеточно-тканевых структур бронхиального дерева [8, 9].

Процессу запуска и развития СРОЛ в организме противостоит система защиты от свободнорадикальной деградации липидной фазы мембран и липопротеинов. Антиоксиданты по механизму действия распределяются на ферментативные и неферментативные, взаимодействующие с радикалами, элиминируя их из системы [6].

Одной из причин дефицита неферментативных антиоксидантов (токоферола, аскорбата) является их повышенный расход. В патологической активации СРОЛ и развитии синдрома антиоксидантной недостаточности у больных БА важная роль принадлежит ферментативному звену анти-

оксидантной защиты: супероксиддисмутазе (СОД), каталазе, глутатионпероксидазе (ГП). Ферменты широко распространены в организме человека, причём наибольшее их количество обнаружено в эритроцитах, печени, почках. Под влиянием СОД двигающиеся по дыхательной цепи протоны восстанавливают супероксидный анион-радикал до перекиси водорода. Функцией каталазы и ГП является предотвращение накопления перекиси водорода, образующейся при дисмутации супероксидного аниона и при аэробном окислении восстановленных флавопротеинов [10]. Эти ферменты препятствуют избыточному накоплению в организме человека активных форм кислорода и развитию патологической активации СРОЛ.

Целью настоящей работы явилось изучение изменения ферментов оксидации и СРОЛ как одного из факторов апоптоза клеточно-тканевых структур при БА у детей.

**Материал и методы.** Проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 92 детей в возрасте от 5 до 14 лет, больных атопической формой БА (АБА) в периодах обострения и ремиссии заболевания. Контрольную группу составил 31 здоровый ребенок в возрасте от 6 до 14 лет. Всем больным проведён специальный комплекс исследований, предусматривающий определение интенсивности процессов СРОЛ по концентрации МДА в плазме крови и эритроцитах с помощью тиобарбитуровой кислоты по методу Asakawa [11], активности ферментов антиоксидантной защиты: СОД по методу Е.Е. Дубининой с соавт. [12], каталазы по методу М.А. Корольюк с соавт. [13], ГП по методу А.Д. Гаврилова, Н.Р. Хмары [14], исследование маркеров клеточного звена иммунитета CD<sub>4</sub>-Т-хелперов, CD<sub>8</sub>-Т-супрессоров, CD<sub>95</sub>-моноклеаров, несущих на клеточной мембране один из маркеров апоптоза, с помощью моноклональных антител, с использованием коммерческих наборов, полученных в иммунологической компании «Сорбент-Лтд» (г. Москва), в реакции непрямой поверхностной иммунофлюоресценции [2].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследований свидетельствуют о существенных нарушениях метаболизма липидов как в плазме крови, так и в эритроцитах у детей, больных АБА.

Выбор эритроцитов в качестве одного из объектов исследования при АБА не случаен. Доказана одна из ведущих ролей эритроцитов в микроциркуляторных нарушениях

в лёгких, их значение в защите организма от ксенобиотиков, в регуляции иммунных процессов, транспорте гормонов и нуклеотидов. Эритроциты участвуют в адсорбции биологически активных веществ, регулируя выраженность патофизиологической стадии аллергической реакции, в гашении ПОЛ и стабилизации лизосомальных мембран благодаря наличию в них цитоплазматических антиоксидантов (выделение при гемолизе глутатиона, пероксидазы, каталазы, растворённого гемоглобина, СОД и др.).

Установлено, что в периоде обострения АБА у детей происходит достоверная активация СРОЛ, в том числе и на уровне клеточных мембран по показателям МДА в плазме крови и эритроцитах (табл. 1)

Как видно из данных табл. 1, содержание МДА в плазме крови и эритроцитах у детей, больных АБА, в периоде обострения возрастает с возрастанием степени тяжести заболевания. В периоде ремиссии АБА содержание МДА в исследуемых средах снижается по сравнению с периодом обострения, однако не достигает их уровня в группе здоровых детей.

Большое значение в формировании иммунных дисфункций, активации процесса апоптоза через активацию гена р53 и поддержании хронического аллергического воспаления в бронхолёгочной системе у детей, больных БА, придаётся активации СРОЛ на фоне сниженной активности системы антиоксидантной защиты: продукты патохимической и патофизиологической стадии хронического аллергического воспали-

ния угнетают активность ферментов СОД, каталазы и ГП (табл. 2).

Как видно из данных табл. 2, активность СОД в периоде обострения снижается по мере перехода от лёгкого течения АБА к тяжёлому. В периоде ремиссии заболевания имеет место восстановление антиоксидантного фермента СОД у детей с лёгким течением АБА. У детей со среднетяжёлым и тяжёлым течением заболевания уровень данного фермента не восстанавливается до уровня контрольной группы здоровых детей. Это указывает на то, что у детей со среднетяжёлым и тяжёлым течением АБА не наступает стойкой клинико-лабораторной ремиссии заболевания, а хронический воспалительный процесс приобретает субклиническое течение с преобладанием пролиферативной фазы.

Такая же тенденция наблюдается и для антиоксидантного фермента каталазы (табл. 2).

У обследованных детей, больных АБА, снизилась активность ГП в эритроцитах, что привело к изменению метаболизма глутатиона, являющегося переносчиком водорода. Истощение ГП нарушает регуляцию окислительно-восстановительных процессов и липидного обмена мембран как в соматических клетках, так и эффекторных (эритроцитах, макрофагах, тучных, базофилах, лимфоцитах). Это ведет к активации СРОЛ, повышению текучести мембран и рециклизации рецепторов, разрушению мембран клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы, прогрессированию хронического аллергического воспаления и активации процессов апоптоза (табл. 2).

Таблица 1. Содержание МДА в плазме крови и эритроцитах у детей, больных АБА, в периодах обострения и ремиссии и у здоровых детей

Течение АБА	Кол-во детей	Содержание МДА, (M±m) нмоль/л			
		плазма		эритроциты	
		в периоде обострения	в периоде ремиссии	в периоде обострения	в периоде ремиссии
Лёгкое (II степень)	20	12,14±0,58 E <sub>x</sub> =0,22	7,69±0,61 E <sub>x</sub> =0,34	12,89±0,76 E <sub>x</sub> =0,44	8,73±0,48 E <sub>x</sub> =0,33
Средней тяжести (III степень)	54	15,43±1,03* E <sub>x</sub> =0,31	11,72±0,83* E <sub>x</sub> =0,28	15,67±0,84* E <sub>x</sub> =0,35	12,14±0,63 E <sub>x</sub> =0,27
Тяжёлое (IV степень)	18	18,69±1,19* E <sub>x</sub> =0,29	14,35±0,92* E <sub>x</sub> =0,41	18,84±1,22* E <sub>x</sub> =0,38	14,79±0,85* E <sub>x</sub> =0,46
Здоровые дети	31	5,14±0,63 (н)		7,89±0,49 (н)	

Примечания: 1. E<sub>x</sub> – показатель нормальности распределения выборки равен нулю.

2. н – норма.

3. \* p<0,05; достоверно при сравнении с показателем группы здоровых детей. Здесь и в табл. 2.

Таблица 2. Динамика активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах у детей, больных АБА, в периодах обострения и ремиссии и у здоровых детей

Течение АБА	Кол-во детей	Активность (M±m)			
		период обострения		период ремиссии	
		на 1 мг гемоглобина, усл. ед.	на 1 мл эритроцитарной взвеси, усл. ед.	на 1 мг гемоглобина, усл. ед.	на 1 мл эритроцитарной взвеси, усл. ед.
<i>Супероксиддисмутаза</i>					
Лёгкое (II ступень)	20	1,49±0,04 E <sub>x</sub> =0,32	334,6±10,28 E <sub>x</sub> =0,40	1,50±0,46 E <sub>x</sub> =0,37	341,3±11,46 E <sub>x</sub> =0,46
Средней тяжести (III ступень)	54	1,14±0,05* E <sub>x</sub> =0,41	293,4±13,17* E <sub>x</sub> =0,35	1,35±0,04 E <sub>x</sub> =0,29	312,7±9,84 E <sub>x</sub> =0,33
Тяжёлое (IV ступень)	18	1,10±0,03* E <sub>x</sub> =0,19	269,8±12,16* E <sub>x</sub> =0,29	1,23±0,04* E <sub>x</sub> =0,21	286,5±8,67* E <sub>x</sub> =0,34
Здоровые дети	31	1,56±0,08 (н)	349,5±17,11 (н)	1,56±0,08 (н)	349,5±17,11 (н)
<i>Каталаза, ME×10<sup>4</sup></i>					
Лёгкое (II ступень)	20	15,39±0,62 E <sub>x</sub> =0,43	3,24±0,21 E <sub>x</sub> =0,28	15,47±1,06 E <sub>x</sub> =0,33	3,42±0,17 E <sub>x</sub> =0,22
Средней тяжести (III ступень)	54	10,64±0,72* E <sub>x</sub> =0,39	3,02±0,12 E <sub>x</sub> =0,32	13,68±1,02* E <sub>x</sub> =0,48	3,08±0,14 E <sub>x</sub> =0,28
Тяжёлое (IV ступень)	18	6,38±0,56* E <sub>x</sub> =0,45	2,12±0,11* E <sub>x</sub> =0,36	8,69±0,34* E <sub>x</sub> =0,39	2,45±0,11* E <sub>x</sub> =0,33
Здоровые дети	31	17,5±1,67 (н)	3,75±0,21 (н)	17,5±1,67 (н)	3,75±0,21 (н)
<i>Глутатионпероксидаза</i>					
Лёгкое (II ступень)	20	0,179±0,04 E <sub>x</sub> =0,36	0,076±0,007 E <sub>x</sub> =0,31	0,183±0,03 E <sub>x</sub> =0,22	0,082±0,006 E <sub>x</sub> =0,41
Средней тяжести (III ступень)	54	0,127±0,08* E <sub>x</sub> =0,45	0,048±0,002* E <sub>x</sub> =0,25	0,171±0,04 E <sub>x</sub> =0,42	0,072±0,003 E <sub>x</sub> =0,35
Тяжёлое (IV ступень)	18	0,068±0,005* E <sub>x</sub> =0,28	0,029±0,003* E <sub>x</sub> =0,31	0,156±0,05* E <sub>x</sub> =0,29	0,068±0,002* E <sub>x</sub> =0,33
Здоровые дети	31	0,192±0,02 (н)	0,084±0,008 (н)	0,0192±0,02 (н)	0,084±0,008 (н)

Как видим, в группах детей, больных АБА, при среднетяжёлом и тяжёлом течении заболевания происходит срыв системы антиоксидантной защиты, что приводит к изменению в иммунологической системе, высокочувствительной к окислительному стрессу. Активация СРОЛ в органах-мишенях и биологических жидкостях вызывает деструкцию биомембран клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы, нарушение их проницаемости, функции мембранных ферментов и компартиментализации метаболических процессов с активацией гена р53 апоптоза с последующей гибелью клеток бронхиального дерева у данно-

го контингента детей. Повышение СРОЛ по показателю МДА служит фактором активации микробицидного и цитотоксического действия макрофагов и лимфоцитов, вызывая супрессию маркеров CD<sub>4</sub> и CD<sub>8</sub> и их отношения (CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub>), табл. 3.

Отмечается прямая корреляционная связь между повышением показателей МДА в плазме крови и эритроцитах и CD<sub>95</sub>-моноклеаров с нарастанием тяжести течения заболевания. Это свидетельствует о прогрессировании хронического рецидивирующего воспалительного процесса в бронхолёгочной системе за счёт активации процесса апоптоза (CD<sub>95</sub>) и присоединения ауто-

Таблица 3. Данные маркеров клеточного иммунитета у обследованных детей в периоде обострения и ремиссии в зависимости от тяжести течения АБА ( $M \pm m$ )

Течение АБА	Период заболевания	CD <sub>4</sub> , %	CD <sub>8</sub> , %	CD <sub>4</sub> /CD <sub>8</sub> , усл. ед.	CD <sub>95</sub> , %
Лёгкое (II степень)	Обострение	33,76±2,45 E <sub>x</sub> =-0,34	21,12±1,83 E <sub>x</sub> =-0,43	1,60±0,20 E <sub>x</sub> =-0,11	16,10±1,69 <sup>^*</sup> E <sub>x</sub> =0,26
	Ремиссия	29,21±2,50 E <sub>x</sub> =0,52	23,82±1,55 E <sub>x</sub> =0,48	1,20±0,13 E <sub>x</sub> =0,32	15,34±1,09 <sup>^#*</sup> E <sub>x</sub> =-0,56
Средней тяжести (III степень)	Обострение	34,81±1,45 E <sub>x</sub> =-0,19	19,15±1,13 E <sub>x</sub> =-0,28	1,80±0,23 E <sub>x</sub> =-0,20	27,13±2,42 <sup>*</sup> E <sub>x</sub> =0,27
	Ремиссия	31,30±2,75 E <sub>x</sub> =0,49	22,10±1,23 E <sub>x</sub> =0,32	1,40±0,16 E <sub>x</sub> =0,48	20,37±1,46 <sup>^#*</sup> E <sub>x</sub> =-0,41
Тяжёлое (IV степень)	Обострение	36,78±2,18 <sup>*</sup> E <sub>x</sub> =0,51	16,19±0,98 E <sub>x</sub> =0,38	2,30±0,32 E <sub>x</sub> =0,34	36,15±3,17 <sup>^*</sup> E <sub>x</sub> =0,33
	Ремиссия	33,49±2,24 E <sub>x</sub> =0,52	18,60±1,12 E <sub>x</sub> =0,27	1,80±0,18 E <sub>x</sub> =0,53	30,49±1,96 <sup>^*</sup> E <sub>x</sub> =0,23
Здоровые дети	—	30,15±1,60 (н)	26,18±1,30 (н)	1,15±0,10 (н)	5,80±0,73 (н)

Примечания: 1. E<sub>x</sub> и n – как в табл. 1 и 2.

2. p<0,05; \* достоверные отличия между показателями у больных с разной степенью тяжести течения болезни и нормативными показателями; ^ между показателями у больных с тяжёлым и лёгким течением болезни; # между показателями у больных со среднетяжёлым и лёгким течением болезни.

иммунного компонента в патогенезе АБА у данного контингента детей.

Таким образом, можно полагать, что состояние мембран эффекторных клеток у детей, больных АБА, изменяется в зависимости от тяжести течения заболевания и активации процессов СРОЛ, что приводит к повышению цитотоксичности сенсibilизированных Т-лимфоцитов, гиперпродукции ИЛ-4 и ФНО-α и активации генов апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы. В связи с этим, помимо базисной терапии, предложенной GINA (2006), в качестве дополнительной терапии показано назначение антиоксиданта α-токоферола ацетата, который в возрастных дозах, наряду с антиоксидантным действием, проявляет ингибирующий эффект на развитие ранней фазы апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы у детей, больных АБА.

#### Выводы

1. У детей, больных атопической бронхиальной астмой, имеет место повышение свободнорадикального окисления липидов по концентрации МДА в плазме крови и эритроцитах в прямой зависимости от тяжести течения заболевания.

2. У детей, больных атопической бронхиальной астмой, отмечается срыв системы ферментов антиоксидантной защиты при среднетяжёлом и тяжёлом течении заболевания.

3. У детей, больных атопической бронхиальной астмой, отмечается супрессия маркеров Т-лимфоцитов CD<sub>4</sub> и CD<sub>8</sub> и повышение CD<sub>95</sub>-моноклеаров, несущих на клеточной мембране один из маркеров апоптоза.

4. Отмечается прямая корреляционная зависимость между повышением свободнорадикального окисления липидов по уровню МДА в плазме крови и эритроцитах и CD<sub>95</sub>-моноклеаров, характеризующих активацию процесса апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы у детей, больных атопической бронхиальной астмой.

5. С целью ингибиции фазы раннего апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолёгочной системы у детей, больных атопической бронхиальной астмой, показано дополнительное включение в базисную терапию антиоксиданта α-токоферола ацетата в возрастной дозировке при среднетяжёлом и тяжёлом течении заболевания.

## Литература

1. Бронхиальная астма. Глобальная стратегия. Совместный доклад Национального института сердца, легких, крови (США) и ВОЗ // Пульмонология (приложение). – 1996. – № 3. – 165 с.
2. Апоптоз в иммунологических процессах / Н.И. Сепиашвили, М.Г. Шубич, Н.В. Колесникова, Т.А. Славянская // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 15–23.
3. Лушников Е.Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е.Ф. Лушников, А.Ю. Абросимов. – М.: Медицина, 2001. – 192 с.
4. Чернуский В.Г. Развитие апоптоза эффекторных клеток в результате применения глюкокортикостероидов и  $\beta_2$ -агонистов у детей, больных бронхиальной астмой / В.Г. Чернуский, Ю.В. Одинец // Медицина сегодня и завтра. – 2005. – № 1. – С. 109–112.
5. Болевич С. Роль свободнорадикальных процессов в патогенезе бронхиальной астмы / С. Болевич, И.Г. Даниляк, А.А. Стрелогров // Пульмонология. – 1995. – № 1. – С. 18–24.
6. Герасимов С.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при бронхиальной астме / С.В. Герасимов // Укр. мед. часопис. – 2000. – № 1 (15). – С. 86–91.
7. Морозова А.Д. Особенности свободнорадикального окисления липидов у детей, больных atopической бронхиальной астмой / А.Д. Морозова // Медицина сегодня и завтра. – 2005. – № 2. – С. 92–96.
8. Бережная Н.М. Нарушение различных уровней иммунологической регуляции при atopической бронхиальной астме / Н.М. Бережная, С.А. Котова, О.Б. Белова // Астма. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 99–106.
9. Чернуский В.Г. Особенности изменений показателей маркеров клеточного иммунитета у детей с различными формами бронхиальной астмы / В.Г. Чернуский, А.Д. Морозова // Эксперим. и клин. иммунология. – 2008. – № 2. – С. 126–129.
10. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких / А.Г. Чучалин. Глава 7. Оксидантные и антиоксидантные системы легких при хронических обструктивных заболеваниях / С.К. Соодаева. – М.: Изд-во БИНОМ, 2000. – С. 92–111.
11. Asakawa T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipidhydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushita // Lipids. – 1980. – V. 15, № 3. – P. 137–140.
12. Сравнительный анализ активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов и цельной крови у новорожденных детей при хронической гипоксии / Е.Е. Дубинина, Л.Ф. Ефимова, Л.Н. Софронова, А.Л. Геронимус // Лаб. дело. – 1988. – № 8. – С. 46–49.
13. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
14. Гаврилова А.Д. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата / А.Д. Гаврилова, Н.Р. Хмара // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 721–724.

**В.Г. Чернуский, Г.Д. Морозова, О.Л. Говаленкова, А.В. Лetyago**

**БІОХІМІЧНІ ФАКТОРИ ЗАПУСКУ СИСТЕМИ АПОПТОЗУ В БРОНХОЛЕГЕНЕВІЙ СИСТЕМІ ПРИ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ У ДІТЕЙ**

Досліджено зміни вільнорадикального окиснення ліпідів за рівнем малонового діальдегіду (МДА) в плазмі крові і еритроцитах, ферментів антиоксидантного захисту, маркерів клітинної ланки імунітету  $CD_4$ -Т-хелперів,  $CD_8$ -Т-супресорів,  $CD_{95}$ -мононуклеарів, що несуть на клітинній мембрані один із маркерів апоптозу, у 92 дітей, хворих на atopічну бронхіальну астму, у віці від 5 до 14 років, у періодах загострення і ремісії захворювання. Встановлена пряма кореляційна залежність підвищення рівня МДА від активації процесу апоптозу і тяжкості перебігу захворювання.

**Ключові слова:** вільнорадикальне окиснення ліпідів, малоновий діальдегід, ферменти антиоксидантного захисту, апоптоз, маркери Т-лімфоцитів, патогенез, обґрунтування терапії.

**V.G. Chernuskiy, A.D. Morozova, O.L. Govalenkova, A.V. Letyago**

**BIOCHEMICAL FACTORS FOR LAUNCH OF SYSTEM OF APOPTOSIS IN BRONCHOPULMONARY SYSTEM IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA**

There are studied the changes of freeradical oxidation of lipids by the level of malondialdehyde (MDA) in plasma and erythrocytes, antioxidant enzymes, markers of cellular immunity  $CD_4$  count of T-helper cells,  $CD_8$ -T-soupsprings,  $CD_{95}$ -mononuclear cells bearing one of the markers of apoptosis on the cell membrane in 92 children with atopical bronchial asthma at the age of 5 to 14 in a period of exacerbation and remission of the disease. There is found a direct correlation between the increasing of MDA with an activation of apoptosis and the severity of the disease.

**Key words:** freeradical oxidation of lipids, malondialdehyde, antioxidant enzymes, apoptosis, markers of T-lymphocytes, pathogenesis, grounding of therapy.

Поступила 05.06.10

## ДИТЯЧІ ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 616.34-022-085.33-085.453.6-06:616.839]-053.2

*О.М. Ольховська*

### СТАН ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА КИШКОВІ ІНФЕКЦІЇ, В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СПОСОБУ ВВЕДЕННЯ АНТИБІОТИКА

*Харківський національний медичний університет, м. Харків*

Обстежено 72 дитини віком 6 міс – 3 роки, хворих на гострі бактерійні кишкові інфекції, частина з яких отримувала перорально цефікс, решта – парентерально цефтриаксон. В обох групах досягнуто повне клініко-лабораторне одужання. Проведена кардіоінтервалографія виявила значну напругу нервової системи у дітей, що знаходилися на парентеральній антибактеріальній терапії.

**Ключові слова:** вегетативна реактивність, діти, кишкові інфекції, антибіотикотерапія.

Гострі кишкові інфекції займають провідне місце у структурі дитячої інфектології [1, 2]. Високий захворюваності дітей з кишковими інфекціями сприяє низка факторів, а саме нестійкість імунної відповіді після перенесеної хвороби, неспроможність дитини підтримувати належний санітарно-гігієнічний режим, зростання ролі не тільки патогенної, але й умовно-патогенної флори як фактора агресії в кишечнику, збільшення чисельності антибіотикорезистентних штамів тощо [3, 4]. В терапії бактеріальних кишкових інфекцій ефективними залишаються цефалоспорины III–IV покоління і фторхінолони. Ці антибіотики офіційно рекомендовані в якості стартових в педіатричній практиці для лікування кишкових інфекцій [5], хоча дослідження останніх років вказують на зниження чутливості збудників до цих препаратів [6, 7]. Оптимізація етіотропної терапії дітей, хворих на кишкові інфекції, залишається актуальною проблемою. Поряд з проблемою ефективності медикаментів, важливими є і аспекти переносимості й сприйняття, дотримання рекомендацій щодо застосування ліків пацієнтом та/або батьками хворої дитини.

Мета дослідження – оптимізація терапії хворих на бактеріальні кишкові інфекції дітей на підставі вивчення стану вегетативної реактивності організму в залежності від способу введення препаратів.

© *О.М. Ольховська.*

**Матеріал і методи.** Під спостереженням на базі Харківської обласної дитячої інфекційної клінічної лікарні знаходилися 72 дитини раннього віку (від 6 міс до 3 років), хворі на кишкові інфекції бактеріальної етіології. Поряд з традиційними методами обстеження, проводилось дослідження стану вегетативної нервової системи методом кардіоінтервалографії (КІГ) в гострому періоді та на 3-тю–5-ту добу лікування [8]. Діти були розподілені на дві групи: основну (38) та контрольну (34). Захворювання у всіх дітей перебігало у середньотяжкій формі. Провідним клінічним симптомом кишкових інфекцій були симптоми гастроентероколіту. Лікування проводилося з дотриманням дієти, регідратаційна терапія – у відповідності зі ступенем зневоднення і симптоматичної терапії. В якості етіотропної терапії хворі основної групи отримували цефікс перорально; діти контрольної групи – рекомендований згідно з протоколом діагностики та лікування інвазивних діарей у дітей цефтриаксон внутрішньом'язово або внутрішньовенно. Дози антибіотиків призначали згідно з вимогами фармакопеї. Середня тривалість курсу лікування складала 5 діб. В жодному з випадків не відмічено побічної дії препарату або відмови пацієнта від прийому лікарського засобу.

Розподіл хворих за етіологічним чинником кишкових інфекцій показано в табл. 1.

Таблиця 1. Частота виявлення збудників кишкових інфекцій у дітей

Збудник	Основна група	Група контролю
Шигели <i>Sonnei</i>	12	10
Шигели <i>Flexneria</i>	8	7
Сальмонели <i>Enteritidis</i>	10	11
Патогенні ешерихії	8	6
Усього	38	34

**Результати та їх обговорення.** Критеріями ефективності проведеної терапії були строки регресії симптомів загальної інтоксикації, нормалізації випорожнень і санація дитячого організму від збудника.

Тривалість основних клінічних симптомів у дітей обох груп наведена в табл. 2.

Таблиця 2. Тривалість основних клінічних симптомів кишкових інфекцій, ( $M \pm m$ ) днів

Показник	Основна група (n=38)	Група контролю (n=34)
Лихоманка	3,54±0,44	3,36±0,45
Млявість	2,96±0,21	3,23±0,34
Занепокоєння	2,33±0,15	2,54±0,32
Зниження апетиту	3,65±0,28	3,38±0,45
Відмова від їжі	2,72±0,34	2,52±0,28
Зригування та/або блювота	2,15±0,27	2,02±0,21
Блідість шкіри	3,63±0,51	3,57±0,32
Симптоми ексикозу	2,44±0,24	2,12±0,36
Спазм сигмоподібної кишки	1,75±0,25	2,35±0,32
Урчання кишечника	2,55±0,24	2,72±0,34
Нормалізація випорожнень	4,13±0,32	4,08±0,43
Перебування у стаціонарі	8,74±1,60	9,25±1,72

Таблиця 3. Показники кардіоінтервалографії в різні періоди хвороби ( $M \pm m$ )

Показник	Група	Гострий період	Період ранньої реконвалесценції
МО, с	Основна	0,43±0,04	0,50±0,03
	Контрольна	0,43±0,06	0,46±0,03
АМО, %	Основна	45,32±2,11	30,10±1,43* <sup>#</sup>
	Контрольна	44,21±1,73	36,20±2,11* <sup>#</sup>
$\Delta x$ , с	Основна	0,04±0,01	0,16±0,01* <sup>#</sup>
	Контрольна	0,04±0,02	0,10±0,01* <sup>#</sup>
ІН, ум. од.	Основна	653,66±10,32	163,26±8,73* <sup>#</sup>
	Контрольна	643,12±9,64	242,52±7,41* <sup>#</sup>

Примітка.  $p < 0,05$ ; \* достовірність різниці ознаки в різні періоди хвороби; <sup>#</sup> достовірність при порівнянні між групами спостереження.

Аналіз отриманих даних свідчить про високу ефективність застосування препаратів per os в комплексній терапії бактеріальних кишкових інфекцій. Що стосується динаміки нормалізації клінічних проявів з боку кишечника, то в окремих випадках цефікс був більш ефективним (строки зникнення симптомів урчання кишечника, спазму сигмоподібної кишки). Цей факт можна пояснити безпосереднім впливом антибіотика на патогени у просвіті кишечника. Бактеріологічне

дослідження калових мас через 1–2 доби після закінчення антибактеріальної терапії виявило у всіх хворих санацію кишечника.

Дослідження змін вегетативної реактивності хворих в гострому періоді хвороби виявило підвищення тону симпатичної ланки ВНС, що проявилось зменшенням моди (Мо) і варіаційного розмаху ( $\Delta x$ ), збільшенням амплітуди моди (АМО) й індексу напруження (ІН). Це свідчить про напруження адаптаційних механізмів, які здійснюються внаслідок мобілізації симпатичної ланки ВНС дітей (табл. 3).

В періоді реконвалесценції збереження підвищеної функціональної активності симпатичної ланки ВНС спостерігалось у хворих, антибактеріальну терапію яких проводили з парентеральним застосуван-

ням препарату. У цих хворих рееструвалися більш високі показники АМО і ІН у порівнянні із хворими основної групи ( $p < 0,05$ ). Така відповідь організму свідчить про затримку відновлення фонові активності діяльності нервової системи і стан перенапруження ВНС. У той же час при оральному застосуванні антибіотика спостерігалась позитивна динаміка відновлення діяльності ВНС, про що свідчили вірогідно низькі показники АМО і ІН, високі рівні  $\Delta x$ .

Таким чином, парентеральне застосування ліків сприяє більш тривалому збереженню підвищеної активності симпатичної ланки ВНС хворих на кишковій інфекції, що треба враховувати в гострому періоді, на етапах ранньої реконвалесценції і диспансерного нагляду. Призначення лікарських засобів внутрішньо сприятливо впливає на стан ВНС, одужання дитини перебігає на тлі адекватної реактивності без явищ перенапруження. Застосування антибіотика перорально знижує дратівливість і збудження дитини, попереджує розвиток побічних реакцій і ускладнень від внутрішньом'язового або внутрішньовенного введення ліків, пом'якшує стресову реакцію дитини під час перебування у стаціонарі.

### Література

1. Крамарев С.О. Проблемні питання інфекційних хвороб в Україні / С.О. Крамарев // Здоров'я України. – 2007. – № 2/1 (додатковий). – С. 7–9.
2. Онищенко Г.Г. Заболеваемость острыми кишечными инфекциями в Российской Федерации / Г.Г. Онищенко // Иммунология. – 2008. – Т. 29, № 1. – С. 24–26.
3. Борисова Е.В. Иммуносупрессивное свойство вирулентных шигелл // Микробиология. – 2000. – Т. 62, № 1. – С. 64–72.
4. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи / А.Р. Мавзютов, В.М. Бондаренко, Н.Ю. Жеребцова, Д.А. Валишин // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2007. – № 3. – С. 89–96.
5. Наказ МОЗ України № 803 від 10.12.2007 р. «Про внесення змін до наказу МОЗ від 09.07.2004 «Про затвердження Протоколів діагностики та лікування інфекційних хвороб у дітей».
6. Заміна етіологічної структури бактерійних збудників гострих кишкових інфекцій та їх антибіотикочутливості у дітей Хмельницької області / Л.В. Пипа, О.В. Піддубна, М.М. Мургіна та ін. // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 3. – С. 63–66.
7. Волосовец А.П. Современные взгляды на проблему антибиотикорезистентности и ее преодоление в клинической педиатрии / А.П. Волосовец, С.П. Кривоустов, Е.И. Юлиш // Новости медицины и фармации. – 2008. – № 236. – С. 41–47.
8. Кардиоинтервалография в оценке реактивности и тяжести состояния больных детей: Метод. рекомендации. – М., 1985. – 19 с.

*О.Н. Ольховская*

### СОСТОЯНИЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕАКТИВНОСТИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ВВЕДЕНИЯ АНТИБИОТИКА

Обследовано 72 ребёнка в возрасте 6 мес – 3 года, больных острыми бактериальными кишечными инфекциями, часть из которых получала перорально цефикс, остальные – парентерально цефтриаксон. В обеих группах отмечено полное клинико-лабораторное выздоровление. Проведённая кардиоинтервалография выявила значительное напряжение нервной системы у детей, находившихся на парентеральной антибактериальной терапии.

**Ключевые слова:** вегетативная реактивность, дети, кишечные инфекции, антибиотикотерапия.

*О.М. Olkhovska*

### VEGETATIVE REACTIVITY STATUS OF CHILDREN WITH INTESTINAL INFECTIONS DEPENDING ON METHOD OF ANTIBIOTIC INTRODUCTION

72 children 6 months – 3 years old with acute bacterial intestinal infections the part of which received Cefix orally and another – Ceftriaxone parenterally was investigated. The full clinical and bacteriological convalescence was comparable in both groups. According to laboratory investigation (cardiointervalography) the course of disease was associated with significant stress at patients with parenteral antibiotic therapy.

**Key words:** vegetative reactivity, children, intestinal infections, antibiotics treatment.

Поступила 05.04.10

УДК 612.616.31-07:616.36-002.1-022.7-053.6-615.357-02:616.361

*З.В. Елоева, А.Ю. Кипаренко, И.И. Баталичева, М.Н. Акинина*

## БИОХИМИЧЕСКИЕ И БИОФИЗИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ РАННИХ СТАДИЙ ХОЛЕЛИТИАЗА У ДЕТЕЙ С АЦИКЛИЧЕСКИМИ ВАРИАНТАМИ ТЕЧЕНИЯ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА А

*Харьковская медицинская академия последипломного образования  
Харьковская областная детская инфекционная клиническая больница*

Рассмотрены физико-химические критерии диагностики ациклических вариантов течения вирусного гепатита А по результатам обследования 150 детей путём определения патофизиологических изменений, свидетельствующих о вероятности возникновения расстройств желчевыделения. Для разных вариантов течения вирусного гепатита А определены наиболее характерные эхоскопические признаки и показатели жёлчи. Выделены физико-химические показатели для характеристики билиарных расстройств.

**Ключевые слова:** вирусный гепатит А, билиарные нарушения, литогенез, холестаза, воспаление.

В подавляющем большинстве случаев желчнокаменная болезнь у детей диагностируется в латентной (микрокалькулезной) или хирургической стадии. Выявление же ранних стадий желчнокаменной болезни является сложной, но социально значимой проблемой, так как позволяет эффективно использовать консервативную терапию, без оперативного вмешательства, ведущего к инвалидизации ребёнка.

Развитию билиарной патологии может способствовать вирусный гепатит А (ВГА), частота которого не имеет тенденции к уменьшению. После перенесённого ВГА у некоторых детей сохраняются нарушения желчевыделения.

Гепатит А с проявлениями холестаза имеет затяжное, ациклическое течение. Патологические процессы в печени при инфицировании ВГА у взрослых и детей принципиально не различаются [1–3].

Целью работы явилась разработка критериев диагностики физико-химической стадии холелитиаза у детей с ациклическими вариантами ВГА и повышение эффективности диагностики этой стадии.

Определяли литогенность жёлчи у детей с ациклическими вариантами течения ВГА по механизму кристаллизации липидов жёлчи. С учётом сложности и недостаточ-

ной эффективности консервативной терапии в поздних стадиях желчнокаменной болезни особое значение приобретает диагностика холелитиаза в доклиническом периоде и физико-химической стадии.

**Материал и методы.** В Харьковской областной детской инфекционной клинической больнице находились на лечении 150 детей в возрасте 5–14 лет с ВГА, у которых в последующем (через 1–2 года) была диагностирована билиарная патология; преобладали дети старшего возраста, девочки. Первичный диагноз верифицировали на основании клинико-анамнестических данных и результатов общепринятых лабораторно-инструментальных исследований. На втором этапе диагностики всем детям проводили комплексное исследование литогенного потенциала жёлчи (подсчёт индексов литогенности Метцгера (ЛИМ), Томаса–Хоффмана–Мансурова (ЛИТ-Х-М), Кэри (ЛИК), холатохолестеринового коэффициента Эндрюса, индекса насыщения холестерином Свелла, коллоидно-осмотического индекса Рубенса (ЛИР). С помощью фракционного ультразвукового исследования желчевыводящих путей определяли кинетикотоническое состояние жёлчного пузыря.

Поскольку микроскопия жёлчи в прямом свете лишь свидетельствует о наличии

© З.В. Елоева и др.

кристаллов холестерина или аморфных глыбок билирубината кальция, но не даёт возможности определить фазовый состав жёлчи, отражающий состояние липидного комплекса и степень стабильности коллоидного раствора, у всех детей проводили микроскопическое исследование жёлчи в поляризованном свете, полученном при скрещивании двух призм Николя. Такая методика позволяет определить степень упорядоченности молекул в препарате, идентифицировать модификации выделившихся из жёлчи фаз, описать их устойчивость и область существования. В качестве диагностических параметров при анализе фазового состава жёлчи выступают кинетика процессов агрегации и морфология возникающих при этом структур. Исследование проводили через 60 и 180 мин, 24 ч после получения материала. Эти сроки знаменуют окончание стадий структурирования жёлчи, характеризующихся соответствующим изменением морфологии структур. Просмотр препаратов в поляризованном свете расширяет диагностические возможности микроскопического исследования. Все диагнозы верифицированы эхосонографически, а поляризационная микроскопия служила дополнительным методом исследования, причём полное совпадение диагнозов имело место в 92 % случаев. Преимущества поляризационной микроскопии перед микроскопией в прямом свете: лучшая визуализация кристаллов холестерина и суммарных липидов при данной длине волны, многократный просмотр препаратов в разные временные отрезки. Характерно, что механизм кристаллизации зависит как от наличия воспалительного процесса, так и от кинетики жёлчного пузыря. Поэтому привлекает внимание экстракорпоральная жидкокристаллическая диагностика инициации литогенеза.

**Результаты и их обсуждение.** Поскольку характер микроскопической картины при нескольких видах патологии различный, целесообразно использование балльной системы оценки литогенности жёлчи по мере нарастания изменений.

В образцах жёлчи при отсутствии билиарных изменений имеет место дендритный механизм кристаллизации липидов (0 баллов). В пузырьной жёлчи отмечается переход мицеллярного раствора в жидкокристаллическую фазу и твёрдый кристалл, в печёночной жёлчи молекулярный раствор переходит в мицеллярный, затем в жидкокристаллическую фазу и твёрдый кристалл. Моле-

кулярный и мицеллярный растворы, будучи изотропными, не проявляют двулучепреломления и выглядят при скрещённых «николях» как однородное тёмное поле. О появлении жидкокристаллической фазы можно судить по возникновению областей двулучепреломления в виде отдельных светящихся линий и мелких конфокальных доменов (рис. 1). При дальнейшей выдержке формируются системы линий с растянутыми узлами в местах пересечения, увеличиваются число и размеры конфокальных доменов. Появление по периферии образцов тонких дендритных кристаллов свидетельствует об окончании процессов структурных перестроек (рис. 2).

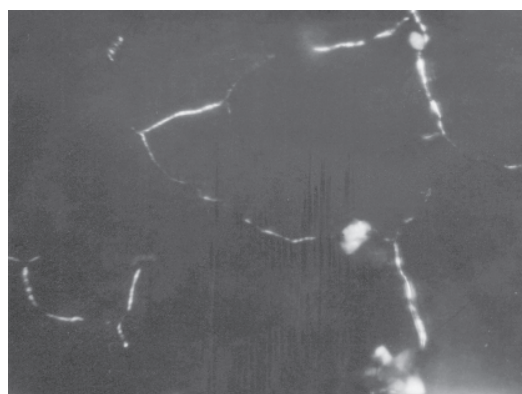


Рис. 1. Нормальный дендритный механизм кристаллизации липидов жёлчи,  $\times 180$

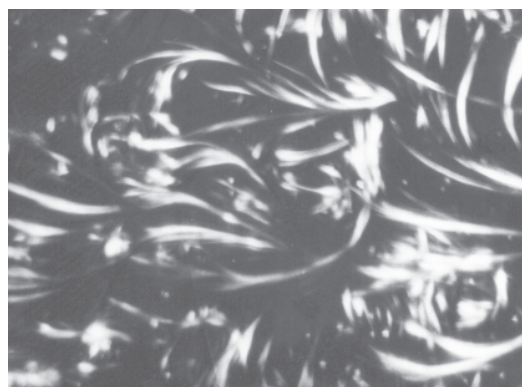


Рис. 2. Ускоренный дендритный механизм кристаллизации липидов жёлчи (вариант нормы),  $\times 180$

При наличии билиарных нарушений общая последовательность преобразований нарушается. Дендритный механизм кристаллизации с ускорением её сроков оценивается в 1 балл и имеет место при ациклических вариантах ВГА, особенно сопровождающихся кинетико-тоническими расстройствами функции билиарной системы. При этом морфология образующихся структур не выходит за рамки нормальной.

Преимущественно дендритный механизм кристаллизации липидов оценивается в 2 балла и характерен для жёлчи больных с ациклическими вариантами ВГА и воспалительными изменениями со стороны билиарной системы. При этом имеет место обилие фибриллярных кристаллов эфиров холестерина, появляющихся на высоте воспалительного процесса (рис. 3). Характерной особенностью жёлчи таких больных является появление в свежих препаратах двулучепреломляющей жидкокристаллической фазы липидного комплекса, количество которой значительно увеличивается к 60-й–70-й минуте. В это же время появляются крупные цилиндрические фазы с растянутыми узлами в местах их сопряжения. Через 180–200 мин они теряют устойчивость и приобретают вид сложных миелоидных фигур, в дальнейшем полностью замещающихся массивными конфокальными текстурами, типичными для слоистых жидкокристаллических фаз. Процесс кристаллизации заканчивается к концу первых суток образования дендритов.

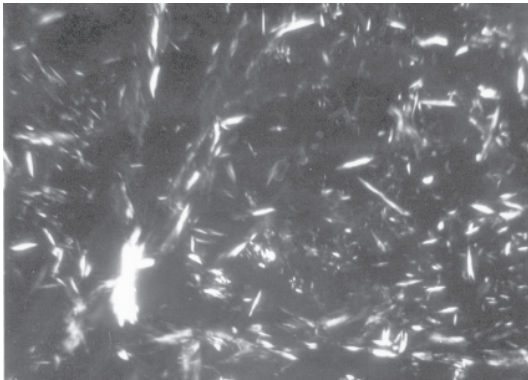


Рис. 3. Преимущественно дендритный механизм кристаллизации липидов с превалированием фибриллярных структур,  $\times 180$

Для литогенных изменений при ВГА характерен дисклинационный механизм кристаллизации липидов. Преимущественно дисклинационный механизм кристаллизации липидов также имеет место при длительно текущем воспалительном процессе в пузыре, изменяющем его резорбтивные свойства. В таких случаях в свежих препаратах обнаруживаются отдельные конфокальные домены и их скопления, в дальнейшем на их месте формируются мелкие ромбовидные кристаллы и искажённые дендриты, то есть имеет место гетерогенность фазового состава (рис. 4).

Дисклинационный механизм кристаллизации липидов, оцениваемый в 4 балла,

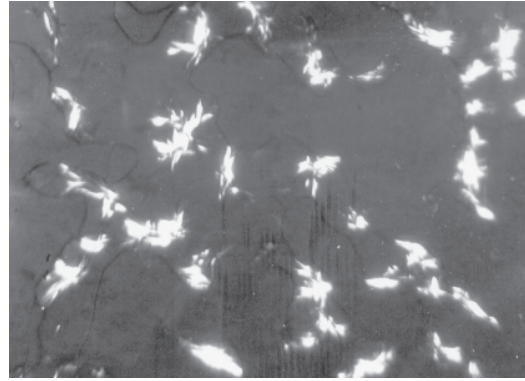


Рис. 4. Преимущественно дисклинационный механизм кристаллизации липидов жёлчи,  $\times 180$  имеет место при ациклических вариантах ВГА с выраженными литогенными изменениями, которые можно расценить как физико-химическую стадию холелитиаза. При этом во всех свежих препаратах жёлчи отмечается обилие ромбовидных кристаллов моногидрата холестерина, жидкокристаллические же текстуры практически отсутствуют. Характерным признаком служит появление в препаратах после 1–3-часовой выдержки единичных кристаллов со ступенчатым ростом, а также конгломератов на их основе (рис. 5). К концу первых суток они встречаются во всех образцах. Другие структуры в жёлчи к этому времени уже не определяются.



Рис. 5. Дисклинационный механизм кристаллизации липидов жёлчи,  $\times 180$

Выраженный дисклинационный механизм кристаллизации, оцениваемый в 5 баллов, имеет место при ациклических ВГА с микро- и макрокалькулёзом, то есть латентной и хирургической стадиях холелитиаза. Характерным признаком служит наличие в свежих препаратах единичных кристаллов со ступенчатым ростом и их конгломератов (рис. 6).

Для холелитиаза характерно выпадение стадий мицеллярного раствора и жидко-



Рис. 6. Выраженный дисклинационный механизм кристаллизации липидов жёлчи,  $\times 180$

кристаллической фазы, то есть кристаллизация из пересыщенного молекулярного раствора. При выраженной литогенности жёлчи уже в свежих препаратах определялись ромбовидные кристаллы моногидрата холестерина, редкие единичные кристаллы, происходило образование конгломератных кристаллов.

Перечисленные изменения характерны как для пузырьной, так и для печёночной порций жёлчи. Поскольку разведение печёночной порции больше, чем пузырьной, временные интервалы кристаллизации в ней более длительные. Это подтверждается и величинами биохимических показателей, и литогенными индексами в печёночной порции [4].

При комплексном клинико-лабораторно-инструментальном обследовании детей выявлено следующее.

У всех детей с ациклическим течением ВГА при проведении фракционного эхоскопического исследования превалировала гипокинезия жёлчного пузыря и гипертонус сфинктерного аппарата [5]. В группе детей с циклическим течением ВГА биохимические показатели жёлчи незначительно отличались от таковых у практически здоровых детей [3]. Признаки холестаза отсутствовали. Холатохолестериновый коэффициент Эндрюса указывал на незначительное снижение коллоидной стабильности, а индекс насыщения холестерином Свелла – максимальное насыщение жёлчи холестерином с тенденцией к его повышению. Значения ЛИК и ЛИР приближались к таковым у практически здоровых детей. Точка фазового состава жёлчи находится на границе стабильной мицеллярной зоны и нестабильной зоны с полной гетерогенностью, что характеризует нестабильность данного коллоидного раствора. При микроскопии преобладал дендритный механизм кристалли-

зации липидов, хотя были признаки и дисклинационного механизма.

В группе детей с ациклическим ВГА в качестве компенсаторных реакций прослеживаются высокие уровни всех компонентов липидного комплекса, что является косвенным признаком холестаза [2]. На более высокие уровни холестерина и его солюбилизирующих факторов указывают повышение всех литогенных индексов и снижение холатохолестеринового коэффициента. Кроме того, значение ЛИР отражает высокую вероятность эволюции жидких кристаллов в твёрдые. Микроскопически этому соответствуют выраженный дисклинационный механизм кристаллизации липидов, обилие осадочных элементов (в прямом свете) [6].

При осмотре препаратов в прямом свете выявляется много осадочных элементов и выражена гиперсекреция слизи.

Таким образом, в жёлчи существует два типа кристаллизации: дендритный рост суммарных липидов и дисклинационный рост ступенчатых кристаллов производных холестерина.

В силу того, что кинетико-морфологические характеристики отражают перестройки в системе лецитиножёлчные кислоты–холестерин–вода, этот способ диагностики может быть использован только в случаях холестериновых и преимущественно холестериновых камней. Поскольку концентрация холестерина в жидкокристаллической фазе значительно выше, чем в окружающей изотропной среде, функция жидких кристаллов может состоять в предотвращении осаждения холестерина [7]. Можно сказать, что жидкокристаллическая фаза – предшественница конкрементов и не является долгоживущей.

Что касается биохимического анализа сыворотки крови, то его показатели в обеих группах не выходили за пределы нормы. Это свидетельствует об отсутствии осложнённых форм и «незаинтересованности» гепатоцитов в начальных стадиях заболевания [8].

Полученные данные позволяют заключить, что значительная часть детей с ациклическим течением ВГА страдает билиарными нарушениями (воспалительными, литогенными, холестатическими), критериями диагностики которых могут являться: а) биохимические – дискразия в порциях В и С, компенсаторное увеличение синтеза холестерина-солюбилизирующих факторов, нахождение точки фазового состава жёлчи в нестабильной зоне; б) биофизические –

микроскопические в прямом свете – признаки дискразии, микроскопические в поляризованном свете – преимущественно дисклинационный механизм кристаллизации липидов; в) эхоскопические – снижение сократительной функции жёлчного пузыря, повышение тонуса сфинктерного аппарата, холепатия.

#### Выводы

1. Просмотр препаратов жёлчи в поляризованном свете является ценным дополнительным методом к традиционному микроскопическому и биохимическому её исследованию.

2. Микроскопия в поляризованном свете более достоверна по сравнению с микроскопией в прямом свете.

#### Литература

1. Роль гептрала в лечении хронических заболеваний печени с наличием внутрипеченочного холестаза / Э.П. Яковенко, П.Я. Григорьев, А.В. Яковенко и др. // Гепатология. – 2003. – № 4. – С. 14–17.
2. Майер К.Л. Гепатит и последствия гепатита / К.Л. Майер. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 2004. – 720 с.
3. Крамарев С.О. Вирусные гепатиты у детей / С.О. Крамарев // Клин. иммунол., алергол, інфектол. – 2005. – № 1. – С. 17–20.
4. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.Г. Рем. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
5. Учайкин В.Ф. Вирусные гепатиты от А до TTV у детей / В.Ф. Учайкин, Н.И. Нисевич, Т.В. Чередниченко. – М.: Новая Волна, 2003. – 432 с.
6. Гунякова В.К. Вирусный гепатит у детей: клинико-эпидемиологические и социальные аспекты / В.К. Гунякова // Рос. педиатр. журн. – 2005. – № 3. – С. 21–25.
7. Мансурова Ф.Х. Опыт дифференциальной диагностики холестатических поражений печени / Ф.Х. Мансурова, С.О. Олимова, Н.С. Тухтаева // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2007. – Т. 10, № 5. – С. 83.
8. Сучасний стан проблеми вірусних гепатитів в Україні / А.Л. Гураль, В.Р. Шагінян, Т.А. Сергеева та ін. // Сімейна медицина. – 2006. – № 1. – С. 14–16.

**З.В. Єлосєва, О.Ю. Кіпаренко, І.І. Баталічева, М.М. Акініна**

#### БІОХІМІЧНІ І БІОФІЗИЧНІ КРИТЕРІЇ ДІАГНОСТИКИ РАННІХ СТАДІЙ ХОЛЕЛІТІАЗУ У ДІТЕЙ З АЦИКЛІЧНИМИ ВАРІАНТАМИ ПЕРЕБІГУ ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ А

Розглянуто фізико-хімічні критерії діагностики ациклічних варіантів перебігу вірусного гепатиту А за результатами обстеження 150 дітей шляхом виявлення патофізіологічних змін, що свідчать про вірогідність виникнення розладів жовчовиділення. Для різних варіантів перебігу вірусного гепатиту А визначено найбільш характерні ехоскопічні ознаки і показники жовчі. Виділено фізико-хімічні показники для характеристики біліарних розладів.

**Ключові слова:** вірусний гепатит А, біліарні порушення, літогенез, холестаз, запалення.

**Z.V. Yeloyeva, A.Yu. Kiparenko, I.I. Batalicheva, M.N. Akinina**

#### BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL CRITERIA OF DIAGNOSTICS OF ACYCLIC VARIANTS OF VIRAL HEPATITIS IN CHILDREN

The article is devoted to the physico-chemical criteria of acyclic variants of viral hepatitis A, according to the results of the examined (n=150) children, by revelation of pathophysiological changes that testify the biliary disorders. The most characteristic echoscopic signs and bile values were determined for different variants of viral hepatitis A course. The physico-chemical findings for characteristics of different forms of biliary disorders were distinguished.

**Key words:** viral hepatitis A, biliary disorders, lithogenesis, cholestasis, inflammation.

Поступила 09.02.10

## ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

УДК [616.-022.363:579.861.2]-085.33.015.8

*А.Г. Салманов\**, *В.Ф. Марієвський\*\**, *С.І. Доан\*\**АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ  
КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ *ESCHERICHIA COLI*  
В ХІРУРГІЧНИХ СТАЦІОНАРАХ УКРАЇНИ В 2009 РОЦІ\* *Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ*\*\* *ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», м. Київ*

Досліджено 6524 клінічні штами *E. coli*, виділені від пацієнтів, госпіталізованих в хірургічні відділення 97 багатопрофільних стаціонарів різних регіонів України в 2009 р. Вивчено чутливість штамів до 33 антибіотиків. Показано, що найбільшу активність до досліджених штамів мають імipенем, меропенем, гатифлоксацин, пefлоксацин, амікацин, нетилміцин та левофлоксацин. Зроблено висновок, що політика використання антибіотиків у кожному хірургічному стаціонарі повинна визначатися в залежності від локальних даних резистентності до протимікробних препаратів. Доцільно налагодити систему епідеміологічного нагляду за мікробною резистентністю на локальному, регіональному і національному рівнях.

*Ключові слова: E. coli, нозокоміальні інфекції, епідеміологічний нагляд, моніторинг.*

Останнім часом спостерігається ріст антимікробної резистентності штамів *Escherichia coli* [1, 2], які є одними з провідних збудників нозокоміальних гнійно-запальних інфекцій [3, 4]. Причому частота резистентності має значні коливання до різних груп і класів антимікробних препаратів [4–7]. Отже, успіх стартової антибактеріальної терапії нозокоміальної гнійно-запальної інфекції, викликаной *E. coli*, залежить від правильного вибору антибіотика, що можливо при наявності даних про його резистентність.

Незважаючи на актуальність і клінічне значення, проблема резистентності *E. coli* в Україні досліджена недостатньо, а ті дані, що існують, мають суттєві відмінності. Це ускладнює адекватну антимікробну терапію хворих. Очевидно, що окремі дані закордонної і вітчизняної літератури не можуть замінити результати багатоцентрових досліджень, за допомогою яких можна визначити масштаби поширення антибіотикорезистентності штамів *E. coli* на локальному, ре-

гіональному та національному рівнях. Це пов'язано з тим, що політика використання антибіотиків в Україні та інших країнах суттєво відрізняється. Оскільки в Україні подібні дослідження на державному рівні не впроваджені, першим кроком до їх здійснення слід вважати вивчення резистентності клінічних штамів *E. coli*, які виділяються практичними бактеріологічними лабораторіями України.

Метою даної роботи було вивчення антибіотикорезистентності клінічних штамів *E. coli*, виділених у пацієнтів, госпіталізованих в хірургічні стаціонари різних регіонів України.

**Матеріал і методи.** Досліджено 6524 клінічні штами *E. coli*, виділені від пацієнтів, госпіталізованих в хірургічні відділення 97 багатопрофільних стаціонарів 25 областей України, а також міст Києва і Севастополя протягом 2009 р. Клінічні штами виділені та ідентифіковані у 83 мікробіологічних лабораторіях різних регіонів України. Дослідження клінічного матеріалу і інтерпретацію

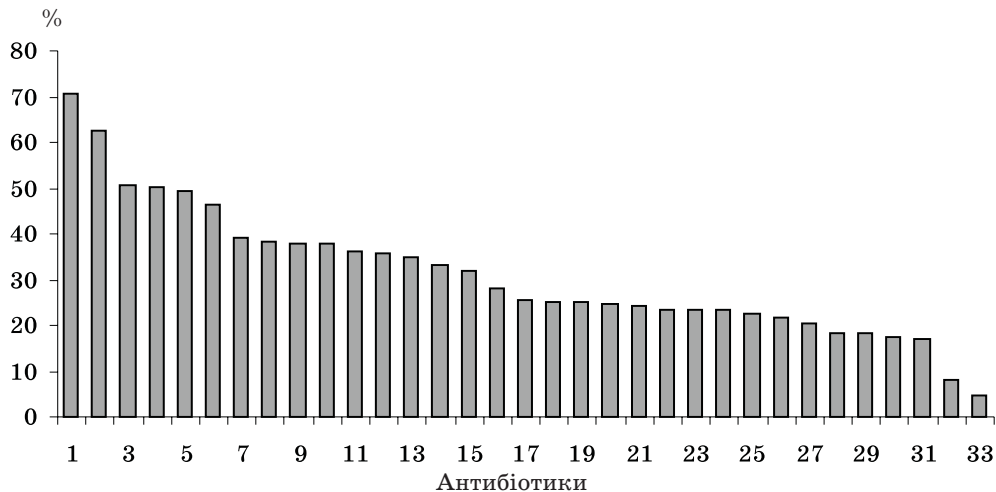
© А.Г. Салманов та ін.

отриманих результатів проводили згідно з Наказом МОЗ СРСР № 535 від 22.04.1985 р. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Ідентифікацію виділених штамів мікроорганізмів проводили загальноприйнятими бактеріологічними методами з дотриманням класифікації Бергі (1997).

Чутливість виділених штамів мікроорганізмів до 33 антибіотиків вивчали диск-дифузійним методом згідно з наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» відповідно до рекомендованих Національним комітетом США клінічних лабораторних стандартів (NCCLS).

Отримані дані статистично обробили.

**Результати та їх обговорення.** Аналіз показав, що (31,1±0,16) % штамів *E. coli* були нечутливими до досліджуваних проти-мікробних препаратів. Частота резистентності коливалась у межах 30,8–31,4 %. Рівень резистентності штамів *E. coli* до різних груп і класів антибіотиків суттєво різнився (рисунок).



Частота резистентності клінічних штамів *E. coli* до антибіотиків:

1 – пеніцилін; 2 – лінкоміцин; 3 – хлорамфенікол; 4 – ампіцилін; 5 – амоксицилін; 6 – доксициклін; 7 – азитроміцин; 8 – цефуроксим; 9 – оксацилін; 10 – еритроміцин; 11 – амоксицилін/клавуанат; 12 – ампіцилін/сульбактам; 13 – кліндаміцин; 14 – цефтазидим; 15 – ванкоміцин; 16 – гентаміцин; 17 – цефотаксим; 18 – тетрациклін; 19 – норфлоксацин; 20 – цефазолін; 21 – цефоперазон; 22 – цефтриаксон; 23 – цефепім; 24 – офлоксацин; 25 – ципрофлоксацин; 26 – цефалексин; 27 – левофлоксацин; 28 – негілміцин; 29 – амікацин; 30 – пefлоксацин; 31 – гатифлоксацин; 32 – меропенем; 33 – іміпенем

До β-лактамних антибіотиків нечутливими були (31,7±0,21) % досліджених штамів. Частота резистентності штамів коливалась у межах 31,3–32,1 % і відносно окре-

мих груп β-лактамних антибіотиків мала суттєві відмінності.

Із β-лактамних антибіотиків найменшу активність до штамів *E. coli* мали пеніцилін і напівсинтетичні аміновані пеніциліни – ампіцилін і амоксицилін, резистентність до яких складала (70,5±0,95), (50,2±0,74) і (49,4±1,7) % відповідно. До оксациліну і інгібіторозахищених пеніцилінів – ампіцилін/сульбактаму і амоксицилін/клавуанату нечутливими були (38,0±1,54), (35,8±1,27) і (36,3±1,05) % штамів відповідно.

Резистентність до цефалоспоринів різних поколінь у середньому складала (26,8±0,25) % і коливалась у межах 26,3–27,3 %. Нечутливість до цефалоспоринів I покоління, а саме до цефазоліну і цефалексину, складала (24,8±0,7) і (21,5±0,82) % відповідно. Цефуроксим відносно до *E. coli* володів невисокою активністю, до нього нечутливими були (38,1±0,89) % досліджених штамів. Резистентність до цефалоспоринів III покоління у середньому складала (26,7±0,31) %, серед них найбільша спостерігалася до цефтазидиму [(33,3±0,73) %], найменша – до цефтриаксону [(23,5±0,5) %]. До цефоперазону і цефотаксиму нечутливими були (24,1±0,8) і (25,7±0,6) % штамів відповідно. Майже аналогічну резистентність досліджені штами проявили до цефалоспори-

нів IV покоління, а саме до цефепіму – (23,2±0,82) %.

Серед β-лактамних антибіотиків найбільшу активність до *E. coli* проявили кар-

бопенемі – іміпенем і меропенем, до яких нечутливими були ( $4,6 \pm 0,45$ ) і ( $7,9 \pm 0,51$ ) % досліджених штамів відповідно.

Частота резистентності штамів *E. coli* до аміноглікозидів (гентаміцин, амікацин, нетилміцин) у середньому складала ( $21,6 \pm 0,4$ ) % і коливалась у межах 20,8–22,4 %. Нечутливими до гентаміцину були ( $28,0 \pm 0,65$ ) % штамів. Майже на одному рівні знаходилась резистентність до амікацину і нетилміцину, до яких нечутливими були відповідно ( $18,3 \pm 0,55$ ) і ( $18,5 \pm 1,37$ ) % штамів.

Частота резистентності штамів *E. coli* до макролідів у середньому складала ( $38,3 \pm 1,05$ ) % і коливалась у межах 36,2–40,4 %. До еритроміцину і азитроміцину нечутливими були ( $37,7 \pm 1,46$ ) і ( $39,0 \pm 1,5$ ) % штамів відповідно.

Частота резистентності штамів *E. coli* до лінкосамідів у середньому складала ( $48,2 \pm 1,4$ ) % і знаходилась у межах 45,4–51,0 %. Нечутливими до лінкоміцину і кліндоміцину були ( $62,6 \pm 1,91$ ) і ( $34,8 \pm 1,89$ ) % штамів відповідно.

Високою частотою резистентності штамів *E. coli* була до глікопептидів [ванкоміцину – ( $31,9 \pm 1,4$ ) %] і тетрациклінів [тетрацикліну – ( $25,2 \pm 1,35$ ) % і доксицикліну – ( $46,2 \pm 1,78$ ) %].

Фторхінолони (офлоксацин, левофлоксацин, гатифлоксацин, ципрофлоксацин, пефлоксацин та норфлоксацин) мали помірну активність до штамів *E. coli*. Частота резистентності до фторхінолонів складала ( $21,0 \pm 0,34$ ) % і коливалась у межах 20,3–21,7 %. Найбільші рівні резистентності спостерігались до норфлоксацину – ( $25,0 \pm 0,96$ ) % і офлоксацину – ( $23,2 \pm 0,78$ ) %, найменші – до гатифлоксацину ( $17,1 \pm 0,92$ ) % і пефлоксацину ( $17,4 \pm 1,07$ ) %. Нечутливість до левофлоксацину і ципрофлоксацину проявили ( $20,6 \pm 0,92$ ) і ( $22,5 \pm 0,64$ ) % штамів відповідно.

Виявлено високий рівень резистентності штамів *E. coli* до хлорамфеніколу. Нечутливими до цього препарату було ( $50,0 \pm 1,5$ ) % штамів.

Отже, встановлено, що у 2009 р. в досліджуваних хірургічних стаціонарах України найбільшою активністю до клінічних штамів *E. coli* володіли іміпенем, меропенем, гатифлоксацин, пефлоксацин, амікацин, нетилміцин та левофлоксацин. Причому спостерігались суттєві відмінності в частоті резистентності до цих препаратів у залежності від регіону розташування хірургічних стаціонарів.

Найбільшу частоту резистентності штамів *E. coli* спостерігали до пеніциліну в Чернігівській (100 %), Харківській (95,5 %), Запорізькій (94,7 %), Черкаській (80,2 %), Луганській (79,4 %), Дніпропетровській (70,6 %), Івано-Франківській (65,7 %) областях та м. Києві (83,3 %); найменші – в Закарпатській області (8,5 %). До ампіциліну найбільшу частоту резистентності спостерігали в Тернопільській (93,3 %), Вінницькій (90,8 %), Миколаївській (83,3 %), Сумській (81,5 %), Житомирській (72,2 %), Херсонській (72,4 %), Запорізькій (70,7 %) областях та АР Крим (75 %); найменші: до амоксициліну – в Запорізькій (100 %), Сумській (100 %), Чернігівській (80 %) областях та АР Крим (79,3 %), до оксациліну – в Закарпатській (6,8 %), Дніпропетровській (17,6 %) та Черкаській (17,8 %) областях. До амоксициліну найбільшу частоту резистентності виявлено в Чернігівській області (80 %) і АР Крим (79,3 %), найменшу – у Волинській (11,1 %) і Полтавській (12,3 %) областях; до оксациліну – в Чернігівській (100 %), Чернівецькій (85,2 %) областях та АР Крим (96,9 %), найменші – в Дніпропетровській області (3,2 %).

Клінічні штами *E. coli* найбільшу резистентність до ампіцилін/сульбактаму проявили в Тернопільській (64,3 %), Житомирській (56,3 %), Луганській (52,7 %) областях та АР Крим (55,5 %), найменшу – в Полтавській (6,2 %) і Чернігівській (9,1 %) областях. Найбільші рівні резистентності до амоксицилін/клавуанату виявлено у Львівській (100 %) і Вінницькій (92,7 %) областях, найменші – в Чернівецькій (5,8 %), Дніпропетровській (6,7 %) і Донецькій (6,7 %) областях.

Отримані нами показники корелюють з даними досліджень Європейської системи нагляду за резистентністю до протимікробних препаратів (EARSS), що проведено у 2001–2007 рр. в 30 країнах. За даними EARSS, частота резистентності клінічних штамів *E. coli* до амінопеніцилінів за досліджуваний період зросла і в 2007 р. складала більше ніж 30 %. Так, у трьох країнах вона складала до 40 %: у Швеції 33 %, Фінляндії 34 % і Норвегії 38 %, а у п'яти країнах перевищила 70 %: у Туреччині 78 %, у Румунії 77 %, на Кіпрі 73 %, у Болгарії 70 % та Ізраїлі 70 % [4]. Висока частота резистентності *E. coli* в країнах Європи і в Україні свідчить про зростання резистентності до амінопеніцилінів, тому вони не можуть бути використані як варіант ефективного емпіричного лікування хворих.

В досліджених стаціонарах України частота резистентності до цефазоліну і цефалексину коливалась від 6,1 до 86,7 % і від 12,4 до 100 % відповідно. Найбільша частота резистентності до цефазоліну виявлена в Кіровоградській (86,7 %), Сумській (66,7 %) і Черкаській (58,6 %) областях; найменша – в Полтавській (6,1 %), Дніпропетровській (11,3 %) і Луганській (15,9 %). До цефалексину найбільша частота резистентності спостерігалася у Сумській (100 %), Чернігівській (75 %) областях і АР Крим (68,8 %); найменша – в Дніпропетровській (12,4 %), Чернівецькій (13,7 %), Івано-Франківській (14,3 %) та Луганській (15,6 %) областях.

До цефуроксиму найбільша частота резистентності спостерігалася у Вінницькій (85,9 %), Чернігівській (83,3 %), Житомирській (78,5 %) областях та АР Крим (74,6 %); найменша – у Хмельницькій (7 %), Чернівецькій (9,5 %) і Дніпропетровській (11,5 %) областях.

Найбільша частота резистентності до цефоперазону виявлена в Кіровоградській (85 %) і Миколаївській (60 %) областях; найменша – у Хмельницькій (3,5 %), Дніпропетровській (7,1 %) і Чернівецькій (9 %) областях. До цефотаксиму найбільша частота резистентності виявлена в Київській (83 %), Львівській (81 %) областях і АР Крим (58,7 %); найменша – в Сумській (6,1 %) і Полтавській (6,2 %). До цефтриаксону – найбільша в Київській області (88,7 %), найменша в Полтавській (6,5 %) і Чернівецькій (13,7 %) областях. До цефтазидиму відповідно у Сумській (100 %), Київській (71,4 %), Вінницькій (68,4 %), Житомирській (63,3 %) областях та в Полтавській (6,2 %), Хмельницькій (10,5 %) і Дніпропетровській (11 %) областях.

Отримані нами дані корелюють з даними досліджень EARSS [4]. Ріст резистентності *E. coli* до цефалоспоринів III покоління доведено також Центрами з контролю та профілактики інфекційних захворювань США (CDC) за результатами моніторингу антибіотикорезистентності *E. coli*, проведеному в 1986–2003 рр. [2].

Досліджені штами найбільшу резистентність до цефепіму проявили в Житомирській області (75,6 %), найменшу – у Вінницькій (2,9 %), Полтавській (6,2 %), Хмельницькій (7,1 %) та Івано-Франківській (7,8 %) областях.

Частота резистентності до іміпенему і меропенему в регіонах суттєво різнилася і коливалась у межах 1,8–14,3 % і 1,2–

90,3 % відповідно. Найбільша частота резистентності до іміпенему виявлена в м. Севастополі (14,3 %) і Тернопільській області (13,0 %), найменша – в Луганській (1,8 %), Житомирській (2,9 %), Дніпропетровській і Закарпатській (по 3,4 %) областях. До меропенему найбільша частота резистентності штамів *E. coli* спостерігалася в Чернігівській області (90,3 %), Севастополі (33,3 %); найменша – в Луганській (1,2 %), Запорізькій (1,3 %), Житомирській (1,9 %), Рівненській (3,1 %) та Чернівецькій (3,7 %) областях.

Найбільша частота резистентності штамів *E. coli* до гентаміцину спостерігалася в Черкаській (80,6 %), Сумській (51,5 %) та Львівській (45 %) областях; найменша – в Хмельницькій (5,3 %), Чернівецькій (6,4 %), Кіровоградській (8,9 %) та Полтавській (9,3 %). До амікацину найбільша частота резистентності виявлена в Київській (69,1 %), Миколаївській (47,6 %) та Львівській (42,1 %) областях; найменша – в Чернівецькій (5,6 %), Полтавській (7,7 %) та Дніпропетровській (9,7 %). Найбільша частота резистентних до нетилміцину штамів виявлена в Хмельницькій (55,6 %) і Волинській (41,7 %) областях; найменша – в Луганській (1,4 %), Чернівецькій (5,2 %) та Івано-Франківській (8,3 %).

Отримані нами дані щодо рівнів резистентності до аміноглікозидів значною мірою узгоджуються з даними EARSS [4].

Найбільша частота резистентності штамів *E. coli* до офлоксацину виявлена в Київській (76 %), Херсонській (54,2 %) областях, АР Крим (51,9 %) і м. Севастополі (50 %); найменша – у Чернівецькій (5,8 %) і Запорізькій (9,4 %) областях. До левофлоксацину найбільша частота резистентності виявлена в Харківській (48,2 %), Тернопільській (35,3 %), Чернігівській (32,6 %) та Житомирській (31 %) областях; найменша – в Чернівецькій (4,4 %) і Сумській (8,3 %). До гатифлоксацину найбільша частота резистентності спостерігалася у Вінницькій (70,8 %) і Житомирській (69,2 %) областях; найменша – у Дніпропетровській (1,9 %), Полтавській (6,7 %) та Запорізькій (9,7 %). До пefлоксацину найбільшу частоту резистентності виявлено в АР Крим (43,2 %) і м. Києві (33,3 %); найменшу – в Луганській (4,9 %) і Чернігівській (8,3 %) областях. Частота резистентності до норфлоксацину в хірургічних стаціонарах коливалась від 6,7 % (м. Київ і Чернівецька обл.) до 71,8 % (Івано-Франківська обл.).

Отримані нами дані щодо частоти резистентності штамів *E. coli* до ципрофлоксацину значною мірою узгоджуються з даними EARSS [4]. Рівні частоти резистентності, що виявлені в регіонах України, співпадають з даними в Європейських країнах. За цими даними, резистентність штамів *E. coli* до фторхінолонів у період 2001–2007 рр. поступово зростає по всій Європі. Так, якщо у 2005 р. у чотирьох країнах Європи резистентність штамів *E. coli* до фторхінолонів складала до 5 %, то у 2007 р. найменші показники знаходились вже на рівні 7 % в Естонії і Норвегії та 8 % у Фінляндії. Більш високі показники резистентності до фторхінолонів були виявлені у дев'яти країнах Європи. Найбільші рівні резистентності спостерігалися на Мальті (35 %), Кіпрі (40 %), у Туреччині (53 %) [4]. У 2007 р. більшість (53 %) досліджених штамів *E. coli* в Європі мають множинну резистентність до амінопеніцилінів, аміноглікозидів, цефалоспоринів III покоління та фторхінолонів [4].

Виконана нами робота була першим кроком на шляху багатоцентрового дослідження антибіотикорезистентності клінічних штамів *E. coli*, виділених від хірургічних хворих, госпіталізованих у стаціонари, в різних регіонах України. Встановлено, що рівні резистентності до антибіотиків різних класів і груп значною мірою залежать від географічного розташування і локальних особливостей політики використання антибіотиків.

Для отримання інформації, необхідної для розробки і впровадження ефективних

підходів до лікування інфекцій, стримування появи і розповсюдження мікробної резистентності, слід здійснювати моніторинг за резистентністю до дії антибіотиків на локальному, регіональному і національному рівнях, а також налагодити епідеміологічний нагляд.

#### Висновки

1. Встановлено, що значна доля циркулюючих у хірургічних стаціонарах України штамів *E. coli* мають ознаки нозокоміальних штамів, а саме високу резистентність до ряду антибіотиків. Найбільша активність щодо нозокоміальних штамів *E. coli* виявлена у імпієному, меропенемі, гатифлоксацину, пефлоксацину, амікацину, нетилміцину та левофлоксацину.

2. Рівні резистентності клінічних штамів *E. coli* до антибіотиків відрізняються в різних регіонах і стаціонарах України та змінюються за часом, тому для поліпшення епідеміологічного нагляду за нозокоміальними інфекціями необхідно здійснювати постійний моніторинг мікробної резистентності до дії антибіотиків на локальному, регіональному та національному рівнях.

3. У кожному стаціонарі на основі даних моніторингу мікробної антибіотикорезистентності необхідно розробити лікарняний формуляр антибіотиків. Політика використання антибіотиків у кожному хірургічному стаціонарі повинна визначатися в залежності від локальних даних резистентності до протимікробних препаратів.

#### Література

1. Association between fluoroquinolone resistance and mortality in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae infections: the role of inadequate empirical antimicrobial therapy / E. Lautenbach, J.P. Metlay, W.B. Bilker et al. // Clin. Infect. Dis. – 2005. – V. 41 (7). – P. 923–929.
2. Gaynes R. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli / R. Gaynes, J.R. Edwards // Clin. Infect. Dis. – 2005. – V. 41 (S6). – P. 848–854.
3. Порівняльний аналіз основних збудників інфекцій ділянки хірургічного втручання у стаціонарах м. Києва / А.Г. Салманов, В.Ф. Марієвський, О.І. Поліщук, О.В. Покас // Хірургія України. – 2009. – № 1 (29). – С. 32–35.
4. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2007. – Available from: [http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS % 202007\\_FINAL\\_tcm61-55933.pdf](http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%202007_FINAL_tcm61-55933.pdf)
5. European Centre for Disease Prevention and Control: Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2008. – Available from: [http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0812\\_SUR\\_Annual\\_Epidemiological\\_Report\\_2008.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0812_SUR_Annual_Epidemiological_Report_2008.pdf)
6. Trends in Antimicrobial Resistance among Urinary Tract Infection Isolates of Escherichia coli from Female Outpatients in the United States / J.A. Karlowsky, L.J. Kelly, C. Thornsberry et al. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2002. – V. 46 (8). – P. 2540–2545.
7. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам. ВОЗ, 2001. – Режим доступа: [http://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_Russian.pdf](http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_Russian.pdf)

*А.Г. Салманов, В.Ф. Мариевский, С.И. Доан*

**АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* В ХИРУРГИЧЕСКИХ СТАЦИОНАРАХ УКРАИНЫ В 2009 году**

Исследовано 6524 клинических штамма *E. coli*, выделенных у пациентов, госпитализированных в хирургические отделения 97 многопрофильных стационаров различных регионов Украины в 2009 г. Изучена чувствительность штаммов к 33 антимикробным препаратам. Показано, что наибольшей активностью к нозокомиальным штаммам обладали имипенем, меропенем, гатифлоксацин, пefлоксацин, амикацин, нетилмицин и левофлоксацин. Сделан вывод о том, что политика использования антибиотиков в каждом хирургическом стационаре должна определяться в зависимости от локальных данных резистентности к противомикробным препаратам. Следует наладить систему эпидемиологического надзора за микробной резистентностью на локальном, региональном и национальном уровнях.

**Ключевые слова:** *E. coli*, нозокомиальные инфекции, эпидемиологический надзор, мониторинг.

*A.G. Salmanov, V.F. Marievsky, S.I. Doan*

**ANTIBIOTIC RESISTANCE CLINICAL STRAINS OF *ESCHERICHIA COLI* IN UKRAINIAN SURGICAL DEPARTMENT IN 2009**

A total of 6524 clinical strains of *E. coli* isolated in 2009 from patients hospitalized in 97 surgical department in different parts of Ukraine. Susceptibility to 33 antimicrobials. Imipenem, meropenem, gatifloxacin, pefloxacin, amikacinum, netilmicin, and levofloxacin have been the most active to nosocomial strains. Antibiotics utilization policy in each surgical in-patient institution should be determined based in accordance with the local data on resistance to antimicrobials. System of epidemiologic surveillance over microbial resistance should be established on the local, regional, and national level.

**Key words:** *E. coli*, nosocomial infections, epidemiologic surveillance, monitoring.

Поступила 23.06.10

# КЛІНІЧНА ПСИХОЛОГІЯ

УДК 616.899.2-053.2/.5+159.922.73

*Н.Г. Михановская*

## КЛИНИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕВОЧЕК РАННЕГО ВОЗРАСТА С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМ ПОЛОВЫМ РАЗВИТИЕМ В КОНТЕКСТЕ ДИАДИЧЕСКИХ ДЕТСКО-МАТЕРИНСКИХ ОТНОШЕНИЙ

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», г. Харьков*

Представлены результаты клинико-психологического исследования 160 девочек раннего возраста с преждевременным половым развитием. Проанализированы характер течения перинатального периода, клинические параметры и психологические особенности развития детей в возрастном аспекте, эмоциональное состояние их матерей, влияющие на формирование нарушений детско-родительских отношений. Предложены подходы, которые могут применяться при моделировании медико-психологической реабилитации девочек с нарушением полового развития.

**Ключевые слова:** *преждевременное половое развитие, клинико-психологические особенности, детско-материнские отношения.*

В настоящее время изучение формирования соматической патологии, в том числе патологии репродуктивной сферы, обусловленной патологией перинатального периода, наряду с нервно-психическими расстройствами, является приоритетным направлением в области акушерства, перинатологии, психопатологии раннего детского возраста в связи с неуклонным ростом их частоты и влиянием на уровень состояния здоровья на восходящих этапах онтогенеза [1, 2]. В связи с этим целью данной работы явилось исследование клинико-психологических особенностей девочек раннего возраста с преждевременным половым развитием в контексте диадических детско-материнских отношений.

**Объект и методы.** В исследование были включены 160 девочек в возрасте от 5 месяцев до 5 лет, находившихся в отделении детской гинекологии Института охраны здоровья детей и подростков по поводу преждевременного полового развития по изосексуальному типу, неполной (93,75 %) и полной (6,25 %) формы с изолированным телархе с рождения (50,62 %) или на первом году жизни (у 1/3 пациенток), а также их

матери. Клинико-психологическая оценка состояния нервно-психического развития девочек изучаемой группы включала анализ течения перинатального периода, феноменологии неврологических и психопатологических расстройств, особенностей состояния церебральной гемо-, ликвородинамики по данным РЭГ, ЭхоЭГ (у 18 % девочек), уровня развития детей по сферам с использованием опросников для родителей KID и CDI. Изучение особенностей эмоциональной сферы матерей, воспитывающих девочек изучаемой группы, основывалось на экспертной клинической оценке их невербального поведения и высказываний в режиме серийных краткосрочных вмешательств за время 2–4 встреч в течение одного года. Анализ возможных негативных эмоциональных переживаний матери, её негативного опыта на всех этапах формирования гестационной и материнской доминанты, прояснение интраиндивидуальных конфликтов, возможно, оказывающих влияние на структуру и качество её микросоциального опыта, осуществлялся в рамках серийных краткосрочных вмешательств, ориен-

© Н.Г. Михановская.

тированных на вертикальную разработку зон напряжения и рассогласованности во взаимодействии, а в последующем на отношения с ребёнком [3, 4]. В обстановке психотерапевтического вмешательства и при достижении достаточной эмпатии и поддержки со стороны терапевта прояснялись реальные внутренние ресурсы самой матери, а также со стороны ближайшего окружения, мотивы принятия решений в отношении ребёнка и обеспечения его социальной активности или в отношении ограничений. Для объективизации и структурирования эмоциональных нарушений матери или особенностей эмоционального реагирования использовали тесты для выявления уровня ситуативной и личностной тревожности Спилбергера–Ханина (68 женщин), а также тест Цунга для оценки депрессивности (46 человек).

**Результаты и их обсуждение.** Принимая во внимание высокую значимость формирования гестационной доминанты и её последующей трансформации в материнскую, для обеспечения гармоничных диадических детско-материнских отношений выделили факторы риска как биологического, так и социально-психологического характера, детерминирующие с высокой вероятностью нарушение этих процессов [5]. Так, к факторам биологического риска были отнесены особенности предгестационного периода, который отличался в исследуемой группе матерей высокой частотой предшествовавших самопроизвольных аборт (15,7 %), соответствовавшей статистическим данным, гибелью ранее рождённых младенцев в первые сутки жизни (7,54 %), а также ситуациями лечения по поводу бесплодия. Осложнённое течение перинатального периода проявлялось в виде угрозы невынашивания беременности (в 55 % случаев), токсикоза преимущественно первой половины гестации (в 37 %), фетоплацентарной недостаточности (в 27 %). Отягощённый акушерский анамнез учитывался как фактор predisпозиции развития также и психологической дефицитарности гестационной доминанты в силу персистенции психотравмирующей для беременной ситуации тревоги, беспокойства, неуверенности в своей способности и забеременеть, и выносить здорового ребёнка. Практически все женщины оценивали эти события как драматичные для них. С целью сохранения беременности 61 % будущих матерей получали гормональную терапию: туринал (33,96 %), ду-

фастон (10,69 %), утрожестан (8,8 %), прогестерон (5,66 %), партусистен (1,88 %). Значимость рождения ребёнка для супружеской пары оценивали по показателю запланированности и желаемости беременности. Так, 63,5 % матерей указали на запланированность и 96,23 % – на желаемость наступившей беременности. От первой по счёту беременности родились 52,8 % девочек, от 2-й – 25 %, от 3-й – 13 %, как правило, первым ребёнком в семье. Средний возраст матерей к моменту рождения составлял 24 года (от 18 до 40 лет).

Анализ особенностей интранатального периода как границы между пре- и постнатальным онтогенезом позволяет выявить возможные механизмы ингибирования трансформации гестационной доминанты в материнскую в результате блокирования импринтинговых постнатальных взаимодействий между матерью и ребёнком. Первичная базовая потребность в зависимости, или безопасности, лежащая в основе эмоционального развития на первом году жизни, исходя из психоаналитических концепций эмоционального развития в раннем возрасте, обеспечивается близким и надёжным контактом с матерью [7]. Вынужденная сепарация матери, смена ухаживающих взрослых (медицинского персонала) и осуществление различных манипуляций в отсутствие матери не способствуют формированию «первичного доверия» у ребёнка, нарушают создание гармоничной привязанности в детско-материнской диаде.

К факторам риска, участвующим в реализации блокирования раннего опыта взаимодействия матери и ребёнка, можно отнести и патологическое течение родов [2]. В среднем масса детей при рождении составляла 3177 г (от 2225 до 4400 г). Родоразрешение с применением акушерских пособий зарегистрировано в 23,9 % случаев, длительный (более 6 часов) безводный период, асфиксия, нарушение гемодинамики, интранатальная цервикальная травма отмечены у 39,9 % детей, родоразрешение кесаревым сечением – в 22 %. Эти факторы являлись основанием для разобщения матери и младенца для проведения необходимых жизнеобеспечивающих или предотвращающих возможные осложнения у ребёнка медицинских манипуляций и сделали невозможным ранний, в первые минуты его жизни, телесный контакт с матерью, прикладывание к груди матери для обеспечения импринтинга [5, 6].

Таким образом, к моменту рождения девочек сформировались неблагоприятные условия, влияющие на психологическое состояние матерей и снижающие их потенциальные ресурсы относительно обеспечения поддерживающей привязанности, удовлетворения первичных базовых потребностей своего ребёнка. В генезе повышенной тревожности, неуверенности матерей девочек с преждевременным половым развитием на последующих этапах постнатального онтогенеза с большой вероятностью участвовали персистирующие психотравмирующие события на протяжении нескольких лет, связанные с несостоятельностью максимально актуальной реализации репродуктивной функции женщины, затем рождением ребёнка с патологией гормональной сферы и рудиментарностью социальной аффилиации. О последнем свидетельствовало число разводов (в 14 % семей) в течение первых двух лет после рождения ребёнка, совместное проживание с прародителями и ограничение психологической поддержки матери со стороны близких, преимущественно отцов девочек (в 60 % случаев).

Изучение регистрируемых нервно-психических расстройств в исследуемой группе девочек с преждевременным половым развитием показало, что в 38 % случаев отмечались признаки ликвородинамических нарушений вследствие перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС: повышенная нервно-рефлекторная возбудимость, ликворогипертензионный синдром, сенсорная гиперестезия, вегетативный дисбаланс. У 18 % пациенток в состоянии церебральной гемодинамики были зарегистрированы признаки церебральной ангиодистонии, асимметрия тонуса церебральных сосудов, снижение и асимметрия уровня пульсового кровенаполнения, затруднение венозного оттока. Около половины детей (46,5 %) получали терапию, направленную на компенсацию неврологического дефицита, вегетативной дисфункции и нормализацию внутричерепного давления. В курсах лечения применялись вазоактивные, ноотропные, дегидратационные препараты – пантокальцин, циннаризин, церебрум-композитум, неврохель, лимфомиозот, диакارب с аспаркамом.

Обследование с помощью опросников для родителей KID показало неравномерность развития различных сфер у 25 девочек. Преимущественно лёгкое отставание в сфере крупной и мелкой моторики в виде

моторной неловкости отмечено у 6 девочек. Ускорение развития на 5–12 мес в сфере активной речи отмечено у 9 детей, социального развития – у 8, крупной моторики и понимания обращённой речи – у 7, в сфере самообслуживания – у 5 девочек.

Психопатологические клинические проявления церебральной патологии в раннем возрасте, традиционно рассматриваемые в контексте соматовегетативного уровня преимущественного нервно-психического реагирования, размыты, неотчётливы и недифференцированы. Расстройства сна, которые отмечались в виде нарушений засыпания в 44 % случаев, частых пробуждений с плачем, общим беспокойством у 32 % девочек, включались в качестве симптомов нарушения формирования устойчивых физиологических ритмов сна и бодрствования.

Диагностическая процедура, помимо прояснения клинического локуса, предусматривала оценку детско-материнского взаимодействия, так как нарушения детско-родительских отношений в качестве одного из фрустрирующих факторов в ситуациях амбивалентного отношения к ребёнку могут приводить к нарушению эмоциональной зрелости, низкой дифференцированности, пассивности, модулированности с последующей возможной трансформацией в высокотревожное поведение и неудовлетворённость. В 49,69 % случаев матери девочек во время первой диагностической встречи демонстрировали неконгруэнтную тревогу. Средние значения уровня ситуативной тревожности составили 46,4, личностной тревожности – 47,3, что свидетельствовало о высоком эмоциональном напряжении матерей в ситуации госпитализации ребёнка и психологического тестирования. Средние значения депрессивности в группе обследованных матерей составили 37 баллов. У 90 % матерей регистрировалось снижение социальной активности, обусловленное отказом от профессиональной деятельности, как правило, по настоянию отцов девочек, резкое ограничение круга семейного общения из-за нежелания обсуждать проблемы ребёнка с посторонними. На этапе вхождения в диагностическую, сочетающуюся с терапевтической, процедуру, на фоне алекситимии обращает на себя внимание отсутствие сформированного родительского запроса о помощи, направленной на компенсацию психопатологических невротических паттернов со стороны ребёнка, связанных с неконгруэнтностью интерак-

ций с матерью, и в ещё большей степени отсутствие понимания и принятия интраперсонального конфликта матерью и вероятности его влияния на характер её взаимодействия с ребёнком [3, 7].

Неконгруэнтность диадических отношений в наблюдаемых парах относилась условно к двум зонам взаимодействия, направленным на обеспечение физиологических и режимных моментов (сон, кормление), а также на эмоциональное, личностное развитие ребёнка (игра, распределение ролевого участия членов семьи, степень расширения и удовлетворенность социальной активностью и вовлечённостью матери и ребёнка).

При оценке качества взаимодействия в диаде учитывались сенситивность матери к знакам, подаваемым ребёнком, её информированность о возрастных особенностях поведения и потребностей детей, спонтанность, согласованность и удовлетворённость отношениями, характер формирования игровой активности и уровень манипулятивности со стороны ребёнка для достижения желаемой цели и обеспечения собственной социальной экспансии.

Среди девочек в 28,3 % случаев регистрировалось протестное поведение, выходящее за рамки возрастных особенностей негативизма двухлетнего возраста по силе, насыщенности и наличию вегетативного компонента. Как правило, патологические формы реагирования проявлялись в рамках взаимодействия с близкими взрослыми в ограничении формирования адекватных видов реализации режимных моментов для ребёнка и его границ безопасности во взаимоотношениях со сверстниками и посторонними взрослыми. Так, дефицитарность механизмов саморегуляции проявлялась в виде пресомнических расстройств, выражавшихся в пролонгации ритуала засыпания, настойчивого вовлечения в его обеспечение кого-либо из взрослых, чаще всего матери, потребности засыпания рядом с ней. В этих ситуациях происходило наслаивание детской потребности в присутствии матери для нивелирования тревоги и беспокойства на собственную тревожность и неуверенность матери. У девочек с прерывистым сном и частыми пробуждениями, беспокойством только телесный контакт с матерью давал возможность полноценного погружения и адекватного сна на протяжении всей ночи.

Расстройства пищевого поведения в виде избирательности в еде, капризности во время приёма пищи, характерные для оппо-

зиционного, протестного поведения, были отмечены у 5 % девочек, у 12,6 % регистрировались частые срыгивания.

Факторы социального взаимодействия матери и ребёнка в изучаемой группе имели некоторые особенности. Так, фактор сенситивности в ситуациях тревожного напряжения в связи с болезнью ребёнка приобретал негативную модальность, обеспечивая феномен социального реферирования с отрицательным подкреплением для девочки.

Изучение психологического регистра нарушения социального функционирования показало, что выраженность таких черт характера девочек, как неуверенность, тревожность, неигривость, персистировали на фоне недостаточности комплементарного социального взаимодействия, что проявлялось в недостаточности освоения и усовершенствования новых действий за счёт усиления факторов, определяющих подражание, облегчающее социальное взаимодействие, ограниченное ближайшим семейным окружением. В этом контексте подражание опиралось на феномен формирования способа быть похожей на другого, когда другой – только мать. В большинстве случаев девочки изучаемой группы находились в ситуации абортивного эмоционального возбуждения как предпосылки для подражания в силу ограничения круга «других» взрослых и незнакомых детей, играющих совместно. В этих случаях для 2-летних и старше девочек отмечалась недостаточная сформированность подражания доминантной, активной, разговорчивой, игривой сверстнице, «взрослость» в игровой активности, предпочтениях в одежде и манере поведения. Ограничение механизма подражания как средства достижения цели у 2–3-летних девочек приводило к доминированию привычных условно невротических (преневротических), оппозиционных механизмов достижения желаемого, направленных в первую очередь на мать.

Тревожность матерей в невербальном поведении проявлялась в физической фиксации с максимально возможной площадью телесного контакта с ребёнком, вплоть до придания ему эмбриональной позы. При этом регистрировалась нечувствительность к знакам готовности к отделению со стороны ребёнка и «рефлекторное» физическое удержание в течение, как правило, 10–15 мин. В последующем отмечались попытки приблизиться, присесть рядом, обхватить, которые сочетались с вербальной фикс-

сацией, запретами и ограничениями в активности и с игнорированием знаков ребёнка, что свидетельствовало о его уверенности, спокойствии и готовности к сепарации. Тем не менее девочки демонстрировали более высокую чувствительность к знакам безопасности в присутствии чужого взрослого, чем их матери, скорее реагировали на эти знаки готовностью к отделению и игре в новых условиях. Это свидетельствовало о том, что в целом дети растут в условиях, свободных от жёстких ограничений и сдерживания активности.

Качество подражания и выбор примера для подражания у девочек изучаемой группы зависели от особенностей детско-материнских отношений, которые отличались тревожностью матери, её недостаточной информированностью о возрастных психологических особенностях развития ребёнка, сочетавшихся с низкой чувствительностью к знакам ребёнка, недостаточностью социальной аффилиации и ограничением внесемейного круга мотивации эмоциональной активации. Кроме того, ограничение целей, формирующихся у ребёнка, в рамках удовлетворения или снижения актуальности тревожных переживаний с последующим закреплением негативного опыта манипуляций в невротическом регистре может снижать ресурсы ребёнка в его дальнейшей социальной адаптации.

### Литература

1. *Гойда Н.Г.* Основні напрямки розвитку дитячої неврологічної служби в Україні та зниження інвалідності у дітей / Н.Г. Гойда, В.Ю. Мартинюк // Укр. вісн. психоневрол. – 1999. – Т. 7, вип. 2 (20). – С. 6–9.
2. *Суліма О.Г.* Асфіксія новонароджених – сучасний погляд на проблему / О.Г. Суліма, Т.В. Терещенко // ПАГ. – 2002. – № 1. – С. 37–39.
3. *Мать, дитя, клініцист: Новое в психоаналитической терапии; под ред. G. Fava Vizziello, D.N. Stern; пер. с итал. – М., 1994. – 140 с.*
4. *Зауш-Годрон Ш.* Социальное развитие ребенка / Ш. Зауш-Годрон. – СПб.: Питер, 2004. – 123 с.
5. *Клиническая психология; под ред. М. Пере, У. Баумана. – СПб.: Питер, 2007. – 1312 с. – (Серия «Мастера психологии»).*
6. *Зайдиева З.С.* Терапия угрозы прерывания беременности в I триместре / З.С. Зайдиева, Д.М. Магомедханова // Здоровье женщины. – 2007. – № 4 (32). – С. 52–56.
7. *Ньюкомб Н.* Развитие личности ребенка / Н. Ньюкомб. – 8-е междунар. изд. – СПб.: Питер, 2002. – 640 с. – (Серия «Мастера психологии»).

### *Н.Г. Міхановська*

#### **КЛІНІКО-ПСИХОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДІВЧИНОК РАННЬОГО ВІКУ ІЗ ПЕРЕДЧАСНИМ СТАТЕВИМ РОЗВИТКОМ В КОНТЕКСТІ ДІАДИЧНИХ ДИТЯЧО-МАТЕРИНСЬКИХ ВІДНОСИН**

Наведено результати клініко-психологічного дослідження 160 дівчинок раннього віку із передчасним статевим розвитком. Проаналізовано характер перебігу перинатального періоду, клінічні параметри і психологічні особливості розвитку дітей у віковому аспекті, емоційний стан матерів, які впливають на формування відхилень у дитячо-материнських відносинах. Запропоновано підходи, які можуть бути використані при моделюванні медико-психологічної реабілітації дівчинок із порушенням статевого розвитку.

**Ключові слова:** *передчасний статевий розвиток, клініко-психологічні особливості, дитячо-материнські відносини.*

**N.G. Mikhanovskaya**

**CLINICO-PSYCHOLOGICAL FEATURES OF THE GIRLS OF EARLY AGE WITH PREMATURE SEXUAL DEVELOPMENT IN A CONTEXT OF THE DIADIC CHILD-MATERNAL ATTITUDES**

In the article the results of clinico-psychological research of 160 early age girls with premature sexual development are submitted. Character of current of perinatal period, the clinical parameters and psychological features of development of the girls in age aspect, emotional condition of the mothers, which influence on formation of deviations of the child-maternal attitudes are analyzed. The approaches are offered which can be used at modelling the medico-psychological rehabilitation of the girls with premature sexual development.

**Key words:** *premature sexual development, clinico-psychological features, child-maternal attitudes.*

*Поступила 22.03.10*

# НЕВІДКЛАДНА І ВІДНОВНА МЕДИЦИНА

УДК 617-001(0.75.8). 612.111

*Г.А. Олійник, Т.Г. Григор'єва, А.А. Цогоєв\*, В.М. Кім\*,  
Ю.П. Колісник\*, А.М. Литовченко\**

## ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ГЛИБИНИ І ПЛОЩІ УРАЖЕННЯ ПРИ ЛОКАЛЬНІЙ ХОЛОДОВІЙ ТРАВМІ

*Харківська медична академія післядипломної освіти*

*\* Харківська міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної медичної допомоги  
ім. проф. О.І. Мещанінова*

Наведені результати використання модифікованого прийому Більрота для діагностики глибини і площі ураження у хворих з локальною холодовою травмою в дореактивному періоді, заснованому на дослідженні морфофункціонального стану еритроцитів. Доведено, що використання модифікованого прийому Більрота дозволяє з достовірною точністю оцінити стан і ступінь порушення мікроциркуляції в уражених ділянках і визначити обсяги консервативної терапії.

**Ключові слова:** локальна холодова травма, прийом Більрота, морфофункціональний стан еритроцитів.

Визначення межі кріоураження при локальній холодовій травмці і об'єму уражених тканин має принципове значення для правильної оцінки стану потерпілих, визначення тактики консервативної терапії, оперативного лікування та запобігання виникненню гнійних і некротичних ускладнень [1–3].

Запропонована велика кількість як клініко-морфологічних, лабораторних, так і інструментальних методів діагностики глибини ураження при локальній холодовій травмці, проте ні один із них не дозволяє повністю вирішити питання діагностики і лікувальної тактики [4, 5]. Не існує жодного достовірного методу визначення ступеня ураження в дореактивному періоді. Такі методи дослідження, як пальцева плетизмографія, рентгенорадіонуклідна діагностика, реографія, ангиографія, креатинкіназний тест, не дають можливості безпосередньо після відновлення температури уражених ділянок кінцівок визначити глибину відмороження [6–8].

Відомий прийом Більрота дозволяє з відносною вірогідністю визначити зони некрозу, необоротних і оборотних дегенератив-

них процесів та початкову зону висхідних запальних процесів при локальній холодовій травмці в дореактивному і ранньому реактивному періодах [9]. Межа глибокої анестезії в першу добу реактивного періоду і виділення гемолізованої рідини із зони анестезії можуть допомогти у визначенні лінії майбутньої демаркації. Але для визначення площі ураження і об'єму тканин з порушенням мікроциркуляції ця методика не може бути використана.

Існує проба голковколуюванням В.І. Рудаєва зі спіавт. [10]. Укол голкою ураженої ділянки тканин в дореактивному періоді на глибину 3 мм дозволяє отримувати чотири види виділень з рани: яскраво-червону кров; темну кров, що повільно витікає; темну кров, що витікає важко, і сукровате виділення. Є 5-й варіант – відсутність виділення, так званий сухий прокол. Автори підкреслюють, що отримані дані мають прогностичний характер і відображують стан кровозабезпечення уражених ділянок тканин в період їхньої ішемії. Яскраво-червона кров з формуванням зсідка через 5–6 хв свідчить про слушний прогноз; темна веноз-

© Г.А. Олійник та ін.

на кров – про наявність в реактивному періоді I–II ступеня відмороження; темна венозна кров, яка витікає важко і при цьому швидко формується зсідок, дозволяє прогнозувати II–III ступінь відмороження; сукровате виділення свідчить про III ступінь, а сухий прокол про IV ступінь відмороження. Проведення даної проби може бути використано для визначення глибини відмороження.

Загальновідомо, що основні зміни в організмі при місцевій холодовій травмі пов'язані з порушеннями мікроциркуляції, які, у свою чергу, проявляються змінами реологічних властивостей крові і киснево-транспортної функції еритроцитів.

Основними характеристиками, що визначають вільне протікання крові в капілярах, є її в'язкість і здатність еритроцитів змінювати форму (деформації). Еритроцит в нормі має можливість, змінюючи свою форму від каплеподібної до дископодібної, проникати через кровоносні судини значно менших розмірів, ніж він сам, і зберігати при цьому киснево-транспортну функцію [11].

Еластичність і пластичність еритроцитів визначаються співвідношенням об'єму до площі, товщини до діаметра, їх двовигнутою формою, а також здатністю до деформації при циркуляції в кровоносному руслі. Патологічні процеси, в основі яких лежать порушення реологічних властивостей крові, мікроциркуляції, гіпоксія, можуть призводити до порушення морфологічних і функціональних властивостей еритроцитів, які, у свою чергу, можуть бути чинниками некрозоутворення [11].

Метою роботи була оптимізація прийому Більрота у визначенні межі і площі уражених тканин при локальній холодовій травмі (відмороженнях) в дореактивному періоді перебігу захворювання.

**Матеріал і методи.** Під спостереженням знаходилося 20 хворих з відмороженнями нижніх кінцівок, які були госпіталізовані у спеціалізоване відділення в дореактивному періоді (до зігрівання), віком від 23 до 77 років, серед яких 16 (80 %) чоловіків і 4 (20 %) жінки. Всі постраждали були розподілені на дві групи: 1-ша (20 осіб) – постраждалі, яких при госпіталізації досліджували за допомогою традиційного прийому Більрота за методикою В.І. Рудаєва [12]; 2-га (10 осіб із 1-ї групи, із них 7 (70 %) чоловіків і 3 (30 %) жінки) – постраждалі, традиційне дослідження яких доповнювали проведенням модифікованого прийому Більрота. Модифікація прийому Більрота вирішується

мікроскопічним дослідженням виділень з проколу уражених ділянок кінцівок на наявність і функціональний стан формених елементів крові. Результати мікроскопічного дослідження морфофункціонального стану еритроцитів наведено на рис. 1.

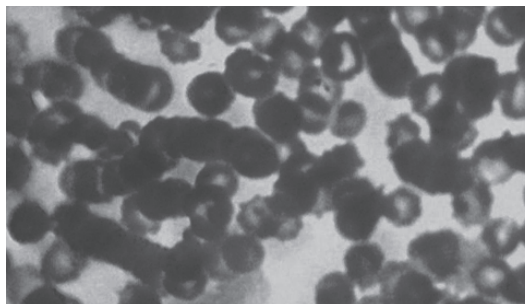


Рис. 1. Морфофункціональний стан еритроцитів ураженої ділянки кінцівок.  $\times 1000$

Динамічне спостереження проводили через 12 год (ранній реактивний період) і на 3-тю добу (реактивний період) перебігу холодового uszkodження. Клінічну картину ураження визначали враховуючи скарги хворого на біль, оніміння, отерпlosti, оцінювали колір і тактильну температуру шкіри, пружність тканин, наявність або відсутність чутливості, пульсацію на артеріях. Локальну температуру вимірювали на рівні основних фаланг III пальця ступні за допомогою електронного термометра «Center 300» з модифікованими насадками.

В 1-й групі постраждалих після огляду хворого оцінювали локальну картину ураження, проводили санацію уражених фрагментів кінцівок хлоргексидином, вимірювали локальну температуру шкіри, після чого проводили прийом Більрота за методикою В.І. Рудаєва. Проколи шкіри здійснювали на глибину 3 мм, використовуючи спеціальну внутрішньом'язову голку з обмежувачем глибини з дистальних відділів уражених кінцівок з поступовим переміщенням проксимальніше через кожний 1 см. Проводили візуальну оцінку кольору, розмірів витікаючої краплі речовини, реєстрували швидкість виділення і формування зсідка. Враховували рівень больової чутливості.

В 2-й групі постраждалих, окрім указаного, досліджували краплю рідини, яка була отримана після проколу шкіри. Останню наносили на предметне скло, додавали краплю ізотонічного розчину NaCl і вивчали в мікроскопі МБІ-15 зі збільшенням у 20, 40, 100 разів. Отримані результати статистично обробили за допомогою критерію Стьюдента–Фішера [12].

**Результати та їх обговорення.** При госпіталізації потерпілі скаржилися на біль у кінцівках, отерплість останніх. Шкіра ступень на рівні надступаковогомілкових суглобів у всіх хворих була холодною на дотик, рухливість у суглобах пальців кистей обмеженою. Шкіра бліда, з сірим відтінком, місцями мармурова. Локальна температура шкіри на рівні основних фаланг III пальця становила  $(9 \pm 0,62)^\circ\text{C}$ .

Після санації уражених ділянок усім 20 хворим здійснювали прийом Більрота, починаючи з середини основної фаланги I пальця ступні (рис. 2) до рівня середини плеснової кістки. Больова чутливість відсутня, виділялись краплі жовтуватої рідини. При подальших проколах до рівня середини ступні больова чутливість частково відновлювалась, виділялась темна крапля крові, що повільно витікала. З проколів до рівня надступаковогомілкового суглоба повільно витікала червона крапля крові. Больова чутливість відновлювалась. Яскраво-червона крапля крові почала виділятися на рівні нижньої третини гомілки з повним відновленням больової чутливості. Зсідок формувался на 5-й–6-й хвилині.



Рис. 2. Прокол шкіри (прийом Більрота) за методикою В.І. Рудаєва

Отже, рівень локального кріоураження сягає нижньої третини гомілки. Місце, де отримана темна крапля венозної крові, може розглядатися як межа формування відморожень I–II ступеня. Ділянки, в яких венозна темна кров витікає з утрудненням, можна розглядати як межу формування відморожень II–III ступеня, а ділянки з сукроватим вмістом краплі – як межу формування відморожень III ступеня.

У постраждалих 2-ї групи дослідження жовтуватої краплі показало повну відсут-

ність формених елементів крові, що може бути пов'язано із судинним спазмом і формуванням артеріовенулярних шунтів. Цю зону ураження треба характеризувати як зону можливого формування тромбів, чинниками яких можуть виступати зруйновані і деформовані еритроцити. При дослідженні краплі темної венозної крові, що повільно витікала з проколу, виявлено велику кількість зруйнованих еритроцитів (шизоцитів) у всіх хворих. У 6 обстежених в краплі венозної крові, що швидко витікала з проколу, спостерігали велику кількість патологічних форм еритроцитів у вигляді шизоцитів з частково порушеною оболонкою, ехіноцитів з великою кількістю відростків (остів). Швидкість руху еритроцитів сповільнена із-за скупчення їх в конгломерати. У 4 хворих, окрім зруйнованих і патологічних форм еритроцитів, у препараті виявлено окремі форми дискоцитів, без ділянок прояснення у середині, які повільно рухалися і не скупчувалися в конгломерати. Поява поодиноких форм еритроцитів, які вільно рухаються і не злипаються, може свідчити про наявність незначної мікроциркуляції в цій ділянці ураження, що характерно для зони оборотних дегенеративних процесів.

При дослідженні червоної краплі крові, що повільно витікала з проколу, у 5 пацієнтів виявлено значно більшу кількість нормальних форм еритроцитів (дискоцитів, кнізоцитів, ехіноцитів з невеликими відростками (остями). Поліпшення швидкості хаотичних рухів еритроцитів може бути пов'язано з тим, що вони представлені як сформовані стовпці. У 5 хворих при дослідженні краплі червоної крові, що повільно витікала, виявили на фоні появи нормальних форм еритроцитів залишки конгломератів клітин з великою кількістю патологічних форм шизоцитів, ехіноцитів з довгими остями, що може свідчити про наявність порушень мікроциркуляції.

У 6 хворих при дослідженні яскраво-червоної краплі крові, яка витікає з проколу, патологічних форм еритроцитів не виявили, еритроцити сформовані в короткі стовпці і повільно хаотично рухаються в препараті, що свідчило про відсутність порушень кровообігу в досліджуваній ділянці. У решти обстежених виявили незначну кількість патологічних форм еритроцитів у вигляді дискоцитів без ділянок прояснення в центрі і значну кількість ехіноцитів з невеликими відростками (остями). Це може свідчити про наявність порушень мікроцир-

куляції у постраждалих цієї групи, пов'язану з підвищенням підшкірного тиску через набряк, який візуально не проявлявся.

Усім хворим проведено комплексне лікування з використанням термоізолюючих пакетів [13], інфузійно-трансфузійна, антикоагулянтна і судинна терапія: для 1-ї групи в розрахунку 20 мл/кг, для 2-ї – 30 мл/кг на добу.

В 1-й групі хворих фіксацію термоізолюючого пакета проводили в нижній третині гомілок на межі холодної і помірно теплої шкіри, у 2-й групі – на межі середини гомілок в зоні помірно прохолодних тканин. Кожні дві години спостереження переміщували термопакет дистальніше на 2–3 см.

При огляді хворих 1-ї групи через 12 годин спостереження (ранній реактивний період) у 3 обстежених температура шкіри становила ( $26 \pm 0,67$ ) °С, шкіра блідого кольору з ціанотичним відтінком, помірний набряк. Рухливість у суглобах не страждала. Больова чутливість на рівні заснування основних фаланг пальців. При контрольному огляді на 3-тю добу спостереження у цих хворих відмічено наявність відморожень I ступеня.

У 4 хворих цієї групи через 12 годин температура шкіри становила ( $28 \pm 0,34$ ) °С, колір шкіри ціанотичний з мармуровим відтінком, пальці ступень набряклі, по підшовній поверхні епідермальні міхури з прозорим, жовтуватого кольору вмістом, що свідчило про наявність відморожень II ступеня. Рухливість у суглобах помірно утруднена. Больова чутливість на рівні середини плеснових кісток. На 3-тю добу набряк не зростав, вміст міхурів погустішав.

У 3 хворих цієї групи через 12 годин температура шкіри становила ( $30 \pm 0,87$ ) °С, колір шкіри різко ціанотичний, мармуровий. Набряк пальців і ступні на рівні середини. Больова чутливість на рівні верхньої третини ступні, рухливість у суглобах відсутня. На 3-тю добу появлялися міхури з геморагічним вмістом, що свідчило про формування відморожень III ступеня, що може бути пов'язано з більш швидким відігріванням ділянок ураження, а також недостатнім об'ємом інфузійно-трансфузійної терапії.

У 6 хворих цієї групи через 12 годин температура шкіри становила ( $27 \pm 0,52$ ) °С, колір шкіри блідий з незначним синявим відтінком. Набряк пальців і ступень помірний, рухливість у суглобах декілька утруд-

#### Література

1. Андреев О.В. Отморожение: клиника, диагностика, лечение / О.В. Андреев, Н.Н. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2001. – Т. 2, № 2–3. – С. 229–232.

нена. Больова чутливість на рівні основних фаланг пальців. На 3-тю добу констатовано наявність відморожень I ступеня.

У 4 хворих через 12 годин температура шкіри становила ( $28 \pm 0,37$ ) °С, колір шкіри ціанотичний з мармуровим відтінком, пальці ступень набряклі, по підшовній поверхні деяких пальців епідермальні міхури з прозорим жовтуватого кольору вмістом, больова чутливість на рівні заснування основних фаланг. Рухливість у суглобах утруднена через набряк. Отримані дані свідчать про формування відморожень II ступеня. При контрольному огляді на 3-тю добу набряк не зростав, вміст міхурів погустішав.

Отримані результати свідчать, що візуальна оцінка вмісту отриманих після проколів крапель речовини не завжди дає можливість правильно визначити якість виділень в зоні ураження та об'єм консервативної терапії в дореактивному періоді перебігу локального холододового ураження.

Використання модифікованого прийому Більрота дало можливість окреслити межу і площу дійсного холододового ураження тканин з порушенням мікроциркуляції, значно проксимальніше зони, яка була визначена з проведенням прийому Більрота за методикою В.І. Рудаєва, що дало змогу визначити відповідну тактику консервативної терапії. У 60 % постраждалих мав місце сприятливий результат після проведеного комплексного лікування з урахуванням об'єму інфузійно-трансфузійної терапії в розрахунку 30 мл/кг на добу. Динамічне спостереження за 2-ю групою постраждалих на 3-тю добу свідчило про формування поверхневих відморожень I–II ступеня і значне поліпшення загального стану хворих у порівнянні з постраждалими 1-ї групи.

#### Висновки

1. Використання модифікованого прийому Більрота при обстеженні постраждалих з локальною холододовою травмою в дореактивному періоді дозволяє достовірно визначити межу локального холододового ураження, площу і об'єм спровокованих кріовпливом тканин з порушеною мікроциркуляцією.

2. Оцінка тяжкості локального холододового ураження з урахуванням результатів модифікованого прийому Більрота сприяє визначенню об'єму консервативної терапії в дореактивному періоді.

2. *Бычихин Н.П.* Диагностика и лечение отморожений / Н.П. Бычихин, В.М. Сатыбалдыев // *Клин. хирургия.* – 1986. – № 3. – С. 22–24.
3. *Воинов А.И.* Клиническая классификация холодовых травм и прогнозирование глубины поражения тканей в остром периоде / А.И. Воинов // *Клин. хирургия.* – 1989. – № 12. – С. 41–43.
4. Гамма-сцинтиграфия в диагностике степени отморожения / С.В. Семенова, В.В. Божедонов, Г.Н. Никулина и др. // *Холодовая травма: третья научн. конф.: тез. докл.* – СПб., 2002. – С. 65–67.
5. *Григорьева Т.Г.* Холодовая травма. 2. Отморожения / Т.Г. Григорьева // *Международ. мед. журн.* – 2001. – Т. 7, № 2. – С. 42–47.
6. Диагностика состояния микроциркулярного русла у больных с местной холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, Е.Н. Бурдинский и др. // *Забайк. мед. вестник.* – 2008. – № 1. – С. 1–2.
7. *Завадовская В.Д.* Гамма-сцинтиграфия при глубоких отморожениях / В.Д. Завадовская, В.Г. Бородулин // *Мед. радиология.* – 1981. – № 2. – С. 8–10.
8. Консервативне та оперативне лікування відморожень / Г.П. Козінець, О.С. Садовий, Ю.М. Васильчук, В.П. Гречанков // *Хірургія України.* – 2005. – № 4. – С. 113.
9. *Котельников В.П.* Отморожения / В.П. Котельников. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
10. *Кулешова Л.Г.* Морфологічні зміни еритроцитів людини за умов охолодження / Л.Г. Кулешова // *Фізіол. журн.* – 2005. – Т. 51, № 3. – С. 73–77.
11. Массовая холодовая травма – организация помощи пораженным на основе прогноза ее исхода в дореактивном периоде / И.К. Галеев, А.Л. Кричевский, В.И. Рудаев, Е.М. Альтшулер // *Холодовая травма: третья научн. конф.: тез. докл.* – СПб., 2002. – С. 24–26.
12. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Губенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
13. Патент на корисну модель 41202. Термоізолююча пов'язка / Олійник Г.А., Кім В.М., Цогоєв А.А. № 200814324; заявл. 22.12.08; опубл. 12.05.09. Бюл. № 9.

***Г.А. Олейник, Т.Г. Григорьева, А.А. Цогоев, В.М. Ким, Ю.П. Колесник, А.Н. Литовченко***  
**ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ ГЛУБИНЫ И ПЛОЩАДИ ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ**

Представлены результаты использования модифицированного приёма Бильрота для диагностики глубины и площади поражения у больных с локальной холодовой травмой в дореактивном периоде, основанного на исследовании морфофункционального состояния эритроцитов. Доказано, что использование модифицированного приёма Бильрота позволяет с достоверной точностью оценить состояние и степень нарушения микроциркуляции в поражённых участках и определить объёмы консервативной терапии.

**Ключевые слова:** локальная холодовая травма, приём Бильрота, морфофункциональное состояние эритроцитов.

***G.A. Olijnik, T.G. Grigoriyeva, A.A. Tsogoev, V.M. Kim, Yu.P. Kolisnik, A.M. Litovchenko***  
**OPTIMIZATION OF DIAGNOSTICS OF DEPTH AND THE DEFEAT AREA AT LOCAL COLD INJURY TO THE TRAUMA**

Results of use of the modified reception Billroth for diagnostics of depth and the area of defeat at patients with local cold injury a trauma in prereactive the period based on research morphofunctional of a condition erythrocyte are presented. It is proved that use of the modified reception of Billroth allows to estimate with authentic accuracy a condition and degree of infringement of microcirculation in the amazed sites and to define volumes of conservative therapy.

**Key words:** local cold injury a trauma, reception of Billroth, morphofunctional a condition erythrocyte.

*Поступила 25.03.10*

УДК 616.329-001.44-06-07-08

*В.Н. Лыхман*

## ВИДЕОТОРАКОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОСТАНОВКИ ВНУТРИПЛЕВРАЛЬНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ ПРИ ТЯЖЁЛОЙ ЗАКРЫТОЙ ТРАВМЕ ГРУДИ

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

Изучены результаты лечения 260 пострадавших с тяжёлой закрытой травмой груди, осложнённой гемотораксом. У 137 больных реализован разработанный нами подход к диагностической тактике и хирургическому лечению с применением видеоторакоскопических методик.

**Ключевые слова:** *посттравматический гемоторакс, хирургическое лечение, видеоторакоскопия.*

Анализ травматизма мирного времени за последние годы показал троекратное увеличение пострадавших с травмой груди, осложнённой шоком и массивной кровопотерей. Летальность при этих состояниях варьирует от 8 до 85 % [1–6]. Массивные кровотечения при травмах груди возникают в результате повреждения подключичных сосудов, что встречается в 8–12 % случаев, внутренней грудной артерии – в 31–40 %, межрёберных сосудов – в 47–80 %. У больных с большим гемотораксом повреждения сосудов грудной стенки выявляются в 55,5 % случаев, при этом ранение внутренней грудной артерии – в 32–37 %, межрёберных сосудов – в 31–34 %. Повреждение межрёберной артерии приводит к формированию так называемого большого гемоторакса в течение 1,5–2,0 часов. Наиболее массивные кровотечения возникают при сочетании ранений внутренней грудной и межрёберной артерий [1, 2, 7–10].

В течение последнего десятилетия в хирургии повреждений груди широкое распространение получила видеоторакоскопия, которая сочетает большие лечебно-диагностические возможности и малую травматичность [3, 4, 8, 10–12]. В то же время многие аспекты этого метода при данной патологии остаются малоизученными. По многим из них в литературе имеются противоречивые мнения. Прежде всего это касается принципов использования эндовидеохирургических методов, показаний и противопоказаний для их проведения при сочетанной шокогенной травме груди [1, 6, 12].

© *В.Н. Лыхман.*

Целью исследования явилось определение эффективности видеоторакоскопических методик в диагностике и лечении гемоторакса при тяжёлой травме груди.

**Материал и методы.** Изучены результаты лечения 260 пострадавших с тяжёлой травмой груди, у которых были выявлены признаки гемоторакса. При этом у 137 больных реализован разработанный нами подход к диагностической тактике и хирургическому лечению (основная группа). У 123 больных применён традиционный подход к лечению (группа сравнения). Обе группы представлены однородным клиническим материалом, что свидетельствовало об их репрезентативности и сопоставимости проведённых исследований. У 95 (69,3 %) пострадавших основной группы диагностировано состоявшееся кровотечение, в 42 (30,7 %) случаях внутриплевральное кровотечение было продолжающимся. В работе использована рентгенологическая классификация травматического гемоторакса, предложенная П.А. Куприяновым, а также выполнена оценка величины гемоторакса по количеству крови, выделившейся из плевральной полости по дренажам: до 500 мл – малый гемоторакс, от 500 до 1000 мл – средний, от 1000 до 1500 мл – большой и более 1500 мл – тотальный гемоторакс. Средний гемоторакс выявлен у 70 (51,1 %) пострадавших, большой – у 19 (13,9 %). Предварительный диагноз среднего и большого гемоторакса, но без указания точного количества жидкой крови и её свёртков практически всегда устанавливался на основании

физикального, лучевого исследования и плевральной пункции. В то же время возможность установления окончательного диагноза с точным определением количества и качества плеврального содержимого, источника кровотечения и состояния гемостаза, характера повреждений внутренних органов создавалась только при проведении видеоторакоскопии. Видеоторакоскопия выполнена 89 больным, у 24 пострадавших были применены видеоторакоскопические методы гемостаза.

**Результаты и их обсуждение.** Видеоторакоскопию проводили в операционной с использованием эндовидеохирургических комплексов фирмы «Storz» (Австрия). При сочетанной травме видеоторакоскопию осуществляли только под общим обезболиванием с интубацией трахеи и искусственной вентиляцией лёгких. Раздельная интубация бронхов с выключением из дыхания лёгкого на стороне поражения обеспечивала пространство, достаточное для проведения вмешательства. Спавшееся и неподвижное лёгкое создавало оптимальные условия для выполнения манипуляций как на самом лёгком, так и на других органах грудной полости.

Свёртки крови, фиксированные к плевре и поверхности внутренних органов гемоторакса, подлежали обязательному удалению, а источник их происхождения – активному поиску и устранению. При продолжающемся кровотечении уточняли его источник (лёгкое, грудная стенка, средостение, перикард). Заднегрудные и нижние отделы плевральной полости, область заднего средостения осматривали, отесняя лёгкое инструментом или оттягивая его. Наиболее частыми источниками внутриплеврального кровотечения были межрёберные сосуды – у 71 (51,8 %) пострадавшего, внутренняя грудная артерия у 8 (5,8 %) и сосуды поврежденного лёгкого у 5 (3,6 %). Общее количество выполненных при видеоторако-

скопии отдельных эндохирургических операций составляло: удаление гемоторакса – 89; остановка кровотечения из межрёберных сосудов – 17; лигирование внутренней грудной артерии – 2; клипирование раны лёгкого – 1; атипичная резекция лёгкого – 4; направленное дренирование плевральной полости – 86.

Кровотечение из межрёберных и внутренних грудных сосудов останавливали путём электрокоагуляции, клипирования. Для этого париетальную плевру рассекали для достаточной визуализации источника и при необходимости выделения кровоточащего сосуда. Диффузные кровотечения из грудной стенки останавливали электрокоагуляцией. Для остановки диффузного кровотечения из мягких тканей использовали аппликации гемостатической губкой.

Поступление воздуха из лёгочной паренхимы выявляли, возобновляя вентиляцию лёгкого на стороне операции, если искусственная вентиляция лёгких проводилась в однолёгочном режиме. При этом важно на фоне аппаратного вдоха одним или двумя инструментами отеснить лёгкое от грудной стенки, создавая возможность хорошего осмотра раны. Поверхностные некровоточащие раны лёгочной паренхимы, через которые воздух не поступал, не ушивали. При выявлении раны протяжённостью более 3 см выполняли атипичную резекцию лёгкого. Операцию заканчивали лаважем плевральной полости. После окончания операции лёгкое под контролем зрения раздували, контролировали аэростаз и аэрацию ателектазированных участков лёгкого. Плевральную полость направленно дренировали одним или двумя трубочными дренажами, устанавливаемыми в точках расположения верхнего и нижнего торакопортов.

Из данных, представленных в таблице, следует, что по частоте торакотомий, продолжительности проводимых оперативных

*Показатели оперативных вмешательств для остановки плеврального кровотечения*

Показатель	Традиционное лечение (123)	Лечение с применением видеоторакоскопии (89)	p	Эффект применения видеоторакоскопии
Частота торакотомии, %	19,3	9,3	<0,05	Снижена в 2,1 раза
Продолжительность операции, мин	74,9±2,9	43,1±1,7	<0,05	Сокращена в 1,7 раза
Продолжительность плеврального дренирования, сут	6,2±0,1	2,8±0,1	<0,05	Сокращена в 2,2 раза
Общая частота осложнений, %	62,6	38,4	<0,05	Снижена на 24,2 %
Продолжительность стационарного лечения, сут	30,8±0,8	23,7±0,7	>0,05	Сокращена в 1,3 раза
Летальность, %	16,8	12,8	>0,05	Снижена на 4,0 %

вмешательств (торакатомии и торакоскопии), продолжительности дренирования плевральной полости и частоте осложнений различия имеют статистически достоверный характер.

#### Выводы

Видеоторакоскопические методы в диагностическом отношении существенно пре-

восходят традиционные неинвазивные и малоинвазивные методы диагностики травматического гемоторакса, а также в подавляющем большинстве клинических наблюдений дают возможность не только установить точный топический диагноз, но и устранить не требующие открытого вмешательства повреждения с минимальной травмой для пострадавшего.

#### Литература

1. Анализ результатов применения эндохирургических технологий в лечении пострадавших открытой и закрытой травмой груди / М.М. Абакумов, А.А. Гуляев, К.Г. Жестков и др. // Тез. докл. 1-го конгресса московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь». – М., 2005. – С. 201–202.
2. *Авилова О.М.* Торакоскопия в неотложной грудной хирургии / О.М. Авилова, В.Г. Гетьман, А.В. Макаров. – К.: Здоров'я, 1986. – 128 с.
3. *Багненко С.Ф.* Прогнозирование и предотвращение эмпиемы плевры при изолированных и сочетанных повреждениях груди / С.Ф. Багненко, Ю.Б. Шапот, А.Н. Тулупов // Матер. Рос. научн.-практ. конф. «Актуальные проблемы неотложной хирургии (острый холецистит, травма сосудов, сочетанная травма)». – Москва–Пятигорск, 2005. – С. 118–122.
4. *Бисенков Л.Н.* Повреждения груди / Л.Н. Бисенков, С.Т. Пахоменков // Неотложная хирургия груди. – СПб.: Logos, 1995. – С. 142–163.
5. *Вагнер Е.А.* Хирургия поврежденной груди / Е.А. Вагнер. – М.: Медицина, 1981. – 288 с.
6. Эндоскопическая торакальная хирургия / А.М. Шулуток, А.А. Овчинников, О.О. Ясного-родский, И.Я. Мотус. – М.: Медицина, 2006. – 392 с.
7. *Жестков К.Г.* Миниинвазивные операции при осложненной закрытой травме груди / К.Г. Жестков, Б.В. Барский // Матер. междунар. конф. «Новые технологии в военно-полевой хирургии и хирургии повреждений мирного времени». – СПб., 2006. – С. 75–76.
8. Sonographic detection of pneumothorax and hemothorax in microgravity / D.R. Hamilton, A.E. Sargsyan, A.W. Kirpatrick et al. // *Aviat. Space Environ. Med.* – 2004. – V. 75. – P. 272–271
9. Early evacuation of traumatic retained hemothorax using thoracoscopy: a prospective, randomized trial / D.M. Meyer, M.E. Jessen, M.A. Wait, A.S. Estrera // *Ann. Thorac. Surg.* – 1997. – V. 64, № 5. – P. 1396–1400.
10. *Villavicencio R.T.* Analysis of thoracoscopy in trauma / R.T. Villavicencio, J.A. Aucar, M.J. Wall // *Surg. Endosc.* – 1999. – V. 13. – P. 3–9.
11. *Порханов В.А.* Возможности видеоторакопии в лечении пациентов с массивным внутрплевральным кровотечением / В.А. Порханов, С.С. Семендяев, В.Б. Кононенко // Эндоскопическая хирургия. – 2000. – № 2. – С. 52–53.
12. Changing dogmas: history of development in treatment modalities of traumatic pneumothorax, hemothorax, and posttraumatic empyema thoracis / T.F. Molnar, J. Hasse, K. Jeyasingham et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2004. – V. 77. – P. 372–378.

**В.М. Лихман**

#### ВИДЕОТОРАКОСКОПІЧНІ МЕТОДИ ЗУПИНКИ ВНУТРІШНЬОПЛЕВРАЛЬНОЇ КРОВОТЕЧІ ПРИ ТЯЖКІЙ ЗАКРИТІЙ ТРАВМІ ГРУДЕЙ

Вивчені результати лікування 260 постраждалих з тяжкою закритою травмою грудей, ускладненою гемотораксом. У 137 хворих реалізований розроблений нами підхід до діагностичної тактики і хірургічного лікування з використанням відеоторакоскопичних методик.

**Ключові слова:** посттравматичний гемоторакс, хірургічне лікування, відеоторакоскопія.  
*V.N. Lyhman*

#### VIDEOTHORACOSCOPIC METHODS OF INTRAPLEURAL BLEEDING CONTROL IN SEVERE BLUNT THORACIC TRAUMA

Results of treatment of 260 patients with severe blunt thoracic trauma, complicated with hemothorax, is presented in the study. In 137 patients the proposed diagnostic and surgical approach with application of videothoracoscopic methods was used.

**Key words:** posttraumatic hemothorax, surgical treatment, videothoracoscopy.

*Поступила 09.06.10*

## УРОЛОГІЯ

УДК 616.61-008.6+612.38

*В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва*ІНТЕГРАЦІЯ НИРКОВОЗАМІСНОЇ ТЕРАПІЇ  
ПРИ ХРОНІЧНІЙ ХВОРОБІ НИРОК*Харківський національний медичний університет**Харківський обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала*

Проведено аналіз власних спостережень лікування пацієнтів із хронічною нирковою недостатністю методом перитонеального діалізу на етапі підготовки до родичівської трансплантації. В групу були включені 15 пацієнтів, яким була зроблена пересадка родичівської нирки. Середній період спостереження склав  $(2,3 \pm 0,6)$  року. В групі пацієнтів досліджувалися стандартні параметри, що відповідають даній нозологічній формі. Відзначено відсутність ускладнень у післяопераційному періоді у пацієнтів, які перебували на передтрансплантаційній підготовці методом перитонеального діалізу. Отримані результати підтверджують ефективність інтеграції нирковозамісної терапії у пацієнтів із хронічною хворобою нирок.

**Ключові слова:** *хронічна ниркова недостатність, перитонеальний діаліз, трансплантація родичівської нирки, нирковозамісна терапія.*

За даними Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок, в Харківській області відзначається ріст пацієнтів із хронічною хворобою нирок (ХХН) і хронічною нирковою недостатністю (ХНН). Поширеність V стадії ХХН в області становить 13,4 на 100 тис. населення. Щорічний приріст пацієнтів, що потребують нирковозамісної терапії, становить 8,7%. Регістр ниркових хворих включає 51 950 пацієнтів, із них 200 одержують гемодіаліз, 65 – лікування постійним амбулаторним перитонеальним діалізом (ПАПД) й автоматичним перитонеальним діалізом, 43 пацієнти живуть із функціонуючим нирковим трансплантатом.

Актуальним завданням нефрологів і лікарів загальної практики й сімейної медицини залишається рання діагностика початкових стадій ниркової недостатності. Ці заходи повинні проводитися не тільки на рівні амбулаторно-поліклінічної ланки, але й на всіх етапах спостереження й лікування пацієнтів із ХХН.

У структурі нирковозамісної терапії (НЗТ) перитонеальний діаліз (ПД) є почат-

ковим етапом підготовки до трансплантації нирки. Багато дослідників, порівнюючи ефективність гемодіалізу й перитонеального діалізу, відзначають ряд позитивних якостей останнього. Головними з них є більш тривалий строк схоронності залишкової функції нирок, відсутність проблем судинного доступу, зниження ймовірності інфікування вірусами гепатиту. Є дані про зменшення в ПД-пацієнтів ризику відстроєної функції ниркового трансплантата [1, 2]. Ці позитивні якості, так само як і неухильний ріст кількості ПД-хворих, виявилися передумовами для створення концепції так званого інтегрованого підходу до замісної терапії ХНН. Його суть полягає в оптимальній комбінації різних видів НЗТ із використанням достоїнств кожного методу так, щоб максимально продовжити життя пацієнта. Зокрема, у випадках збереженої залишкової функції нирок, коли швидкість клубочкової фільтрації дорівнює приблизно 10–12 мл/хв, оптимальним першим видом НЗТ є ПД, який потім замінюється трансплантацією нирки або гемодіалізом. Переваги такого підходу з використанням ПД як

© *В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва.*

«терапії першої лінії» є очевидними з робіт [3–5]. Автори цих робіт показали, що початок НЗТ із ПД дозволяє значно продовжити життя пацієнтів із термінальною ХНН, а в ряді випадків ПД взагалі виявляється єдиною можливим методом замісного лікування.

Сьогодні очевидний той факт, що трансплантація нирки є найбільш ефективним методом лікування термінальної стадії ХНН. Розвиток прижиттєвого органного донорства в усьому світі виявився змушеною відповіддю на розрив, що приймає катастрофічний масштаб між потребою в трансплантації й можливістю її здійснити [6].

**Матеріал і методи.** Проаналізовані результати 15 операцій з трансплантації нирки, які було виконано в Центрі з грудня 2006 по червень 2010 р. Вік реципієнтів (9 чоловіків і 6 жінок) склав від 22 до 50 років, у середньому ( $32,3 \pm 3,4$ ) роки. Серед причин розвитку ниркової недостатності – хронічний гломерулонефрит (8 пацієнтів, 53,3 %) , пієлонефрит (4 пацієнти, 26,7 %) і полікістоз (3 пацієнти, 20,0 %). Усі пацієнти на етапі підготовки до трансплантації нирки одержували лікування методом ПАПД. Час спостереження на перитонеальному діалізі, який був першим і єдиним методом НЗТ, склав від трьох до 24 місяців.

У ході спостереження проводився моніторинг стану хворих, який включав щомісячне визначення стандартних клініко-лабораторних показників, що входять до протоколу обстеження пацієнтів із хронічною хворобою нирок, УЗД нирок, ЕКГ, УЗД серця, рентгенографію органів грудної клітки. Визначалися залишкова функція нирок, транспортні властивості очередини, КТ/V, індекс маси тіла, рівні феритину, трансферину, показники ліпідного обміну. В післяопераційному періоді контроль стану трансплантата включав, крім загальноклінічних оцінок, УЗД, ізотопну скінтиграфію. Початкові транспортні властивості очередини характеризувалися за результатами тесту перитонеальної рівноваги (PET-тест), який виконувався через 1 місяць після початку ПАПД за методикою Z.J. Twardowski [7]. Відповідно оцінювалося D/p креатиніну після 4-годинної експозиції в черевній порожнині 2,0 л діалізуючого розчину з концентрацією глюкози 2,27 %. Залишкова функція нирок до початку ПАПД оцінювалася за кліренсом креатиніну, який розраховувався за формулою Cockcroft–Gault. Підбір розчинів з різним рівнем осмолярності проводився в залежності від залишкової функ-

ції нирок, площі поверхні тіла і транспортних властивостей очередини.

Отримані в ході дослідження результати свідчать про ефективність методу ПАПД у корекції стану хворих з термінальною ХНН, а також у підготовці хворих до трансплантації нирки. На початку ПД залишкова функція нирок зберігалася у всіх хворих, а рівні гемоглобіну складали від 83 до 103 г/л. Корекція анемії на початку процедури проводилася у всіх пацієнтів еритропоєтинами на фоні базисної терапії препаратами заліза, вітамінами. В результаті проведення ЗНТ рівень гемоглобіну підвищився до 111–114 г/л.

Синдром артеріальної гіпертензії корегувався чотирма групами препаратів: інгібіторами ангіотензинперетворюючого ферменту,  $\beta$ -блокаторами, блокаторами кальцієвих каналів і  $\alpha$ -блокатори. Рівень систолічного тиску знизився зі 160–220 до 120–140 мм рт. ст., діастолічного – з 90–120 до 80–95 мм рт. ст. Рівень волеїї підтримувався ультрафільтрацією в процесі виконання процедури ПД. Оцінювався рівень альбуміну як один з головних факторів білково-енергетичної недостатності [8]. В нашому спостереженні рівень альбуміну склав від 28,4 до 51,4 г/л і протягом проведення ПАПД зберігався за рахунок білкового раціону і адекватної дози діалізу.

Стандартні біохімічні показники і електrolіти крові в процесі проведення ПД склали: загальний білок – від 61,7 до 75,7 г/л, Са – від 2,10 до 2,15 ммоль/л, Р – від 1,76 до 2,15 ммоль/л, феритин – від 37 до 420,8 нг/мл, трансферин – від 1,8 до 2,6 г/л, ліпопротеїди високої щільності – від 0,91 до 1,12 ммоль/л, ліпопротеїди низької щільності – від 2,95 до 4,09 ммоль/л, КТ/V – від 2,50 до 4,30, швидкість клубочкової фільтрації – від 1,00 до 2,20 мл/хв.

**Результати та їх обговорення.** Стан пацієнтів був оцінений як задовільний для проведення трансплантації. Усі пацієнти отримали трансплантат від живих донорів-родичів. Тривалість спостереження після трансплантації склала від двох до 42 місяців. Строк консервації (час холодової ішемії) в досліджуваній групі склав у середньому 40 хв. Після виконання операції негайно функція трансплантата спостерігалася у 9 реципієнтів, відстрочена – у 6.

Після трансплантації реципієнт і донор протягом 7 днів знаходилися у відділенні невідкладної нефрологічної реанімації, де проводився цілодобовий динамічний контроль загальноклінічних і біохімічних по-

казників (клубочкова фільтрація, електроліти, сечовина, креатинін), рівня діурезу, артеріального тиску, а також рівня концентрації циклоспорину. Щодня виконувалося УЗД трансплантата. У наступні сім днів спостереження проходило у відділенні трансплантації, і на 15-ту добу пацієнти були виписані під спостереження нефролога для продовження імуносупресивної терапії.

Підбір режиму імуносупресії проводився на базі комбінованих препаратів (зенапакс, циклоспорин А, селсепт, стероїди) і їх індивідуальної переносимості [9].

У посттрансплантаційному періоді в досліджуваній групі були відсутні хірургічні ускладнення. У ранній період спостереження, що становив 3 місяці, у жодного з реципієнтів не відзначено ускладнень.

Вживаність пересаженої нирки в ранньому і віддаленому посттрансплантаційному періоді склала 100 %. Епізоди гострого відторгнення трансплантата не спостерігалися. У першої хворої було діагностовано три епізоди хронічного пієлонефриту трансплантата. Після виписування з відділення хворі знаходяться під диспансерним спостереженням у нефролога і щомісяця контролюють рівень циклоспорину в комплексі загальноклінічних і біохімічних показників крові і сечі.

Таким чином, результати проведених досліджень у пацієнтів, що знаходяться на ПД при підготовці до трансплантації нирки, підтверджують ефективність підготовки до родичівської трансплантації і базуються на стабільному рівні показників метаболізму, більш ефективному контролі над метаболічним ацидозом, корекцією рівня калію, збереженні залишкової функції нирок.

### Література

1. Dialysis modality and delayed graft function after cadaveric renal transplantation / A.J. Bleyer, J.M. Burkart, G.B. Russell, P.L. Adams // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1999. – V. 10. – P. 154–159.
2. Факторы прогрессирования хронической нефропатии отторжения: клинко-морфологический анализ / Е.С. Столяревич, И.М. Ильинский., В.А. Варшавский и др. // *Нефрология.* – 1998. – № 2. – С. 45–51.
3. Шестилетний опыт программы перитонеального диализа в Санкт-Петербурге / А.Ю. Земченков, Ю.В. Константинов, Р.В. Шумилкин и др. // *Нефрология и диализ.* – 2001. – № 3 (2). – С. 164–165.
4. Coles G.A. What is the place of peritoneal dialysis in the integrated treatment of renal failure? / G.A. Coles, J.D. Williams // *Kidney Int.* – 1998. – V. 54. – P. 2234–2240.
5. Analysis of the reasons for transfers between hemodialysis and peritoneal dialysis and their effect on survivals / W. van Biesen, C. Dequidt, D. Vijt et al. // *Adv. Perit. Dial.* – 1998. – V. 14. – P. 90–94.
6. Розенталь Р. Донорство в трансплантации органов / Р. Розенталь, В. Сободев, А. Сондоре. – Рига: Звайгзне, 1987. – 167 с.
7. Twardowski Z.J. Peritoneal equilibration test / Z.J. Twardowski // *Perit. Dial. Bullet.* – 1987. – V. 3. – P. 244–305.

Діалізна підготовка методом ПД підвищує виживаність трансплантата і реципієнта, оскільки відбувається корекція загальноносоматичного статусу і показників обміну електролітів, рівня гемоглобіну, феритину, трансферину, мінімізує ризик розвитку серцево-судинних ускладнень [10–12].

### Висновки

1. Сучасна замісна ниркова терапія припускає інтеграцію методів лікування хронічної ниркової недостатності, при якій перитонеальний діаліз є оптимальним першим методом, після якого хворим може бути виконана трансплантація нирки.

2. Підготовка реципієнтів до родичівської трансплантації методом перитонеального діалізу дозволяє поліпшити прогноз у післятрансплантаційному періоді. Перитонеальний діаліз слід розглядати як етап підготовки до трансплантації нирки в комплексній замісній нирковій терапії.

3. Хронічна хвороба нирок, як результат багатьох хвороб, в ХХІ ст. перестала бути фатальним станом. Нирка – перший орган, функції якого вдалося успішно й довгостроково замінювати. З урахуванням переваг і недоліків сучасних підходів лікування сьогодні найбільш доцільною є стратегія планомірної зміни методів ниркової замісної терапії із початком лікування переважно ПАПД. При цьому основою успіху є якомога більш раннє виконання трансплантації нирки пацієнтам з попередженням розвитку супутніх ускладнень. Завдяки такому підходу наші пацієнти протягом тривалого періоду спостереження ведуть активний спосіб життя, залишаючись повноцінними членами своєї родини й суспільства.

8. Protein losses during peritoneal dialysis / M.J. Blumenkrantz, G.M. Gahl, J.D. Kopple et al. // *Kidney Int.* – 1981. – V. 19. – P. 593–602.
9. Determinants of chronic renal allograft rejection in cyclosporine-treated recipients / S.M. Flechner, C.S. Modlin, D.P. Serrano et al. // *Transplantation.* – 1996. – V. 62. – P. 1235–1241.
10. Андрусев А.М. Интегрированный подход к заместительной почечной терапии / А.М. Андрусев, Н.Л. Титова, Б.Т. Бикбов // *Нефрология и диализ.* – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 134–140.
11. Culleton B. Cardiovascular risk in continuous ambulatory dialysis patients / B. Culleton, P.S. Parfrey // *Perit. Dial. Int.* – 1996. – V. 16. – P. 10–12.
12. Mozer B. Differences in quality of life among patients receiving dialysis replacement therapy at seven medical centers / B. Mozer, E. Shabtai, D. Zucker / *J. Clin. Epidemiol.* – 1997. – V. 50. – P. 1035–1043.

*В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева*

#### **ИНТЕГРАЦИЯ ПОЧЕЧНОЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК**

Выполнен анализ собственных наблюдений лечения пациентов с хронической почечной недостаточностью методом перитонеального диализа на этапе подготовки к родственной трансплантации. В группу были включены 15 пациентов, которым была пересажена родственная почка. Средний период наблюдения составил (2,3±0,6) года. В группе пациентов исследовались стандартные параметры, соответствующие данной нозологической форме. Отмечено отсутствие осложнений в послеоперационном периоде у пациентов, которые находились на предтрансплантационной подготовке методом перитонеального диализа. Полученные результаты подтверждают эффективность интеграции почечнозаместительной терапии у пациентов с хронической болезнью почек.

**Ключевые слова:** хроническая почечная недостаточность, перитонеальный диализ, трансплантация родственной почки, почечнозаместительная терапия.

*V.N. Lesovoy, N.M. Andonieva*

#### **THE INTEGRATION OF REPLACEMENT RENAL THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE**

The analysis of results of the usage of peritoneal dialysis in patients with chronic kidney disease on the stage of preparing to the living donor transplantation was performed. We investigated the group of 15 patients with transplanted kidney during (2,3±0,6) years. The standard parameters for this pathology were assessed. The postoperative complications were absent in patients which were prepared to the transplantation using peritoneal dialysis. The results confirmed the efficacy of integration of replacement renal therapy in patients with chronic kidney disease.

**Key words:** chronic renal insufficiency, peritoneal dialysis, living donor transplantation, replacement renal therapy.

*Поступила 03.09.10*

УДК 616.612.339.1

*Н.М. Андон'єва, Г.В. Лісова*

## ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ МІРЦЕРИ В КОРЕКЦІЇ АНЕМІЇ У ПАЦІЄНТІВ НА ПЕРИТОНЕАЛЬНОМУ ДІАЛІЗІ

*Харківський національний медичний університет**Харківський обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала*

Проведено дослідження ефективності використання мірцери у пацієнтів з термінальною стадією хронічної хвороби нирок, що отримують перитонеальний діаліз. Показано, що застосування мірцери сприяє значному підвищенню рівня гемоглобіну, забезпечує стійкий довготривалий антианемічний ефект. Зручний режим дозування мірцери дозволяє підвищити пов'язану з лікуванням якість життя хворих.

**Ключові слова:** *хронічна хвороба нирок, термінальна хронічна ниркова недостатність, нефрогенна анемія, еритропоетини.*

Впровадження в клінічну практику препаратів рекомбінантного людського еритропоетину (рл-ЕПО) революційним образом змінило стратегію лікування нефрогенної анемії й дозволило практично відмовитися від гемотрансфузій в лікуванні стабільних пацієнтів на хронічному гемодіалізі і перитонеальному діалізі [1]. Препарати рл-ЕПО виявилися високоефективними засобами корекції ниркової анемії у більшості пацієнтів, а найбільш часто причиною резистентності до них виявився функціональний (рідше абсолютний) дефіцит заліза, який був подоланий призначенням рл-ЕПО і внутрішньовенних препаратів заліза [2, 3]. Перші результати свідчать, що їх призначення дозволяє не тільки усунути анемічний синдром і зменшити потребу в гемотрансфузіях, але й знизити захворюваність і смертність хворих завдяки профілактиці серцево-судинних й інфекційних ускладнень [4, 5]. Поряд із цим корекція анемії препаратами рл-ЕПО підвищує якість життя, поліпшує когнітивні функції, сексуальну активність і сприяє збереженню працездатності як у пацієнтів на діалізі, так і в переддіалізних стадіях хронічної хвороби нирок (ХХН), що має важливе медико-соціальне значення [6, 7].

Препарат Мірцера став першим представником нового класу засобів, що стимулюють еритропоез, III покоління, так званий активатор рецепторів еритропоетину тривалої дії (CERA). Мірцера має принципові розходження зі ЗСЕ I і II покоління в плані взаємодії з рецептором за фармакокінетичними характеристиками. У порівнянні з епоети-

ном-бета мірцера демонструє низьку спорідненість до рецептора, легко дисоціює після взаємодії з розчинним ЕПО-рецептором (ЕПО-Р) і має низьку активність відносно проліферації клітин *in vitro*. Вважають, що зв'язок мірцери з рецептором настільки неміцний, що не дозволяє йому здійснити захоплення й інтерналізацію препарату, тому повторювана стимуляція, активація й дисоціація з ЕПО-Р спричиняє тривалу активність і збільшує період виведення [9].

Як і раніше, час напіввиведення мірцери багаторазово збільшився й склав 130 год, що приблизно в 6 разів перевищує час виведення дарбепоетину-альфа при внутрішньовенному введенні, що підтверджує гіпотезу більш рідкого введення препарату й продовження інтервалів між ін'єкціями [9]. Шлях введення мірцери практично не впливає на швидкість її елімінації, і періоди напіввиведення при підшкірному і внутрішньовенному введенні приблизно однакові, що, безумовно, є ще одним достоїнством мірцери й дає лікареві можливість вибору більш зручного способу призначення (на гемодіалізі – внутрішньовенний; у переддіалізний період, на перитонеальному діалізі і трансплантації – підшкірний).

Перитонеальний діаліз є видом нирково-замісної терапії, при якому пацієнт перебуває на відстані від діалізного центра, і при цьому корекція анемії вимагає більш рідкого введення препаратів, тому поява мірцери дозволила поліпшити не тільки доступність допомоги, але й оптимізувати підготовку до трансплантації пацієнтів з анемією.

© *Н.М. Андон'єва, Г.В. Лісова.*

**Матеріал і методи.** Ефективність мірцери досліджували у пацієнтів з термінальною стадією ХХН, що отримували замісну ниркову терапію методом перитонеального діалізу в обласному клінічному центрі урології і нефрології ім. В.І. Шаповала. Мірцера в корекції анемії застосовувалась у 7 пацієнтів (2 чоловіки і 5 жінок), середній вік яких складав (45,2±2,67) року. Причиною розвитку хронічної ниркової недостатності були хронічний гломерулонефрит – у двох пацієнтів, полікістоз нирок – у трьох, хронічний пієлонефрит – у двох. У ході виконання перитонеального діалізу проводився аналіз ефективності корекції анемії в комплексі досліджень щодо стану пацієнтів і адекватності діалізу. Визначалися показники, вказані в протоколі обстеження пацієнтів із ХХН, а саме рівень гемоглобіну, сироваткового заліза, трансферину, феритину, а також як можливі причини розвитку резистентності до терапії визначалися рівні паратгормону сироватки крові, сироваткового альбуміну, показники адекватності діалізу.

Рівень гемоглобіну у пацієнтів, що приймали участь у дослідженні, був нижче 110 г/л, і відповідно до Європейських рекомендацій з оптимальної практики лікування анемії у пацієнтів із ХНН їм були призначені засоби, що стимулюють еритропоез. Мірцера була першою із цих засобів. Вона призначалася в стартовій дозі 0,6 мкг/кг (50 мкг) підшкірно 2 рази на місяць. Після досягнення цільового рівня гемоглобіну 110 г/л в якості підтримуючої терапії пацієнтам призначалася подвійна доза (100 мкг) 1 раз на місяць. Лікування мірцерою проводилося на фоні базисної терапії препаратами заліза.

*Клінічні показники пацієнтів із хронічною нирковою недостатністю (n=7) на перитонеальному діалізі в залежності від тривалості застосування мірцери (M±m)*

Показник	До початку лікування	Через 6 міс від початку лікування	Через 12 міс від початку лікування
Гемоглобін, г/л	87,10±2,92	112,30±2,60*	115,90±3,03*
Альбумін, г/л	34,80±0,73	40,20±1,03*	39,30±1,08*
Сироваткове залізо, мкмоль/л	14,25±1,52	17,40±1,49*	19,70±1,66*#
Трансферин, г/л	2,02±0,07	2,22±0,07*	2,45±0,09*#
Феритин, нг/мл	64,70±11,89	77,50±12,89*	78,90±15,23*
Сечовина, ммоль/л	36,40±1,59	15,22±0,61*	15,10±1,67*
Креатинін, мкмоль/л	1153,50±47,45	670,70±27,56*	728,90±36,68*
ПТГ, пг/мл	552,50±46,62	474,00±41,18*	487,60±54,31*

*Примітка.* p<0,05; \* достовірна різниця в порівнянні з даними до початку лікування; # в порівнянні з даними через 6 міс від початку лікування.

**Результати та їх обговорення.** Дослідження тривало протягом 12 місяців. Основні клінічні показники хворих наведені в таблиці. В ході проведення перитонеального діалізу усі хворі отримували адекватний діаліз – показник достатності діалізу КТ/V у нашому дослідженні коливався в межах 2,3–4,7, що позитивно впливало на перебіг анемії.

Результати нашого спостереження показують значну ефективність мірцери в комплексі з препаратами заліза в корекції анемії у хворих, що одержують замісну ниркову терапію методом перитонеального діалізу.

Анемію різного ступеня вираженості до початку лікування мали усі досліджувані хворі. Рівень гемоглобіну коливався від 65 до 101 г/л, у середньому (87,1±2,92) г/л.

В ході діалізного лікування і застосування мірцери протягом перших 6 місяців перитонеального діалізу рівень гемоглобіну зріс до (112,3±2,60) г/л і у всіх хворих досяг цільових значень, через 12 місяців рівень гемоглобіну склав (115,9±3,03) г/л.

До початку проведення перитонеального діалізу у двох хворих був знижений рівень сироваткового заліза, у п'яти – низький рівень трансферину, у трьох хворих – феритину. Комплексна корекція анемії в ході проведення перитонеального діалізу дала змогу нормалізувати вказані показники протягом перших двох місяців лікування. Після 6 місяців лікування усі хворі отримували підтримуючі дози мірцери, і рівні гемоглобіну у них були стабільно вищими за цільові.

Корекція анемії позитивно позначилася на самопочутті, працездатності, а отже на якості життя хворих на хронічну ниркову недостатність. Збережений фізичний і пси-

хічний стан хворих: п'ять із семи пацієнтів продовжували працювати за спеціальністю, два пацієнти переведені на роботи з полегшеними умовами.

Нормалізація і підтримка гематологічних показників у ході проведення перитонеального діалізу і використання мірцери в комплексі заходів корекції анемії знімають з порядку денного багато гострих проблем, пов'язаних з термінальною стадією ХХН. Переваги в результаті корекції анемії полягають в усуненні потреби в гемотрансфузіях, зниженні госпіталізацій, зменшенні ризику серцево-судинних ускладнень,

значному поліпшенні фізичних, розумових і соціальних параметрів життя пацієнтів з термінальною хронічною нирковою недостатністю.

#### Висновки

Анемія у пацієнтів із термінальною хронічною хворобою нирок на перитонеальному діалізі може ефективно контролюватися шляхом введення мірцери один раз на місяць.

Мірцера при введенні один раз на місяць підтримує стабільний рівень гемоглобіну незалежно від віку пацієнта, статі, причин, що викликали хронічну хворобу нирок, підвищує якість лікування в цілому.

#### Література

1. Miyake T. Purification of human erythropoietin / T. Miyake, C.K.N. Kung, E. Goldwasser // J. Biol. Chem. – 1977. – V. 252. – P. 5558–5564.
2. Besarab A. Optimization of epoetin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients / A. Besarab, N. Amin, M. Ahsan et al. // J. Am. Soc. Nephrol. – 2000. – V. 11. – P. 530–538.
3. Kooistra M.P. The absorption of iron is disturbed in recombinant human erythropoietin-treated peritoneal dialysis patients / M.P. Kooistra, J.J. Marx // Nephrol. Dial. Transplant. – 1998. – V. 13. – P. 2578–2582.
4. Faller B. Daily subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin (rhEPO) in peritoneal dialysis patients: a European dose-response study / B. Faller, A. Slingeneyer, M. Waller et al. // Clin. Nephrol. – 1993. – V. 40. – P. 168–175.
5. House A. Transfusion and recombinant human erythropoietin requirements differ between dialysis modalities / A. House, B. Pham, D.T. Page // Nephrol. Dial. Transplant. – 1998. – V. 13. – P. 1763–1769.
6. Barany P. Subcutaneous erythropoietin-beta in renal anemia; an open multicenter dose titration study of patients on continuous peritoneal dialysis / P. Barany, N. Clyne, B. Hylander et al. // Perit. Dial. Int. – 1995. – V. 15. – P. 54–60.
7. Stefanovic V. Effects of adequacy of dialysis and nutrition on morbidity and working rehabilitation of patients treated by maintenance hemodialysis / V. Stefanovic, M. Stojanovic, V. Djordjevic // Int. J. Artif. Organs. – 2000. – V. 23. – P. 83–89.
8. McMahon L.P. Effects of haemoglobin normalization on quality of life and cardiovascular parameters in end-stage renal failure / L.P. McMahon, K. Mason, S.L. Skinner et al. // Nephrol. Dial. Transplant. – 2000. – V. 15. – P. 1425–1430.
9. Шило В.Ю. Мирцера – новая эра в лечении ЭПО-дефицитной анемии / В.Ю. Шило // Нефрология и диализ. – 2008. – Т. 10, № 3–4. – С. 192–198.

*Н.М. Андоньева, А.В. Лесовая*

#### ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МИРЦЕРЫ В КОРРЕКЦИИ АНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ НА ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ ДИАЛИЗЕ

Проведено исследование эффективности использования мирцеры у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек, которые получают перитонеальный диализ. Показано, что применение мирцеры способствует значительному повышению уровня гемоглобина, обеспечивает стойкий длительно действующий антианемический эффект. Удобный режим дозирования мирцеры позволяет повысить связанное с лечением качество жизни больных.

**Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, терминальная хроническая почечная недостаточность, нефрогенная анемия, эритропоэтины.

*N.M. Andon'ieva, A.V. Lisova*

#### EXPERIENCE OF APPLICATION MIRCERA IN CORRECTION OF THE ANEMIA AT PATIENTS WHICH TREATED WITH PERITONEAL DIALYSIS

Research of efficiency of use of mircera at patients with a terminal stage of chronic kidney disease which patients with treated with peritoneal dialysis is carried out. It is shown, that application mircera promotes substantial increase of level of haemoglobin, provides the proof is long operating anti-anemic effect. The convenient mode of dispensing mircera allows to raise the quality of a life of patients connected with treatment.

**Key words:** chronic kidney disease, terminal chronic renal insufficiency, nephrogenic anemia, erythropoietin.

Поступила 19.07.10

# ІСТОРІЯ МЕДИЦИНИ

УДК 612.112.3(091)

*М.О. Иваненко, Е.М. Климова*

## ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ ТЕОРИИ ФАГОЦИТОЗА

*ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева  
НАМН Украины», г. Харьков*

*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», г. Харьков*

Рассмотрены исторические аспекты изучения фагоцитирующих клеток и становления теории фагоцитоза. Освещён вклад И.И. Мечникова в создание и развитие клеточной теории иммунитета.

**Ключевые слова:** клеточный иммунитет, фагоцитоз, фагоциты.

15 мая 2010 года исполнилось 165 лет со дня рождения выдающегося учёного-иммунолога, лауреата Нобелевской премии Ильи Ильича Мечникова.

Заслуги И.И. Мечникова в становлении медико-биологической науки трудно переоценить. Благодаря использованию сравнительно-эволюционного метода исследования и анализа, а также ряда новаторских подходов в изучении живой природы, ему удалось открыть несколько новых направлений в науке и сделать ряд обобщений, имеющих общеприкладное значение.

Создание фагоцитарной, или клеточной, теории иммунитета – один из важнейших результатов плодотворной научной деятельности Мечникова. Несколько позже стало очевидным, что иммунитет представляет собой комплексную реакцию на чужеродность, в которой фагоцитоз и синтез антител – два взаимосвязанных начала одного действия [1].

О наличии в многоклеточных организмах специальных образований, способных элиминировать чужеродные частицы из крови, стало известно в середине XIX в. Немецкий учёный Ф.Д. Реклингхаузен впервые ввёл животным в кровь взвешенные частицы киновари, туши и изучил их распределение «в тончайших питающих сосудах». Впоследствии Дж. Ф. Конгейм описал так называемые «киноварные клетки» в печени и селезёнке. В конце 70-х годов XIX в. К.В. Купфер опубликовал свои

наблюдения над особыми, найденными им в печени клетками звёздчатой формы, которые, как и некоторые другие типы клеток, способны активно захватывать витальные красители, жир и другой корпускулярный материал из кровеносного русла [2]. В это же время появляются работы Раунт (1874) и Росер (1881), в которых высказывается предположение, что «белым кровяным тельцам принадлежит известная роль в освобождении организма от патогенных микробов» [3], причём в данных работах не приводится экспериментальное подтверждение высказанной гипотезы. Однако это были лишь отдельные наблюдения, которые не могли служить основой для стройной концепции о наличии в организме специализированной барьерфиксирующей системы клеточных элементов.

И.И. Мечников сумел преодолеть механистическое толкование фактов, связанных с простым очищением крови от чужеродных веществ. Новая плодотворная идея возникла в результате длительной работы мысли в определённом направлении, на почве конкретного экспериментального материала, полученного при наблюдении за изучаемым явлением природы. «Внезапными» являются освещение этого материала новым светом, другой угол зрения, приложение наблюдаемых закономерностей к другим явлениям [4].

Именно это произошло с Мечниковым. На протяжении 17 лет он изучает внутриклеточное пищеварение. Ещё в 1865 г. он

© М.О. Иваненко, Е.М. Климова.

устанавливает наличие внутриклеточного пищеварения у низших червей – земляных планарий (*Geodermus bilineatus*). Дальнейшие многочисленные исследования позволили выявить внутриклеточное пищеварение у низших реснитчатых червей (*Mesostomum* и *Planaria*), у кишечнорастных (*Coelenterata*), у иглокожих, губок и других животных [5]. Становится очевидным, что это не частные случаи, а определённая закономерность развития.

И.И. Мечников показал, что в многоклеточном организме существует большая группа клеток мезодермального происхождения, распределённых по разным местам и способных поглощать и разрушать микробы, эритроциты и корпускулярные вещества разной природы. Проведённые с использованием сравнительно-эмбриологических методов исследования представителей различных отделов животных позволили констатировать факт наличия подобных клеток на всех этапах филогенеза как у беспозвоночных, так и позвоночных видов. Разрабатывая теорию происхождения многоклеточности, Мечников предполагает существование гипотетического доисторического организма – паренхимеллы, у которого появляются первые специализированные клетки, участвующие одновременно как в защите колонии, так и в процессах пищеварения. По мере эволюции и усложнения организации данный тип клеток постепенно переключается на выполнение защитных функций, в основе которых лежали древние пищеварительные свойства [5].

Во время проведения указанных исследований мысль о роли внутриклеточного пищеварения в защите организма от микробов не приходит к Мечникову; она не возникает даже тогда, когда в 1879 г. он наблюдает, что клетки иглокожих и кишечнорастных, имеющих пищеварительную полость, содержат посторонние частицы и скапливаются вокруг введённых в организм зёрен кармина. Не приходит эта мысль И.И. Мечникову и в 1880 г., когда он впервые изучает инфекционное заболевание, желая найти средство для борьбы с вредителями хлебных злаков – жуками *Anisoplia austriaca*. Все эти исследования не рожают мысли о фагоцитарной гипотезе, но они создают почву для её рождения и развития [4].

Первая мысль о фагоцитарной теории, пока ещё только гипотеза, родилась у Мечникова в Мессине (Италия) в начале 1883 г. Открытие, круто изменившее ход его жиз-

ни, было связано с наблюдениями за личинками морской звезды. Наблюдая за этими прозрачными животными, Мечников заметил, как подвижные клетки окружают и поглощают чужеродные тела, подобно тому, как это происходит при воспалительной реакции у людей. Если чужеродное тело было достаточно мало, блуждающие клетки, которые он назвал фагоцитами, могли полностью поглотить пришельца. Мечников был не первым учёным, наблюдавшим, что лейкоциты у животных пожирают вторгшиеся организмы, включая бактерии. В то же время считалось, что процесс поглощения служит, главным образом, для распространения чужеродного вещества по всему телу через кровеносную систему. И.И. Мечников придерживался иного объяснения, так как смотрел на происходящее глазами эмбриолога. У личинок морских звёзд подвижные фагоциты не только окружают и поглощают вторгшийся объект, но также резорбируют и уничтожают другие ткани, в которых организм более не нуждается. Лейкоциты человека и подвижные фагоциты морской звезды эмбриологически гомологичны, так как происходят из мезодермы. Отсюда учёный сделал вывод, что лейкоциты, подобно фагоцитам, в действительности выполняют защитную или санитарную функцию [4, 6–8]. Далее он продемонстрировал деятельность фагоцитов у прозрачных водяных блох. «Согласно этой гипотезе, – писал впоследствии Мечников, – болезнь должна рассматриваться как борьба между патогенными агентами – поступившими извне микробами – и фагоцитами самого организма. Излечение будет означать победу фагоцитов, а воспалительная реакция будет признаком их действия, достаточного для предотвращения атаки микробов» [9].

Данное открытие в одно мгновение изменило судьбу Мечникова. «Случайный» опыт сразу породил «богатую перспективу исследований в области научной медицины, которая прежде была мне совершенно чужда», – вспоминает он и заключает: «Таким образом, в Мессине совершился перелом в моей научной жизни. До того зоолог, я сразу сделался патологом. Я попал на новую дорогу, которая сделалась содержанием моей последующей деятельности» [10].

В дальнейших работах учёный пытался доказать общность явлений воспаления, вызываемых у высших позвоночных вторжением болезнетворных тел и сопровождающихся скоплением лейкоцитов в местах

проникновения агента и повреждения ткани, с явлениями внутриклеточного пищеварения у низших беспозвоночных.

Мечников впервые поставил вопрос о родстве между моноцитами крови и тканевыми макрофагами, функциональная активность которых тесно связана с процессами воспаления и обеспечивает в связи с этим невосприимчивость к заразным заболеваниям. Именно с этого момента воспаление стали рассматривать как защитную реакцию организма, а не только как деструктивный процесс. Мечников развивает сравнительно-патологическую, или биологическую, теорию воспаления [10].

Согласно наиболее распространённой теории Конгейма (1867, 1873), «выход лейкоцитов сквозь стенки капилляров вызывается повреждением их стенок, при котором кровеносные тельца совершенно пассивно скапливаются в местах воспаления и, распадаясь, образуют гнойный экссудат» [6]. «Установив, что клетки воспалительного экссудата происходят из белых кровяных телец..., Конгейм присоединился к теории С. Самуэля, по которой сама суть воспаления заключается в болезни сосудов, вызванной известным раздражением» [11]. Лейкоцитам отводится лишь второстепенная роль. При этом Самуэль отмечает, что «лейкоциты при воспалении поглощают различные тела, пигмент, бактерии и пр., ... они могут убивать и переваривать микробов, но при проказе и бугорчатке бациллы, наоборот, даже размножаются внутри лейкоцитов и переносятся ими в органы, обуславливая тем метастазы..., «пожирающие клетки» пожирают, следовательно, не всегда то, что они должны пожирать по теории, а иногда они даже распространяют зло, которое они должны исцелять» [9]. И.И. Мечников показал, в полном соответствии с теорией Дарвина, что фагоцитарная реакция не является полностью целесообразным приспособлением. «Именно потому, что защита фагоцитов развивается по закону естественного подбора, а не вследствие предназначенной заранее цели, вполне понятно, что бывают случаи, где фагоциты не исполняют своей роли, что угрожает организму большой опасностью и даже смертью..., воспалительная реакция вовсе не есть ещё приспособление, достигшее совершенства... Фагоцитарный аппарат ещё не достиг последней степени своего развития...» [11].

В 1892 и в 1897 гг. Мечников публикует работы, в которых подвергает тщательному

анализу полученные с использованием сравнительно-патологического метода экспериментальные результаты по изучению воспалительной реакции, а также существующих к тому моменту теорий и суждений.

Как раз в это время в бактериологии всё более и более утверждалось убеждение в гуморальной природе иммунитета, распространению которой способствовало накопление следующего экспериментального материала. Открытие антитоксинов Е. Берингом и Сибасабуро Китасато (1890), опыты П. Эрлиха (1891) по изучению специфичности антитоксинов с последующим их переименованием в антитела, работы Р. Пфайффера и В.И. Исаева (1894), показавших возможность разрушения холерных вибрионов экссудатом, полностью лишённым лейкоцитов. В 1895 г. Жюль Борде показал, что бактериолиз осуществляется только лишь при участии двух различных веществ, не связанных с лейкоцитами, – одно термолabile, содержащееся в лямбда-интактной сыворотке крови, другое термостабильное, образуется в сыворотке лишь в результате иммунизации в ответ на вторжение в организм бактерий [1].

Однако, искусно используя как свои наблюдения, так и наблюдения своих сотрудников и даже данные противников фагоцитарной теории, И.И. Мечников доказывает, что во всех явлениях иммунитета решающую роль играют процессы фагоцитоза. Он готов был допустить, что в редких случаях бактерии разрушаются вне фагоцитов, но веществами, ими выделяемыми. Подходя к трактовке явлений иммунитета с эволюционных позиций, И.И. Мечников заключает: «С теоретической точки зрения можно допустить, что фагоциты ... с течением времени будут выделять свои бактерицидные вещества и, таким образом, внутриклеточное разрушение микробов превратится в разрушение внеклеточное» [12].

Дальнейшие работы П. Эрлиха и разработка им теории «боковых цепей» (1897 г. и позже) позволили выявить не только факт участия двух веществ в гемолизе эритроцитов, подобных веществам Борде, но и установить последовательность их химической активности. Несмотря на гипотетичность построений Эрлиха, они получили всеобщее признание и во многом предвосхитили теорию взаимодействия антигенов и антител, лежащую в основе современной иммунологии.

Подобные результаты исследований сторонников гуморальной теории не могли не

вызвать у Мечникова острейшей реакции: «Под влиянием крайнего мозгового напряжения он проводил бессонные ночи, изыскивая постановку нового доказательства опыта» [7].

И.И. Мечников встретил появление новых идей и экспериментальных подходов к изучению процессов иммунитета, не укладывающихся в его фагоцитарную теорию, с полным признанием их перспективности. Он никогда не исключал возможности существования других способов защиты организма против микробов. В 1895 г. он писал: «...я никогда не забывал отметить, что наряду с фагоцитозом могут существовать другие способы защиты, которые в настоящее время ещё ускользают от нас» [12]. Позже в связи с рассмотренными опытами Борде и Эрлиха Мечников признал: «Мы, очевидно, здесь имеем дело с новым путём исследований, обещающим привести к плодотворным научным результатам» [13].

Мечников проводит серию работ с целью выявить универсальность внеклеточных защитных реакций в животном мире. Он вводил бактериальные токсины различным животным и установил, что беспозвоночные не способны образовывать антитоксины, а среди позвоночных такая способность появляется лишь начиная с рептилий. Следовательно, «антитоксические свойства в животном царстве гораздо менее древнего происхождения, чем фагоцитарная реакция». Вот почему фагоцитоз является основным фактором защиты организма против бактерий, «все же другие средства... защиты... играют лишь второстепенную роль» [12].

В августе 1900 г. в Париже на XIII Международном медицинском конгрессе И.И. Мечников «дал последнее сражение своим противникам и, убежденный в прочности своих выводов», принял решение написать большую итоговую монографию «Невосприимчивость в инфекционных болезнях», появившуюся в 1901 г. [7]. В этой работе он обстоятельно обосновал эволюционно-филогенетический подход к явлениям иммунитета, которым он неизменно руководствовался при разработке своей фагоцитарной теории. Проследивая формы борьбы и невосприимчивости организмов к вторгающимся чужеродным телам от простейших одноклеточных организмов, растений и беспозвоночных животных вплоть до высших позвоночных и человека, И.И. Мечников по-прежнему утверждает, что явле-

ния иммунитета и процессы внутриклеточного пищеварения родственны. В свете всё более и более распространяющейся идеи о сложных химических процессах образования антител и их взаимодействия с чужеродными телами И.И. Мечников настаивал на фагоцитарном происхождении антител и их ферментативной природе. Последнее нашло подтверждение в работах в конце XX в., где доказано, что часть антител обладает каталитическими свойствами (эбзимы) [1].

Учёный готов был допустить наличие в фагоцитах двух или трёх различных ферментов, названных им цитазами (дифференцировав их на макроцитазы и микроцитазы), которые могут выделяться в кровь при разрушении фагоцитов (фаголизе) или избыточном образовании («перепроизводстве») в них этих ферментов [13].

И.И. Мечников старается доказать, что между фагоцитарной и гуморальной теориями иммунитета нет никакого противоречия. Он готов признать, что теория Эрлиха «только пытается проникнуть глубже в механизм явлений, происходящих между микробом и клеткой». Значит, «обе эти теории могут только дополнять друг друга, но вовсе не противоречивы по существу» [13]. На подобную точку зрения встал и Нобелевский комитет, присудивший в 1908 г. Нобелевскую премию И.И. Мечникову и Эрлиху совместно.

В начале XX в. возник вопрос об источнике макрофагов. Известный гистолог А.А. Максимов (1925) считал, что в эмбриональном периоде гистиоциты происходят из так называемых «первичных блуждающих клеток мезенхимы» [14]. Гистиоциты под влиянием раздражителя, например при воспалении, превращаются в амебоидные фагоцитирующие клетки [2]. В противоположность этим взглядам существовала теория, согласно которой гистиоциты и макрофаги происходят только из фиксированных элементов соединительной ткани и приобретают мобильность под влиянием раздражителя.

Развитие учения о фагоцитах и фагоцитозе тесно переплетается с развитием представлений о ретикулоэндотелиальной системе (РЭС). После открытия И.И. Мечникова долгое время основное внимание при изучении фагоцитоза концентрировалось на подвижных макрофагах из очагов воспаления. Однако уже в те времена было известно, что в организме млекопитающих имеются фиксированные, «привязанные» к одно-

му месту клетки, которые также обладают фагоцитарной функцией.

В.К. Высокович (1904) описал клиренс микробов клетками синусоидов печени и селезёнки, эндотелием капилляров костного мозга и других органов. Он же высказал подтвердившуюся впоследствии мысль о том, что паразитирующие внутри клеток микроорганизмы вызывают очаги инфекционного воспаления [2]. Л. Ашофф (1924) предложил все эти клетки объединить в одну систему [15–16]. Согласно современным представлениям, подобного рода объединение в единую функциональную систему не имело достаточных оснований. Это связано с тем, что под функциональной системой теперь понимают сложный уровень организации, включающий свои центры и периферию, каналы прямой и обратной связи, механизмы гомеостатического саморегулирования. Все эти признаки присущи системе мононуклеарных фагоцитов, но не РЭС. Тем не менее концепция о РЭС оказалась весьма жизнеспособной, основные её положения пустили глубокие корни в современной экспериментальной и клинической медицине [2]. Концепция о РЭС позволила объяснять терапевтическую эффективность многих препаратов и общестимулирующих воздействий, дала толчок множеству работ, в которых выяснялись клеточные основы иммунитета. Данная концепция открывала возможность по-новому оценить природу защитных сил организма, которые в РЭС обрели надёжную материальную основу.

Исходно в состав РЭС включали ретикулярные и эндотелиальные клетки селезёнки и костного мозга, купферовские клетки печени, ретикулярные и эндотелиальные клетки лимфатических узлов, эндотелий капилляров коры надпочечников и фиксированные гистиоциты подкожной клетчатки. Свободные моноциты и полибласты, по А.А. Максимову (1925), так же, как лимфоциты-полинуклеары, к РЭС не относили. В дальнейшем представления о РЭС ещё более усложнились, что выразилось в концепции о лимфоидно-макрофагальной системе. В эту систему включали все клетки, не только те, которые фагоцитировали микробы, но и

те, что останавливали их продвижение по внутренней среде организма [2].

Бурное развитие учения об антителах и закономерностях их взаимодействия с антигенами на долгие годы после смерти Мечникова отвлекло интересы учёных от фагоцитарной теории и её роли в понимании процессов иммунитета.

В 1950–1960-х годах представления о соединительной ткани начали сменять иммунологические концепции, всё чаще стали говорить о «системе иммунологического гомеостаза» [17]. В 1970–1980-х годах доминировало более узкое представление об иммунитете как о совокупности механизмов, носителем которых является лимфоидная система позвоночных [18]. Механизмы «естественного иммунитета» в рамках этой парадигмы относились к доиммунным (неспецифическим) механизмам противoinфекционной резистентности [19–20]. В конце концов лимфоциты, обеспечивающие специфические иммунные реакции, заняли привилегированное положение, а все прочие фагоцитирующие клетки соединительной ткани и крови – вспомогательное.

В 1990-е годы полученные новые экспериментальные данные и клинические наблюдения привели к возрождению концепции врождённого иммунитета уже на качественно новом уровне обобщений и построений. Постепенно в науке накапливались данные, указывающие на то, что фагоцитирующие клетки не только облегчают лимфоцитам осуществление специфического иммунитета, но и сами участвуют в развитии ряда реакций.

Таким образом, учение Мечникова о фагоцитозе по-прежнему занимает весомое место среди теорий иммунитета. Новое поколение иммунологов ещё долго будет обращаться к классическим работам И.И. Мечникова для получения вдохновения и стимула к изучению различных аспектов сложной, но интереснейшей науки о механизмах поддержания структурно-функционального гомеостаза в многоклеточных организмах [21]. Наследие Мечникова с годами стало не просто достоянием истории, оно продолжает жить в современной науке.

### Литература

1. Сагакянц А.Б. Некоторые аспекты исторического становления теории фагоцитоза / А.Б. Сагакянц, Р.М. Хитов // Иммунология. – 2008. – № 4. – С. 196–200.
2. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск, 1983. – 256 с.
3. Мечников И.И. Вопросы иммунитета / И.И. Мечников: Избр. тр. – М., 1951. – 522 с.

4. Зильбер Л.А. Фагоцитарная теория И.И. Мечникова / Л.А. Зильбер. – М., 1951. – 673 с.
5. Залкинд С.Я. Илья Ильич Мечников / С.Я. Залкинд. – М., 1957. – 159 с.
6. Гайсинович А.Е. 100 лет фагоцитарной теории И.И. Мечникова / А.Е. Гайсинович // Природа. – 1983. – № 8. – С. 20–26.
7. Мечникова О.Н. Жизнь Ильи Ильича Мечникова / О.Н. Мечникова. – М., 1926. – 232 с.
8. Резник С.Е. Мечников / С.Е. Резник. – М., 1973. – 365 с.
9. Мечников И.И. Очерк современного состояния вопроса о воспалении / И.И. Мечников. – М., 1946. – 197 с.
10. Мечников И.И. Страницы воспоминаний / И.И. Мечников. – М., 1946. – 279 с.
11. Мечников И.И. Избр. произведения / И.И. Мечников. – М., 1956. – 797 с.
12. Мечников И.И. Акад. собр. соч. Т. 7. – М., 1952. – 564 с.
13. Мечников И.И. Невосприимчивость в инфекционных болезнях / И.И. Мечников. – СПб., 1903. – 666 с.
14. Максимов А.А. Основы гистологии / А.А. Максимов. – М., 1925. – 215 с.
15. Карр Я. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции / Я. Карр. – М., 1978. – 189 с.
16. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете / В.Н. Кокряков. – СПб., 2006. – 264 с.
17. Бернет Ф.М. Клеточная иммунология / Ф.М. Бернет. – М., 1971. – 542 с.
18. Петров Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М., 1982. – 386 с.
19. Ульянкина Т.И. Зарождение иммунологии / Т.И. Ульянкина. – М., 1994. – 319 с.
20. Ульянкина Т.И. Зарождение иммунологии: автореф. дис. ... докт. биол. наук / Т.И. Ульянкина. – М., 1997. – 60 с.
21. Волянский Ю.Л. Развитие идей И.И. Мечникова в современном естествознании / Ю.Л. Волянский, Р.М. Хайтов, В.И. Мальцев // Здоров'я України. Мед. газета України. – 2005 – № 10 (199). – С. 60–61.

*М.О. Іваненко, О.М. Клімова*

#### ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ ТЕОРІЇ ФАГОЦИТОЗУ

Розглянуто історичні аспекти вивчення фагоцитуючих клітин і становлення теорії фагоцитозу. Висвітлено внесок І.І. Мечнікова у створення і розвиток клітинної теорії імунітету.

*Ключові слова:* клітинний імунітет, фагоцитоз, фагоцити.

*М.О. Іваненко, Е.М. Клімова*

#### HISTORY OF PHAGOCYTOSES THEORY FORMATION

Historical aspects of phagocytic cells studying and phagocytosis theory formation are considered. Mечников's contribution to creation and development of the cellular theory of immunity is shined.

*Key words:* cell immunity, phagocytosis, phagocytes.

*Поступила 02.07.10*

## Авторам журнала

## Требования к оформлению статей

1. Журнал принимает к публикации оригинальные и обзорные статьи по различным проблемам клинической и экспериментальной медицины.

2. Объем оригинальной статьи — не менее 5 и до 12 страниц текста, обзорных — до 15 страниц.

3. Статья подается в редакцию в двух распечатанных экземплярах и на диске в виде текстового файла.

4. Текстовый файл на диске должен иметь формат редактора Word или .rtf. Имя файла (латинскими буквами) должно соответствовать фамилии первого автора. Весь материал статьи должен содержаться в одном файле.

5. Текст статьи должен быть распечатан шрифтом Times New Roman (или другим), кегль 14, межстрочный интервал — полуторный. Одна страница распечатанного текста должна вмещать 60–65 знаков в строке, 28–30 строк на странице.

6. Рукопись подписывается всеми авторами.

7. На титульном листе работы должна находиться отметка руководителя учреждения, в котором выполнена работа, о разрешении на публикацию (заверяется печатью). К статье прилагается официальное направление от руководителя учреждения.

8. Оригинальные статьи пишутся по следующей схеме:

УДК

Название статьи

Авторы (И.О. Фамилия)

Университет (институт, академия)

Вступление (заголовком не выделяется)

Материал и методы исследований

Результаты исследований

Обсуждение результатов исследований

Выводы

Перспективность исследования

Список литературы — не менее 7 источников (в порядке упоминания в тексте; если авторов более четырех — указываются три фамилии, а потом «и др.», если четыре — то все четыре фамилии; обязательно дается название журнальной статьи)

Резюме с названием и фамилией автора, а также ключевые слова обязательно на **трех** языках — украинском, русском, английском.

9. Статья может быть написана на украинском или русском языке.

10. Текст статьи может быть иллюстрирован таблицами, графиками, схемами, диаграммами любой степени сложности, фотографиями микропрепаратов. Таблицы должны иметь вертикальную ориентацию и создаваться с помощью мастера таблиц (опция «Таблица — вставить таблицу» редактора Word), заголовок и номер (если их не менее двух). Формулы создаются с помощью редактора формул MS Equation, графики и диаграммы — с помощью MS Graph, MS Excel). Фотографии и другие растровые изображения представлять в оригинале и/или отдельными файлами TIFF, Photoshop EPS с разрешением не менее 300 dpi.

11. Текст статьи и все относящиеся к статье материалы должны быть тщательно выверены; цитаты, таблицы, иллюстрации, формулы, сведения о дозировках должны быть завизированы авторами на полях.

12. Дополнительно авторам необходимо сообщить о себе следующие сведения: фамилию, имя, отчество, место работы, должность, научную степень, ученое звание, тему выполненной (выполняемой) научной работы, домашний адрес и контактные телефоны, e-mail (распечатываются на отдельном листе и вносятся в файл).

Все статьи, представленные в редакцию, проходят рецензирование и редактирование. Редакция оставляет за собой право сокращать и корректировать текст статьи в части, не затрагивающей содержания работы. При необходимости статья может быть возвращена авторам для доработки или ответов на возникшие вопросы.

Журнал не принимает материалы, ранее опубликованные или поданные для публикации в другие печатные издания.

Адрес редакции: Украина, 61022, г. Харьков, пр. Ленина, 4, ХНМУ, учебно-лабораторный корпус, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, к. 48.

Тел.: (057) 707-73-00.

e-mail: [ekm.kharkiv@mail.ru](mailto:ekm.kharkiv@mail.ru)