



№ 4 (37), 2011 г.

ВЕСТНИК УРАЛЬСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИЧЕСКОЙ НАУКИ

Главный редактор:

В.А. Черешнев, академик РАН и РАМН (г. Екатеринбург)

Заместители главного редактора:

В.Г. Климин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); С.М. Кутепов, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
Б.Г. Юшков, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

Ответственный секретарь:

С.Л. Леонтьев, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

Редакционная коллегия:

Н.А. Агаджанян, академик РАМН (г. Москва); Ф.И. Бадаев, д.м.н. (г. Екатеринбург);
А.Б. Блохин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); В.Н. Большаков, академик РАН (г. Екатеринбург);
О.В. Бухарин, член-корреспондент РАН, академик РАМН (г. Оренбург);
А.М. Дыгай, академик РАМН (г. Томск); В.Н. Журавлев, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
Н.В. Зайцева, член-корреспондент РАМН (г. Пермь); Ю.М. Захаров, академик РАМН (г. Челябинск);
О.П. Ковтун, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); М.И. Прудков, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
И.М. Рощевская, д.б.н., профессор (г. Сыктывкар); К.В. Судаков, академик РАМН (г. Москва);
Р.М. Хаитов, академик РАМН (г. Москва); М.В. Черешнева, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
В.И. Шевцов, член-корреспондент РАМН (г. Курган);
А.П. Ястребов, член-корреспондент РАМН (г. Екатеринбург)

Редакционный совет:

Я.Б. Бейкин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); А.А. Белкин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
С.А. Берзин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Ф.Х. Камилов, д.м.н., профессор (г. Уфа);
Б.А. Кацнельсон, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Л.А. Ковальчук, д.б.н. (г. Екатеринбург);
С.А. Коротких, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); А.И. Кузьмин, к.м.н., доцент (г. Екатеринбург);
С.В. Кузьмин, д.м.н. (г. Екатеринбург); Л.П. Ларионов, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
Г.И. Ронь, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

Содержание

Общественное здоровье и организация здравоохранения

- Бадаев Ф.И., Яблонская Л.Я., Попова О.Е. Состояние и тенденции изменения заболеваемости болезнями глаз и инвалидности вследствие них в Свердловской области..... 6
- Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Результаты работы референс-лаборатории по HER2 neu тестированию карциномы молочной железы в УРФО в 2011 г..... 7
- Хулап О.Л. Влияние личной эффективности руководителя на результативность деятельности медицинской организации 11

Клинический опыт

- Алашеев А.М., Белкин А.А., Лейдерман И.Н., Рогов Д.Ю., Исакова Т.М., Фечина Л.Г., Иванов Р.А., Леонтьев С.Л. Динамика клинической картины, лабораторных показателей и объема очага ишемии после однократного подкожного введения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора больным с острым ишемическим инсультом.....14
- Альтман Н.С., Ковтун О.П., Чередниченко А.М. Оценка эффективности комбинированной терапии у детей с эрозивно – язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта с применением физиопунктуры.....17
- Баженова Ю.Л., Захарова С.Ю. Эффективность лечения кардиоваскулярных нарушений у детей с бронхиальной астмой 20
- Бессонова Е. Н., Корнилова И. А. Анализ структуры категории больных с терминальной стадией хронического заболевания печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени 24
- Вандышева М.А., Яровинский Б.Г. Исследование цитокинов крови больных экземой при лечении низкими дозами метотрексата 27
- Галимзянов Ф.В., Прудков М.И., Богомягкова Т.М., Лазарева М.А. Результаты хирургического лечения больных третичным перитонитом с тяжелым абдоминальным сепсисом..... 29
- Галимзянов Ф.В., Прудков М.И., Шаповалова О.П. Инфи-

Public health and the public health services organisation

- Badaev F.I., Yablonskaya L.Ya., Popova O.E. State and tendency of disease changes and disability as their result in Sverdlovsk region. State institution of health service6
- Sazonov S.V., Leontiev S.L., Brilliant A.A. Results of reference-laboratory work on HER2 neu-testing of breast carcinoma in URFR for 2010.....7
- Khoulap O.L. The leader's personal efficiency influence on the working efficiency of medical organization.....11

Clinical experience

- Alashev A.M., Belkin A.A., Leiderman I.N., Rogov D.Yu., Isakova T.M., Fechina L.G., Ivanov R.A., Leont'ev S.L. Clinical dynamics, laboratory results and infarct volume after single subcutaneous granulocyte colony-stimulating factor injection in patients with acute ischemic stroke..... 14
- Altman N.S., Kovtun O.P., Cherednichenko A.M. Physiopuncture and its efficacy in the treatment of children with erosive ulcer damage of the upper gastrointestinal chambers 17
- Bazhenova J. I. Zakharova S.J Effectiveness treatment of the cardiovascular system of children with bronchial asthma20
- Bessonova E. N., Kornilova I. A. Analysis of the structure of potential liver transplant recipients category with end stage liver disease24
- Vandysheva M.A., Yarovinsky B.G. The study of cytokines in the serum in patients with eczema at treatment by methotrexate 27
- Galimzyanov F.V., Proudkov M.I., Bogomyagkova T.M., Lazareva M.A. Surgical treatment of patients with tertiary peritonitis complicated with grave abdominal sepsis..... 29
- Galimzyanov F.V., Prudkov M.I., Shapovalova O.P. The infected pancreatic infiltrate, pancreatic abscess and phlegmona diagnostic and treatment.....34
- Gerasimenko E.N., Katireva Y.E., Meshchaninov V.N., Gavrilov I.V. Estimation of efficiency and safety of the ozonotherapy in antiaging for patients 38
- Cacula E.N., Popov O.A., Girsh A.O. Women's in childbirth by op-

цированный панкреатогенный инфильтрат, панкреатогенный абсцесс и панкреатогенная флегмона, диагностика и лечение	34
<i>Герасименко Е.Н., Катыева Ю.Е., Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В.</i> Оценка эффективности и безопасности озонотерапии в геропрфилактике у пациентов.....	38
<i>Какуля Е.Н., Попов О.А., Гириш А.О.</i> Электролитный баланс у пациенток после операции кесарева сечения при проведении различных вариантов инфузионной терапии	41
<i>Кирилловских О.Н., Мякотных В.С., Боровкова Т.А., Мякотных К.В.</i> Постинсультная эпилепсия у пожилых: факторы риска, клиника, нейрофизиология, возможности фармакотерапии.....	44
<i>Корелина А.А., Мякотных В.С., Боровкова Т.А.</i> Возможности восстановительного лечения больных рассеянным склерозом и значение показателей перекисного окисления липидов в контроле эффективности и безопасности реабилитационных мероприятий	48
<i>Мальков О.А., Хорова Е.Ю., Куракин В.И., Гириш А.О.</i> Влияние сахарного диабета 2 типа на основные показатели центральной гемодинамики, кислородного и нутритивного статуса у больных с колоректальным раком до операции и в раннем послеоперационном периоде	53
<i>Маркова Л.И., Хаманджак С.В., Радзевич А.Э.</i> Клиническая эффективность сочетанного применения моксонидина и гидрохлортиазида у больных гипертонической болезнью ...	56
<i>Плюснина Н.Н., Захарова С.Ю., Павличенко М.В.</i> Анализ состояния здоровья детей раннего возраста, рождённых с задержкой внутриутробного роста плода	59
<i>Пулатов А.Р., Минеев В.В.</i> Ранняя диагностика в лечении юношеского эпифизеолиза головки бедренной кости	63
<i>Томилов А.Б., Кузнецова Н.Л.</i> Особенности переломов позвоночника у лиц пожилого и старческого возраста.....	65
<i>Фокин А.А., Борсук Д.А.</i> Влияние сахарного диабета 2 типа на отдаленные исходы операций на сонных артериях ..	68
<i>Фокин А.А., Каранizada А.Н.</i> Ранняя каротидная реконструкция у больных с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ сканировании.....	71

Общая патология и патологическая физиология

Берзин С.А., Замятин А.В., Бызов И.В., Уймин М.А., Ермаков А.Е., Юшков Б.Г., Медведева С.Ю., Тюменцева Н.В. Фар-

eration of cesarean section electrolyte balance after carrying out of different variants of infusion therapy.....	41
<i>Kirillovskykh O.N., Myakotnykh V.S., Borovkova T.A., Myakotnykh K.V.</i> Post-stroke epilepsy older: risk factors, clinic, neurophysiology, opportunities pharmacotherapy	44
<i>Korelina A.A., Myakotnykh V.S., Borovkova T.A.</i> Possibilities of rehabilitation treatment of patients with multiple sclerosis and value of peroxide oxidation of lipids in monitoring the effectiveness and safety of rehabilitation measures	48
<i>Malkov O.A., Horova E.U., Kurakin V.I., Girsh A.O.</i> Influence of the diabetes 2 types on the basic indicators of the central hemodynamic, oxygen and nutritional the status at patients with the colorectal cancer before operation and in the early postoperative period	53
<i>Markova L.I., Hamandjak S.V., Radzevich A.E.</i> Clinical efficiency of joint application moxonidine and hydrochlorthiazidum at sick of the idiopathic hypertension	56
<i>Plusnina N.N., Zaharova S.U., Pavlichenko M.V.</i> The health status children 3 years old, born with the intrauterine growth retardation	59
<i>Pulatov A.R., Mineev V.V.</i> Early diagnosis in treatment slipped capital femoral epiphysis	63
<i>Tomilov A.B., Kuznetsova N.L.</i> Features of vertebral fractures in elderly and senile	65
<i>Fokin A.A., Borsuk D.A.</i> The influence of type 2 diabetes mellitus on the distant results of operations on carotid arteries	68
<i>Fokin A.A., Karanizade A.N.</i> Early carotid reconstruction in patients with a visible infarction on brain computed tomography scan.....	71

The general pathology and pathological physiology

<i>Berzin S.A., Zamyatin A.V., Byzov I.V., Uimin M.A., Yermakov A.Ye., Yushkov B.G., Medvedeva S.Yu., Tyumentseva N.V.</i> Pharmacokinetics of iron nanoparticles composites with anticancer chemotherapeutic agents used for instillation into the bladder of laboratory animals	76
<i>Grebnev D.J., Jastrebov A.P., Maklakova I.J.</i> The possibility to correct tissue regeneration after ionizing radiation.....	80
<i>Meshchaninov V.N., Gavrilov I.V., Balueva M.V., Valieva I.R., Molostova O.O.</i> Search for specific biochemical predictors of aging of highly specialized human cells in patients with multiple organ pathology	82

макокинетика композитов противоопухолевых химиопрепаратов с наночастицами железа, инстиллируемых в мочевой пузырь лабораторных животных	76
<i>Гребнев Д.Ю., Ястребов А.П., Маклакова И.Ю.</i> О возможности коррекции регенерации миелоидной ткани после воздействия ионизирующего излучения и введения аргинина.....	80
<i>Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В., Балуева М.В., Валиева И.Р., Молостова О.О.</i> Поиск специфических биохимических лабораторно-диагностических предикторов старения высокоспециализированных клеток органов пациентов с полиорганной патологией	82
<i>Павлова В. И., Мамылина Н. В., Шахов В. П.</i> Динамика изменений со стороны эритропоэтических островков костного мозга при эмоционально - болевом стрессе.....	85
<i>Порядина И. А., Шардин С. А.</i> Особенности метаболических изменений у мужчин при соматической патологии и первичном бесплодии	89
<i>Соколова Л.А., Валамина И.Е., Крохина Н.Б., Хрюстов А.А.</i> Морфологические варианты поражения почек у больных ревматоидным артритом.....	92
<i>Сашенков С. Л., Журило О. В., Зурочка А. В., Шевцов А. В., Черешнев В. А.</i> Сравнительная характеристика показателей периферического отдела эритрона у спортсменов различных специализаций	94
<i>Сарайкин Д.А., Терзи М.С.</i> Роль цитокинов при адаптации подростков к физической нагрузке в тхэквондо.....	97
<i>Черешнев В.А., Голясная Н.В., Черешнева М.В., Жижин Н.К.</i> Опухолевые клетки – тест-объект экспериментального определения эффективности противоопухолевой терапии колоректального рака	99
<i>Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю. Маклакова И.Ю.</i> Коррекция регенерации миелоидной ткани после острой кровопотери у старых экспериментальных животных	103

Методики

<i>Крушинин М.В.</i> Оптимизация регионарной анестезии в амбулаторной хирургии катаракты.....	106
<i>Цаур Г.А., Друц А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С., Яковлева Ю.А., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.</i> Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями ...	107

<i>Pavlova V.I., Mamylyna N.V., Shahov V.P.</i> Dynamics of changes erythroblast islets of bone marrow at the emotionally-painful stress.....	85
<i>Poryadina I. A., Shardin A.</i> Peculiarities of the metabolic changes in men with somatic pathology and primary infertility.....	89
<i>Sokolova L.A. , Valamina I.E., Krokhina N.B., Khryustov A.A.</i> Morphological variants of renal lesion in patients with rheumatoid arthritis	92
<i>Sashenkov S. L., Zhurilo O. V., Zurochka A. V., Shevtsov A. V., Chereshnev V.A</i> the comparative characteristic of erythron peripheral portion of the athletes of various specializations.....	94
<i>Saraykin D.A., Terzi M.S.</i> Role of cytokines in adaptation of teenagers to physical activity in taekwondo	97
<i>Chereshnev V.A., Golyasnaya N.V., Chereshneva M.A., Zhizgin N.K.</i> Tumor cells – test-object for empirical evaluation of the effectiveness of anticancer therapy of colorectal cancer	99
<i>Yastrebov A. P., Grebnev D. Ju., Maklakova I. Ju.</i> Correction of myeloid tissue regeneration after acute blood loss in old experimental animals.....	103

Technique

<i>Krushinin M. V.</i> Optimization of regional anesthesia In ambulatory surgery of cataract.....	106
<i>Tsaur G.A., Друц А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С., Яковлева Ю.А., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.</i> Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in patients with oncological disorders.....	107

Immunology, microbiology, genetics

<i>Altynbaeva E.I.</i> Comparative analysis of cytokines in saliva and blood at the early phases of stable chronic obstructive pulmonary disease	112
<i>Gizinger O.A., Letyaeva O.I., Dolgushin I.I., Ziganshina T.A., Ziganshin O.R.</i> Expression on the surface receptors apoptosis CD-95 (Fas/APO-1) on the of neutrophile granulocytes of the cervical secretion women with Mycoplasma genitalium	115
<i>Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Suntsov V.G.</i> Special features of the dynamics of microbiocenosis of the dental platelet of children with the correction by the preparation 0,1% chlorgeksidina	

Иммунология, микробиология, генетика

Алтынбаева Е.И. Роль цитокинов в развитии очагового и системного воспаления на ранних стадиях стабильной хронической обструктивной болезни легких 112

Гизингер О.А., Летяева О.И., Долгушин И.И., Зиганшина Т.А., Зиганшин О.Р. Экспрессия поверхностных рецепторов апоптоза CD-95(Fas/APO-1) на нейтрофилах цервикального секрета женщин с *Mycoplasma genitalium*..... 115

Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Сунцов В.Г. Особенности динамики микробиоценоза зубной бляшки детей при коррекции препаратом 0,1% хлоргексидина биглюконатом в процессе ортодонтического лечения зубочелюстных аномалий 118

Фармакология и токсикология

Чернышева Н.Д., Назукин А.С., Хонина Т.Г., Тосова И.Н. Оценка безопасности и переносимости препарата «Сила-тивит» при применении у добровольцев..... 121

Яцынюк Б.Б. Влияние токсических доз пропранолола на показатели сократимости изолированного сердца в условиях гипоксии и гиперкальциевой пробы..... 124

Научные обзоры и лекции

Байкова Э.Р., Фазлыев М.М. Патогенетическая связь между язвенной болезнью желудка, ассоциированной с *Helicobacter pylori*, и атрофией, дисплазией, раком желудка..... 127

Ковтун О.П., Баранов Д.А., Кузнецов Н.Н., Плаксина А.Н. Тромботические и нетромботические эффекты тромбофилии: актуальные аспекты педиатрической практики..... 131

Соломенный А.П. Интегроны: значимые структуры лекарственной устойчивости микроорганизмов (обзор)..... 136

by bigluconate in the process of the orthodontic treatment of the maxillo dental anomalies 118

Pharmacology and toxicology

Chernysheva N.D., Nazukin A.S., Khonina T.G., Tosova I.N. Evaluation of the safety and tolerability of the drug «Silativit» in testing on volunteers..... 121

Yatsinyuk B.B. Influence of toxic propranolol doses on indicators of contraction of the isolated heart in conditions of hypoxia and hypercalcium test 124

Scientific reviews and lectures

Baykova E.R., Faslyev M.M. Pathogenetic relationship between ulcer of gastric disease associated with *Helicobacter pylori* and atrophy, dysplasia, stomach cancer (Review of literature).... 127

Kovtun O.P., Baranov D.A., Kuznetsov N.N., Plaxina A.N. Thrombotic and nonthrombotic effects of the thrombophilia: the actual pediatric aspects..... 131

Solomenniy A.P. Integrins: important structures of microbial drug resistance (review)..... 136

Адрес редакции: 620014, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 12-А, оф. 917. Тел./факс (343) 310-03-06.

Эл. почта vestnik-ural@mail.ru, vestnik-ural@yandex.ru, www.elibrary.ru

Издатель: Автономная некоммерческая организация «Редакция журнала «Вестник уральской медицинской академической науки»

Свидетельство о регистрации ПИ №ФС77-46390 от 01 сентября 2011г.

Сдано в набор 15.03.11. Подписано в печать 22.03.11. Формат 60x84 1/8.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 10,3. Уч.-изд. л. 11. Тираж 500 экз.

Типография «Артикул», г. Екатеринбург, ул. Декабристов, 20, тел. (343) 251-61-75.

Все права защищены.

Перепечатка материалов и использование их в любой форме, в том числе и в электронных СМИ, возможны только с разрешения редакции.

Бадаев Ф.И., Яблонская Д.Я., Попова О.Е.

СОСТОЯНИЕ И ТЕНДЕНЦИИ ИЗМЕНЕНИЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ БОЛЕЗНЯМИ ГЛАЗ И ИНВАЛИДНОСТИ ВСЛЕДСТВИЕ НИХ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В статье приведены данные, характеризующие состояние, динамику изменений и структуру заболеваемости болезнями глаз взрослого населения Свердловской области. Установлено, что эпидемиологическая ситуация в регионе имеет тенденцию к ухудшению, главным образом за счет значительного увеличения наиболее социально значимой патологии: катаракты, глаукомы, миопической болезни. Уровень инвалидности вследствие болезней органов зрения сохраняется в течение последнего десятилетия стабильным – 2,1-3,1 на 10000 человек. Основной причиной стойкой утраты трудоспособности является глаукома.

Ключевые слова: болезни глаз, заболеваемость, инвалидность.

Болезни глаз являются одной из острых проблем общественного здоровья, поскольку часто приводят к ухудшению и полной потере зрения. По данным ООН, в мире, по состоянию на 2005 год, насчитывается 45 млн. слепых людей и, согласно прогнозам, к 2020 году число их может удвоиться. Неблагоприятная эпидемиологическая ситуация стала основанием для принятия Всемирной организацией здравоохранения программы «Ликвидация устранимой слепоты в мире: зрение 2020» [4].

В Российской Федерации у более 3 млн. человек отмечены заболевания глаз и его придаточного аппарата, а наиболее социально значимыми среди них являются миопическая болезнь, катаракта, глаукома и травмы [2]. Эти болезни наиболее часто служат причиной слабослышания и слепоты и, тем самым, стойкой утраты трудоспособности. Согласно официальной статистике около 45 тысяч жителей страны являются инвалидами по зрению [3].

Несмотря на важность данной проблемы, в России исследования распространенности болезней глаз и их последствий остаются редкими и ограниченными по масштабу [1], что послужило основанием для проведения соответствующего анализа на территории Свердловской области.

Из материалов, приведенных в таблице 1, видно, что за период с 2000 по 2009гг. уровень общей заболеваемости болезнями глаз и его придаточного аппарата среди взрослого населения (18 лет и старше) в Свердловской области увеличился на 23,6% с 7570,0 до 9360,0 на 100000 человек. В свою очередь, в Российской Федерации величина этого показателя за это десятилетие возросла на 17,9%, с 9370,0 до 11050,3 на 100000 человек. Обращает на себя внимание тот факт, что весь период наблюдения общая заболеваемость болезнями глаз в регионе была стабильно статистически значимо ниже, чем в среднем по России.

В то же время динамика изменения первичной заболеваемости взрослого населения этой группой болезней была иной: за аналогичный временной интервал в Свердловской области она осталась практически неизменной (снижение на 0,8%), а в Российской Федерации немного увеличилась (на 4,9%), тем не менее, и в этом случае величина данного показателя была в регионе статистически значимо ниже, чем по стране в целом.

Как уже отмечалось выше, среди болезней органа зрения наибольшее социальное значение имеют миопия, глаукома и катаракта. Согласно приведенным в таблице 2 данным, в Свердловской области за 2000-2009гг. произошел рост общей заболеваемости всех этих видов офтальмологической патологии: глаукомы – на 30,8%, катаракты – на 60,8%, миопии – на 19,7%. В отличие от первичной заболеваемости всеми видами болезней глаз, в последнее десятилетие в регионе отмечена тенденция к росту этого показателя применительно к трем вышеназванным нозологическим формам: на 36,0, 27,7 и 43,2% соответственно.

Представляло интерес сравнить уровни заболеваемости данными видами офтальмологических болезней в Свердловской области и по России в целом. Как видно из данных, содержащихся в таблице 3, в 2009г. общая и первичная заболеваемость глаукомой, катарактой и первичная заболеваемость миопией были по области статистически значимо более высокими, чем в среднем по стране, и лишь уровень общей заболеваемости миопией был ниже общероссийского. Сравнивая эти материалы с содержащимися в таблице

1, можно констатировать, что структура патологии органа зрения, встречающаяся среди населения Свердловской области, отличается от таковой по Российской Федерации в целом. Прямое исследование подтвердило это предположение. Так, по состоянию на 2009г. доля глаукомы среди всех случаев болезней глаз составляла по Свердловской области 10,6%, катаракты – 23,9%, миопии 16,3%, а по России – 8,2, 18,9 и 15,1% соответственно. Аналогичная ситуация наблюдается и в отношении первичной заболеваемости: в 2009г. удельный вес глаукомы среди взрослого населения области был равен 3,8%, катаракты – 15,3%, миопии – 10,1%, тогда как в среднем по Российской Федерации его величина составляла 3,5, 11,0 и 6,9%.

Отмеченный рост заболеваемости наиболее социально значимыми видами болезней глаз в Свердловской области привел к изменению ее структуры. Так, доля глаукомы за период с 2000 по 2009гг. увеличилась с 10,3 до 10,6%, катаракты – с 18,9 до 23,9%, а миопии, наоборот, уменьшилась с 17,3 до 16,3%. Схожие тенденции наблюдаются и в изменении структуры первичной заболеваемости: удельный вес глаукомы вырос с 3,0 до 3,5%, катаракты – с 12,9 до 15,3%, а миопии – с 7,6 до 10,1%. Таким образом, за первое десятилетие XXI

Таблица 1.

Тенденции изменения общей и первичной заболеваемости болезнями глаза и его придаточного аппарата у взрослого населения Свердловской области и Российской Федерации, 2000–2009 гг. (на 100000 человек)

Территория	2000 г.	2005 г.	2009 г.	Рост (снижение) за 2000–2009 гг. (%)
Общая заболеваемость				
Свердловская область	7570,0*	8960,0*	9360,0*	+23,6
Россия	9370,0	10413,6	11050,3	+17,9
Первичная заболеваемость				
Свердловская область	2640,0*	2860,0*	2620,0*	-0,8
Россия	3210,0	3365,9	3366,8	+4,9

Примечание: *) – статистически значимые различия по критерию Стьюдента

Таблица 2.

Тенденции изменения общей и первичной заболеваемости наиболее социально значимыми видами болезней глаз взрослого населения Свердловской области, 2000–2009 гг. (на 100000 человек)

Нозологическая форма	2000 г.	2005 г.	2009 г.	Рост (снижение) за 2000–2009 гг. (%)
Общая заболеваемость				
Глаукома	780,0	1050,1	1020,0	30,8
Катаракта	1430,0	2376,7	2299,4	60,8
Миопия	1310,0	1421,0	1568,2	19,7
Первичная заболеваемость				
Глаукома	80,0	127,8	108,8	36,0
Катаракта	340,0	531,4	434,3	27,7
Миопия	200,0	212,7	286,3	43,2

Таблица 3.

Общая и первичная заболеваемость наиболее социально значимыми видами болезней глаз взрослого населения Свердловской области и Российской Федерации, 2009 г. (на 100000 человек)

Нозологическая форма	Общая заболеваемость		Первичная заболеваемость	
	Свердловская область	РФ	Свердловская область	РФ
Глаукома	1020,0*	906,4	108,8*	104,3
Катаракта	2299,4*	2089,7	434,3*	320,3
Миопия	1568,2*	1674,0	286,3*	201,2

Примечание: *) – статистически значимые различия по критерию Стьюдента

века структура заболеваемости болезнями органа зрения в Свердловской области изменилась в сторону увеличения болезней, часто приводящих к слабозрению и слепоте.

В период с 2000 по 2009гг. уровень инвалидности вследствие болезней глаз в регионе оставался достаточно стабильным – 2,1–3,1 на 10000 человек, что ниже, чем в Российской Федерации – 2,5 – 4,7 на 10000. Анализ структуры причин стойкой утраты трудоспособности показал, что все последнее десятилетие первое ранговое место занимала глаукома: в 2000г. среди причин первичной инвалидности на ее долю приходилось 36,2%, а в 2009г. – 40,9%. На втором и третьем местах находятся такие виды болезней глаз, как дегенерация сетчатки глаза и миопическая болезнь, удельный вес которых составлял в 2000г. 13,8 и 14,2%, а в 2009 г. – 22,7 и 13,6%. Аналогичная структура причин инвалидности вследствие болезней глаз наблюдается и в целом по России. Первые ранговые места занимают: глаукома, заболевания сетчатки и зрительного нерва, миопическая болезнь.

Большинство инвалидов по зрению имеют II и I группы – в 2009г. их доля составляла 38,3% и 21,1% соответственно, что же касается возрастной структуры, то основная их часть (73%) приходится на лиц старше 60 лет.

Резюмируя изложенное, можно констатировать, что в течение первого десятилетия XXI века в Свердловской области сложилась устойчивая тенденция к увеличению заболеваемости болезнями глаз, по темпу опережающая таковую по России в целом. Наиболее интенсивно происходит рост как общей, так и первичной заболеваемости такими социально значимыми болезнями как катаракта, миопия и глаукома, при этом последняя из них служит ведущей причиной инвалидности среди патологий органа зрения как в Свердловской области, так и в целом по стране.

Литература

1. Либман Е.С. Современные позиции клинико-социальной офтальмологии // Вестник офтальмологии. - 2004. - №1. - С10-12.
2. Материалы сайта www.mednet.ru ФГУ «ЦНИИОИЗ Минздрава-соцразвития РФ»
3. Материалы сайта www.fbmse.msk.ru Федеральное бюро медико-социальной экспертизы.
4. United Nations development of statistics for monitoring the imple-

mentation of World Programme of action concerning disabled persons, 1983-1992, and illustrative statistics and information on sources from the United Nations Disability Data Base. - New York. - Department of International Economic and Social Affairs. - Statistical office. -1997.

Badaev F.I., Yablonskaya L.Ya., Popova O.E. **STATE AND TENDENCY OF DISEASE CHANGES AND DISABILITY AS THEIR RESULT IN SVERDLOVSK REGION**

Abstract. The data characterizing the state, dynamics of changing and the structure of eye disease morbidity among adult population in Sverdlovsk region are given in the article. It is established that epidemiological situation in the region tends to get worse mainly because of substantial growth of socially most significant pathology: cataracts, glaucomas, myopias. The level of disablement as a consequence of eye diseases has been stable for the last decade – 2.1 – 3.1 per 10000 people. The main reason for the steady loss of ability to work is glaucoma.

Key words: eye diseases, morbidity, disablement.

Авторская справка

Бадаев Феликс Иосифович, e-mail: office@okb1.ru
Яблонская Лидия Яновна, e-mail: yablonskaya@okb1.ru
Попова Ольга Евгеньевна, e-mail: olga-popova.84@mail.ru
ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург
620102 Россия, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская д. 185

Authors

Badaev Felics I.,
Yablonskaya Lidiya Ya.
Popova Olga E.
Sverdlovsk Regional clinical hospital № 1
620102 Russia, Yekaterinburg, Volgogradskaya str. 185

УДК 616-006.04

Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ РЕФЕРЕНС-ЛАБОРАТОРИИ ПО HER2 NEU ТЕСТИРОВАНИЮ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УРФО В 2011 Г.

ГБУЗ СО Центр оказания специализированных видов медицинской помощи населению «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия; ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава-соцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось определение результатов проводимого в 2010 г. референса (пересмотра) основных молекулярно-биологических характеристик опухолевых клеток карциномы молочной железы для определения показаний к назначению химиотерапии пациентам из разных учреждений здравоохранения УрФО. Обоснована необходимость референс-лаборатории, показаны основные результаты HER2/neu тестирования в основных иммуногистохимических лабораториях УрФО. Обозначены основные проблемы, возникающие в процессе выполнения исследований в иммуногистохимических лабораториях, а также в дальнейшем, при проведении повторного тестирования в референс-лаборатории. Определена роль молекулярно-генетического исследования с применением FISH-метода.

Ключевые слова: карцинома молочной железы, HER2/neu тестирование, иммуногистохимия, FISH-анализ, референс-исследования.

Введение.

Ген Her2/neu, расположенный на длинном плече хромосомы 17 (17q12–q21), кодирует трансмембранный протеин массой 185 кДа с выраженной тирозинкиназной активностью [15]. Белковый продукт гена относится к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR), вовлеченных в активацию сигнальных путей регуляции нормального роста и развития ткани молочной железы (рис.1). Гиперэкспрессия протоонкогена Her2/neu является распространенным генетическим нарушением при раке молочной железы (РМЖ), при использовании иммуногистохимического метода исследования определяется почти у 20% пациентов с РМЖ [4, 6, 12, 19].

Гиперэкспрессия Her2/neu относится к важным прогностическим маркерам и предопределяет более частое рецидивирование, снижение показателя выживаемости у больных с впервые выявленным РМЖ. Данные о статусе рецептора Her2/neu могут помочь принять оптимальное решение при выборе схем адъювантной терапии и прогнозировать эффективность противоопухолевых препаратов. Пациенты с повышенной экспрессией Her2/neu характеризуются худшим ответом на гормональную [5, 18] и цитостатическую терапию, не включающую антрациклиновые антибиотики [11, 14, 21]. В то же время таксаны, наряду с антрациклинами, демонстрируют хорошую эффективность как при первичном, так и метастатическом Her2/neu-позитивном РМЖ [9, 15, 21, 22].

С введением в клиническую практику трастузумаба (Герцептина) - специфического гуманизированного моноклонального антитела против Her2/neu, корректная оценка статуса этого рецептора стала ключевым моментом в принятии решения о тактике лечения пациентки с РМЖ. Так как трастузумаб специфично связывается с белком Her2/neu, оценка этой молекулы предоставляет важнейшую информацию о целесообразности назначения препарата тому или иному пациенту. Обоснованное назначение трастузумаба сопровождается повышением уровня ответа, удлинением интервала до прогрессирования заболевания и улучшением общей выживаемости при лечении пациентов с метастатическим Her2/neu-позитивным раком [20]. Результаты проспективных рандомизированных клинических исследований продемонстрировали, что трастузумаб на половину снижает риск рецидивирования и на треть — смертность больных с РМЖ ранних стадий [8, 14, 17]. В то же время, терапия трастузумабом не

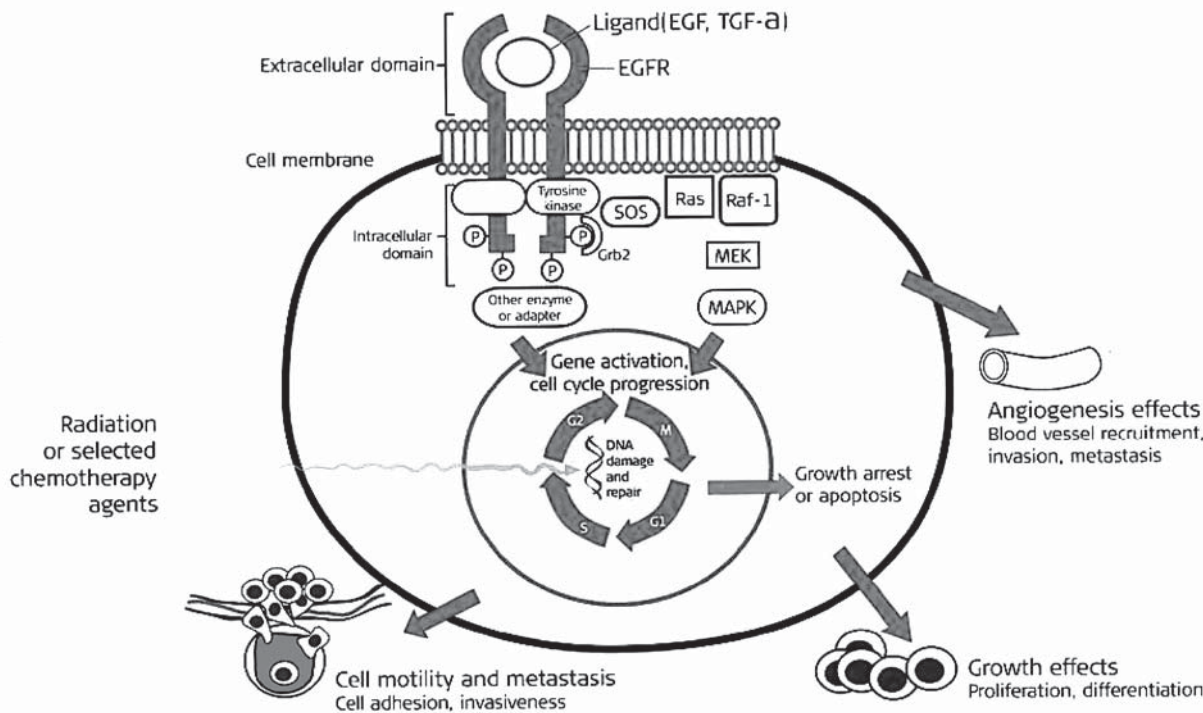


Рис. 1. Механизмы регуляции роста и пролиферации эпителиальных клеток молочной железы и некоторые эффекты при опухолевой трансформации (по [27]).

лишена недостатков. Во-первых, это значительная стоимость препарата при необходимости длительной терапии. Во-вторых, лечение трастузумабом ассоциируется с риском кардиотоксичности. Все вместе взятое, а именно ожидаемая при Her2/neu-позитивном РМЖ высокая эффективность трастузумаба, существенная стоимость и потенциальная кардиотоксичность препарата, требует корректной оценки статуса рецептора Her2/neu. Последнее, определяет необходимость создания системы повторного тестирования наличия гиперэкспрессии HER2/neu, т.е. создание системы пересмотра результатов иммуногистохимических исследований, полученных в первой лаборатории.

Лаборатория пересмотра (референс-лаборатория) создается на базе патоморфологической лаборатории, владеющей двумя методами определения гиперэкспрессии HER2/neu: иммуногистохимическим (метод позволяет определять уровень экспрессии рецептора HER2/neu на поверхности мембран опухолевых клеток) и *fluorescent in situ hybridization* (FISH-молекулярно-генетический метод, позволяющий определять уровень амплификации мутантного гена в ядре опухолевой клетки). Внедрение системы референса вплотную приближает лабораторию, участвующую в ней, к созданию в их работе условий, соответствующих требованиям ISO 15189:2003, ГОСТР ИСО-2006 «Медицинские лаборатории. Специальные требования к качеству и компетентности».

Материалы и методы. Существует целый ряд методов, позволяющих выявлять гиперэкспрессию HER2/neu. Уровень экспрессии белка Her2/neu можно определить с помощью Вестерн-блоттинга, методов иммунного окрашивания *in situ*, в частности иммунофлуоресцентного (FISH) и иммуногистохимии (ИГХ). ИГХ метод нашел широкое применение в связи с тем, что повсеместно используется для оценки экспрессии многих других протеинов и может быть выполнен на срезах парафиновых блоков ткани, фиксированной формалином. Согласно консенсусу американских патологов и управления по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (FDA) [24] система оценки результатов ИГХ-исследования экспрессии Her2/neu включает 4 категории (0, 1+, 2+, 3+); результат является позитивным — 3+, если более 30% клеток инвазивной опухоли демонстрируют равномерное сильное окрашивание мембраны. При несомненных достоинствах ИГХ-метода, а именно легкой воспроизводимости и относительной дешевизне, он имеет и некоторые недостатки. Возможны ложнопозитивные результаты, обусловленные техническим несовершенством метода. Кроме того, гиперэкспрессия протеина может быть и не связанной с амплификацией гена Her2/neu. Возможны и ложноотрицательные результаты теста. В некоторых случаях, после заливки в парафин, ткани РМЖ, характеризующиеся амплификацией гена Her2/neu и гиперэкспрессией соответствующе-

го белка, могут терять рецепторы на поверхности мембраны и утрачивать способность давать специфическое окрашивание при проведении ИГХ-исследования [19].

Более надежным методом выявления амплификации гена Her2/neu является флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) — золотой стандарт в диагностике Her2/neu-позитивных РМЖ [10, 24]. Метод позволяет оценить количество копий гена в клетке, а более совершенный его вариант — определить количество хромосом 17. Считается, что результат теста является положительным, если соотношение среднего количества копий гена Her2/neu и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке превышает 2,2 [24].

При должной стандартизации методики данные ИГХ-исследования как при Her2/neu-негативном (категории 0 и 1+), так и Her2/neu-позитивном РМЖ (категория 3+) подтверждаются результатами FISH. В лаборатории LabCorp соответствие результатов двух методов отмечали у 89% проанализированных пациентов [3, 20, 22]. У 4% больных Her2/neu-позитивность по результатам ИГХ-исследования (категория 3+) не подтвердилась результатами FISH [16]. Приемлемой для стандартизованной лаборатории считается 5% частота ложнонегативных результатов. Лабораториям рекомендуется проводить параллельную оценку статуса Her2/neu с использованием ИГХ-метода и FISH до тех пор, пока у менее 5% больных, относящихся по данным ИГХ-исследования к категории 0/1+, результаты окажутся позитивными при проведении FISH-теста [27].

Большую проблему составляют случаи РМЖ, относящиеся к категории сомнительных по данным ИГХ-исследования. В 15% случаев 30 и более процентов клеток инвазивного рака демонстрируют полное, однако неравномерное окрашивание мембран очевидного радиального характера. Очень редко отмечают вариант интенсивного окрашивания всей мембраны в 10 и менее процентах опухолевых клеток. Эти случаи относят к категории 2+, а результат расценивают как неоднозначный. Проведенные крупные многоцентровые исследования продемонстрировали, что только в части случаев (от 12 до 24%), относящихся к категории 2+, при FISH выявляется амплификация гена и они являются в действительности Her2/neu-позитивными, что делает необходимым проведение исследования РМЖ в два этапа [3, 13, 20, 22]. Учитывая, что молекулярно-генетические исследования в настоящее время доступны немногим патоморфологическим лабораториям, референс осуществляется в соответствии со следующим алгоритмом: на первом этапе в лаборатории первого просмотра проводится скрининг с использованием ИГХ-метода: ИГХ 3+ случаи рассматривают как позитивные, ИГХ 0/1+ как негативные. В отношении Her2/neu 2+ случаев проводится повторное тестирование в региональной референс-лаборатории с использованием метода ИГХ, при подтверждении результата - с использованием метода FISH, по-

Таблица 1.

Удельный вес положительных HER2/neu тестирований карциномы молочной железы в лабораториях учреждений здравоохранения УрФО

Название лаборатории, №	Всего ИГХ	HER2neu 3+ (%)	HER2neu 2+ (%)
Лаборатория 1	943	16,2	11,4
Лаборатория 2	61	18,0	4,0
Лаборатория 3	95	4,2	11,6
Лаборатория 4	60	21,6	25,0
Лаборатория 5	125	20,0	13,3
Лаборатория 6	809	7,9	9,4
Лаборатория 7	81	11,1	14,8
Лаборатория 8	227	18,9	22,9
Лаборатория 9	115	18,3	32,2
Лаборатория 11	92	27,2	31,5
Всего по УрФО	2508	15,0	19,8

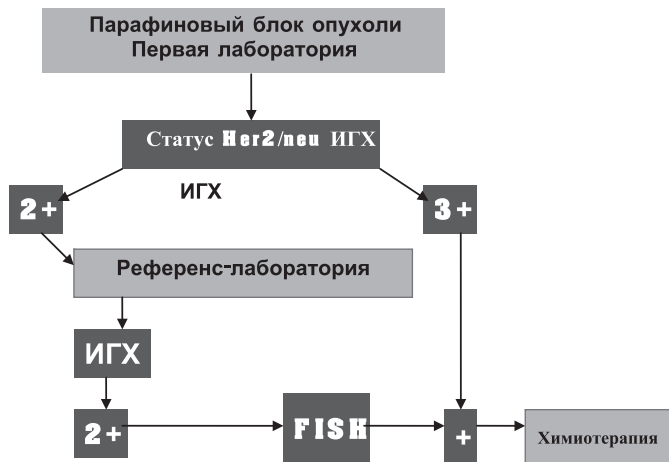


Рис.2. Схема проведения молекулярно-биологических исследований рака молочной железы в первичной и референс-лаборатории.

звляющего оценить количество копий гена Her2/neu и наличие полисомии по хромосоме 17 (рис.2). Только при наличии заключения из референс-лаборатории решается вопрос о назначении пациентке химиотерапии.

В работе по проведению референсных исследований определения гиперэкспрессии HER2/neu в 2010 г. приняло участие 11 патоморфологических лабораторий учреждений здравоохранения УрФО:

1. Референс-лаборатория УрФО - лаборатория патоморфологии ГБУЗ ИМКТ, г. Екатеринбург, Свердловская область.
2. ГБУЗ СОПАБ, лаборатория иммуногистохимии, г. Екатеринбург, Свердловская область.
3. ГБУЗ ОДКБ, патоморфологическая лаборатория, г. Екатеринбург, Свердловская область.
4. ГБУЗ СО ООД №2, патологоанатомическое отделение, г. Нижний Тагил, Свердловская область.
5. ГБУЗ СО ООД №3, патологоанатомическое отделение, г. Каменск-Уральский, Свердловская область.
6. ГБУЗ ЧОКОД, патологоанатомическое отделение, г. Челябинск, Челябинская область – субреференсная лаборатория.
7. ГБУЗ ЧОПАБ, лаборатория иммуногистохимии, г. Челябинск, Челябинская область.
8. ГБУЗ ТООД, патологоанатомическое отделение, г. Тюмень, Тюменская область.
9. ГБУЗ СОКБ, патологоанатомическое отделение, г. Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ.
10. ГБУЗ НОД, патологоанатомическое отделение, г. Нижневартовск, Ханты-Мансийский автономный округ.
11. ГБУЗ ХМОКБ, патологоанатомическое отделение, г. Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийский автономный округ.

Для работы в референс-лабораторию поступали готовые парафиновые блоки и стекла с проведенной в лаборатории первого просмотра иммуногистохимической реакцией и результаты исследования. Референс проводили для каждого случая с уровнем экспрессии HER2 neu 2+ и каждого 10 случая иммуногистохимического исследования, проведенного в первичной лаборатории. Всего проведено 2508 иммуногистохимических исследования. Референс-исследования проводились на базе лаборатории патоморфологии ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий». Выявление экспрессии рецепторов HER2 neu осуществлялись в автостейнере «DAKO» (США) с использованием набора Herceptest производства «DAKO» (Дания). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в блоке предподготовки материала «LINK DAKO Cytomation» в течении 10 мин. при давлении 22Р и температуре 127° С. Оценку реакции осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Imager M» (Германия). Уровень экспрессии HER2 neu определялся по шкале от 0 до 3+ [24]. Референс препаратов на амплификацию гена HER2 neu проводился на базе центральной референс-лаборатории - патологоанатомического отделения ФГУ Московский научно-исследовательский институт им. П.А.Герцена Росмедтехнологий, г. Москва (зав. отделением: член-корреспондент РАМН, профессор Г.А. Франк). По результатам исследования формировались базы данных с использованием программы Microsoft Office Excel 2003. Статистические исследования выполнены с использованием набора программ описательной статистики и матриц корреляций в программном пакете «Statistica 6.0.».

Результаты исследования

Всего лабораториями, включенными в систему проведения референса, в 2010 г. проведено 2508 иммуногистохимических исследований пациенткам с карциномой молочной железы, что составляет в среднем около 58% от всех заболевших. Количество проведенных Her2/neu тестирований в учреждениях здравоохранения УрФО, а также их результаты представлены в Табл. 1. Необходимо отметить, что охват пациенток с карциномой молочной железы тестированием осуществляется крайне неравномерно и колеблется от 28 до 95 % от всех случаев. Значительно колеблется и процент положительных результатов Her2/neu тестирования. Так, средний % протестированных и расцененных как 2+ находится в пределах от 4,0 до 32,2 в разных лабораториях. Не меньшая разница отмечается и при анализе числа случаев с уровнем экспрессии 3+, где разброс средних результатов тестирования составляет от 4,2 до 27,2%. Это при том, что средние уровни изучаемых показателей по данным центральной референс-лаборатории (патологоанатомического отделения ФГУ Московский научно-исследовательский институт им. П.А.Герцена Росмедтехнологий, г. Москва) должны составлять около 20 для 3+ и 10% для 2+ случаев. Этот факт говорит об отсутствии в иммуногистохимических лабораториях системы стандартизации исследований и единых подходов к оценке проводимых исследований. На результаты исследования влияет множество субъективных факторов или параметров, которые можно разделить на преаналитические, аналитические и постаналитические [1, 2, 7, 23]. К преаналитическим факторам, влияющим на результаты ИГХ исследования можно отнести особенности фиксации, проводки и заливки материала, качество получаемых в лаборатории гистологических срезов. Под аналитическими параметрами понимают особенности протокола ИГХ исследований, применяемого в конкретной лаборатории, особенности предподготовки срезов для исследования, использование реактивы для иммуногистохимических исследований от разных производителей, разный методический уровень проведения исследований (автоматизированный или ручной варианты, время инкубации антител, используемые растворы с разными pH и т.д.). На постаналитическом этапе наибольшее значение имеет разный уровень квалификации и опыт персонала.

Для уменьшения роли субъективных факторов отдельных ИГХ лабораторий учреждений здравоохранения УрФО на получаемые показатели HER2 тестирования, а также осуществления референса проведенных в них иммуногистохимических исследований уровней экспрессии и проведения дополнительно молекулярно-генетических исследований для выявления амплификации гена в случаях с уровнем экспрессии Her2/neu 2+ методом FISH, было исследовано 315 блоков пациенток с карциномой молочной железы, что составило всего 12,6% от всех проведенных исследований (Табл.2).

Процент направленных на референс случаев также значительно колебался, в разных лабораториях составляя от 2,7% до 100,0% всех случаев. Все имеющиеся случаи были направлены на пересмотр лабораторией, присоединившейся к референсным исследованиям в 2010 г. и по договоренности в первый год участия в референс-системе направленной каждый случай РМЖ, исследованный ИГХ. В то же время, анализ данных по % направленных на референс случаев позволяет говорить о нарушении структуры направляемых на пересмотр случаев (все 2+ и каждый 10 случай) почти каждой лабораторией. Тем самым лаборатория, по-видимому, пытаются переложить на референс-лабораторию ответственность по принятию решений во всех возникающих сложных случаях. В какой-то мере это оправдано, т.к. в настоящее время только одна лаборатория – референс-лаборатория УрФО может проводить уточняющие молекулярно-генетические ис-

Результаты иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований случаев, поступивших на референс.

Название лаборатории	Количество случаев ИГХ направленных на референсный анализ (0,1+,2+3+)	% случаев, направленных на референс	Количество ISH исследований направленных на референсный анализ	% совпадения ИГХ	% совпадения ISH
Лаборатория 1	25	2,7	15	96	93
Лаборатория 2*	4	6,5	0	100%	-
Лаборатория 3	94	11,6	0	96%	-
Лаборатория 4	40	32,0	0	93%	-
Лаборатория 5	57	100,0	0	93%	-
Лаборатория 6	20	25,7	0	90%	-
Лаборатория 7	25	11,0	0	85%	-
Лаборатория 8	26	11,5	0	85%	-
Лаборатория 9	10	16,6	0	80%	-
Лаборатория 10	25	21,6	0	64%	-
Лаборатория 11	14	15,2	0	57%	-
ВСЕГО	315	12,6	0	-	-

Примечание: * - условный номер лаборатории, не совпадающий с порядковым номером в списке лабораторий

следования амплификации гена HER2 neu.

Важным является такой показатель эффективности работы референс-системы, как процент совпадения оценки результатов ИГХ исследований при их пересмотре. И по этому показателю имеются значительные различия среди иммуногистохимических лабораторий первого просмотра материала (Табл. 2). Процент совпадения оценки колеблется от 57 до 100 от всех прошедших референс случаев. Необходимо отметить тот факт, что лучшие результаты показывают лаборатории с большими объемами ИГХ исследований и оснащенные автоматизированными комплексами для проведения исследований.

При проведении референса в центральной лаборатории второго просмотра случаев с определением HER2/neu тестирования из референсной лаборатории УрФО установлено, что в 96% случаев результат направляемых уровней экспрессии был подтвержден, что позволяет говорить об достаточной эффективности работы лабораторий первого просмотра, хотя и указывает на сохраняющиеся некоторые различия в оценке получаемых результатов ИГХ исследований.

Проведенные дальнейшие молекулярно-генетические исследования материала пациентов с уровнем экспрессии Her2/neu 2+, показали обоснованность и необходимость более глубокого обследования этой группы больных. Так, в 27% случаев у таких пациентов была обнаружена амплификация, увеличение среднего количества копий гена Her2/neu хромосомы 17 в ядрах опухолевых клеток. Причем использование метода FISH позволяет не только выявлять амплификацию гена, но и исключить полисомию хромосомы 17, которая не сопровождается значительным увеличением количества копий Her2/neu, как в случае амплификации гена, и не приводит к достаточному для целенаправленной терапии моноклональным антителом повышению уровня экспрессии белка Her2/neu [18, 26].

Выводы:

Установлены основные ошибки при использовании лабораториями первого просмотра возможностей референс-системы:

1. Не в полном объеме направляются на референс-исследование 2+ случаи (должны составлять около 10% от всех случаев).
2. Не в полном объеме используются возможности пересмотра каждого 10 случая для лаборатории с объемом ИГХ исследований РМЖ до 250 исследований в год и каждого 20 случая свыше этого количества.
3. Неудовлетворительно заполняется сопроводительная документация (не указывается: возраст пациентки, стадия, дата проведения исследования, результат ИГХ исследования лаборатории первого просмотра).
4. Часто не используется утвержденный бланк направления на референсное исследование, часто не заполняется сопроводительная таблица.

Намечены основные шаги по улучшению качества тестирования в лабораториях:

1. Необходимо более активное внедрение в работу ИГХ лабораторий, входящих в референс-систему автоматизированного оборудования для проведения исследований.
2. Использование в референс - и субреференсных лабораториях наборов Hercep Test™ - Breast Cancer для проведения ИГХ на автостейкерах.
3. Создание в ИГХ лабораториях базы контрольных образцов (блоков и стекол ИГХ) тестирования HER 2 с уровнями экспрессии 1+, 2+, 3+.
4. Формирование внутреннего стремления у врачей лаборатории первого просмотра к достижению контрольных цифр распределения

уровней экспрессии при проведении HER2 тестирования РМЖ - ориентировочно: при уровне экспрессии 1+ - 10%, 2+ - 10%, 3+ - 20.

5. В случае несоответствия в лаборатории первого просмотра распределения контрольных значений уровней экспрессии HER2 привлечение для референс HER2 тестирования случаев с 1+.

6. Разработка системы оценки качества работы ИГХ лабораторий первого просмотра и региональной референс-лаборатории.

В работе ИГХ лабораторий, относящихся к референс-системе, следует руководствоваться основными требованиями, сформулированными ASCO/CAP для современной патоморфологической лаборатории в 2010 г.:

1. Необходимо использование стандартизованных процедур обработки материала.
2. Необходимо использование стандартизованных методов проведения ИГХ исследования.
3. Обязательно необходим внешний контроль качества. Лаборатория должна добиваться не менее чем 95% конкордантности (совпадения) с позитивными и негативными случаями, прошедшими через референс-лабораторию.
4. Для обеспечения нормальной организации работы рекомендуемое для патоморфологической лаборатории количество исследований в год должно составлять не менее: для ИHC – 250 исследований, для FISH – 100 исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Криволапов Ю.А., Пешков М.В., Леенман Е.Е. и др. Первый опыт проведения внешнего контроля качества иммуногистохимических исследований в диагностике лимфопролиферативных заболеваний // Архив патологии, 2011. – Том 73, №2. – С. 25-32.
2. Франк Г.А., Мальков П.Г., Мещерякова Н.Г. Контроль качества морфологической диагностики опухолей по результатам школы патоморфологии портала Oncology.ru // Архив патологии, 2011. – Том 73, №2. – С. 32-35.
3. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, *et al.* Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J. Clin. Oncol.* 1997; 17: P. 2639–48.
4. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, *et al.* Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGC receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 2005; 230: P. 1132–9.
5. De Placido S, Carlomagno C, De Laurentiis M, Bianco AR. C-erbB2 expression predicts tamoxifen efficacy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1998, 52: P.55–64.
6. Di Augustine RP, Richards RG, Sebastian J. EGF-related peptides and their receptors in mammary gland development. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2009, 2: P. 109–17.
7. Fritschy J.M. Is my antibody-staining specific? How to deal with pitfalls of immunohistochemistry // *Eur. J. Neurosci.* – 2008. – Vol.28. – P.2365 – 2370.
8. Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen P-L, Bono P, *et al.* Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N. Engl. J. Med.* - 2006. - 354 – P. 809–20.
9. Konecny GE, Thomssen C, Luck HJ, *et al.* Her-2/neu gene amplification and response to paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* - 2004; 96 – P. 1141–51.
10. Ma Y, Lespagnard L, Durbecq V, *et al.* Polysomy 17 in HER-2/neu status elaboration in breast cancer: effect on daily practice. *Clin. Cancer Res.* -

2005; 11 – P. 4393–9.

11. Menard S, Valagussa P, Pilotti S, *et al.* Response to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in lymph node-positive breast cancer according to HER2 overexpression and other tumor biologic variables. *J. Clin. Oncol.* - 2001; 19 – P. 329–35.

12. Owens MA, Horten BC, Da Silva MM. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues. *Clin. Breast Cancer* - 2004; 5 - P. 63–9.

13. Perez EA, Roche PC, Jenkins RB, *et al.* HER2 testing in patients with breast cancer: Poor correlation between weak positivity by immunohistochemistry and gene amplification by fluorescence in situ hybridization. *Mayo Clin. Proc.* - 2002; 77 – P. 148–54.

14. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, *et al.* Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N. Engl. J. Med.* - 2005; 353 – P. 1659–72.

15. Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, *et al.* HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* - 2006; 354 – P. 2103–11.

16. Reddy JC, Reimann JD, Anderson SM, *et al.* Concordance between central and local laboratory HER2 testing from a community-based clinical study. *Clin. Breast Cancer* - 2006; 7 – P. 153–7.

17. Romond EH, Perez EA, Bryant J, *et al.* Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N. Engl. J. Med.* - 2005; 353 – P. 1673–84.

18. Ross JS, Fletcher JA. The Her-2/neu oncogene: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Semin. Cancer Biol.* - 1999; 9 – P. 125–38.

19. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, *et al.* Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* - 1989; 244 – P. 707–12.

20. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N. Engl. J. Med.* - 2001; 344 – P. 783–92.

21. Thor AD, Berry DA, Budman DR, *et al.* ErbB-2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymph node-positive breast cancer. *J. Nat. Cancer Inst.* 1998 – V. 90 – P. 1346–60.

22. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, *et al.* Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* - 2002; 20 - P.719–26.

23. Vyberg M., Torlakovic E., Seidal T. *et al.* Nordic immunohistochemical quality control// *Croat. Med. J.* – 2005. – Vol. 46. – P.368-371.

24. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, *et al.* American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* - 2007; 25 - P.118–45.

25. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* - 2001; 2 - P.127–37.

26. Yaziji H, Goldstein LC, Barry TS, *et al.* HER-2 testing in breast cancer

using parallel tissue-based methods. *JAMA* 2004 - V. 291 - P.1972–7.

27. Zarbo RJ, Hammond ME. Her-2/neu testing of breast cancer patients in clinical practice. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003 - V.127 - P.549–53.

Sazonov S.V., Leontiev S.L., Brilliant A.A. RESULTS OF REFERENCE-LABORATORY WORK ON HER2 NEU-TESTING OF BREAST CARCINOMA IN URFR FOR 2010

Abstract. The purpose of research was definition of reference (revision) results spent in 2010 of the basic molecular-biological characteristics of tumoral cells of cancer breast for definition of indications to purpose of chemotherapy to patients from different establishments of public health services URFR. Necessity of reference-laboratory is proved, basic results HER2 neu testing in basics immunohistochemistry laboratories of URFR are shown. The basic problems arising during performance of researches in immunohistochemistry laboratories are designated, and as in the further at carrying out of repeated testing in reference-laboratory. The role of molecular-genetic research with application of a FISH-method is certain.

Key words: breast carcinoma, HER2 neu testing, immunohistochemistry, the FISH-analysis, reference-researches.

Авторская справка

Сазонов Сергей Владимирович / Sazonov Sergey V.

e-mail: Prof-SSazonov@yandex.ru

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург / GBOU HPE Ural State Medical Academy of Health Ministry of Russia, Ekaterinburg, Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Релина, 3
Russia, 620028, Ekaterinburg, ul. Repin, 3.

Леонтьев Сергей Леопольдович / Leontev Sergey L.

ГБУЗ СО Центр оказания специализированных видов медицинской помощи населению «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург / GBUZ SO Center providing specialized types of medical care, "Institute for Medical Cell Technologies", Ekaterinburg,

Россия, 620036, г. Екатеринбург, ул. Соболева, 25.

Russia, 620 036, Ekaterinburg, ul. Soboleva, 25.

Бриллиант Александр Александрович / Brilliant Aleksandr A.

e-mail: alex-brilliant@mail.ru

ГБУЗ СО Центр оказания специализированных видов медицинской помощи населению «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург / GBUZ SO Center providing specialized types of medical care, "Institute for Medical Cell Technologies", Ekaterinburg

Россия, 620036, г. Екатеринбург, ул. Соболева, 25.

Russia, 620 036, Ekaterinburg, ul. Soboleva, 25.

УДК 614.253

Хулан О.Л.

ВЛИЯНИЕ ЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РУКОВОДИТЕЛЯ НА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Управление здравоохранения Администрации г. Нижний Тагил, Свердловская обл., Россия

Резюме. Залогом успешного развития лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ) в современной нестабильной экономической, правовой и социальной среде становятся управленческие компетенции руководителей лечебно-профилактических учреждений. Выделены ключевые компетенции: стратегическое планирование, управление временем, делегирование полномочий и коммуникативные навыки. Предложен механизм их формирования в рамках курсов повышения квалификации, проводимых на регулярной основе.

Ключевые слова: компетенции, личная эффективность руководителя ЛПУ, стратегическое планирование, управление временем, делегирование полномочий.

Почему существуют успешные и неуспешные медицинские учреждения?

Все ЛПУ, муниципальные или государственные, одинакового лицензионного уровня и сопоставимые по коечному фонду и мощности поликлинической службы, существуют примерно в равных условиях.

Кроме того, для всех равнозначных ЛПУ одинаковы принципы формирования государственного или муниципального заказа, для всех одинаковы экономические нормативы. А экономический результат для каждого ЛПУ получается свой, уникальный.

Понятно, что существуют параметры внешней среды, влияние которых невозможно не учитывать, это:

- недостаточность средств бюджетного и ОМС финансирования;
- социальная нестабильность внешней среды;
- постоянно изменяющееся правовое поле;
- развитие медицинской науки, появление новых технологий на медицинском рынке.

Но эти параметры внешней среды оказывают влияние на все ЛПУ, поэтому напрашивается очевидный вывод о том, что индивидуальный экономический результат зависит от стиля управления организацией, от качества принимаемых управленческих решений. То есть на деятельность ЛПУ в целом оказывает влияние личная эффективность руководителя - первого лица этой организации. Классик менеджмента Анри Файоль 100 лет назад сказал, что «Успехи в бизнесе определяются совершенством управления».

и этот тезис не потерял своей актуальности.

Анализ практики менеджмента в ЛПУ позволил выделить ключевые (наиболее важные, главные) компетенции руководителя ЛПУ, которые являются наиболее проблемными для управленцев-практиков, и, в то же время, системообразующими для достижения максимального экономического и имиджевого результата ЛПУ:

- стратегическое целеполагание;
- управление временем;
- делегирование полномочий;
- коммуникационные навыки.

Эти компетенции являются предметом рассмотрения в данной статье.

Личная эффективность руководителя формируется на основе его личностных компетенций, умения пользоваться инструментами менеджмента. Личная эффективность руководителя – это:

- способность оперативно (точно и по существу) решать стратегические и тактические задачи, стоящие перед организацией;
- ответ на вопрос: как успевать больше, а уставать меньше?

Ключевые зоны профессиональных компетенций современного главного врача находятся в области основных функций менеджмента:

- планирование - установление стратегических и тактических целей, формулировка задач по их достижению, распределение рабочего времени, своего собственного и подчиненных;
- организация производственного процесса, делегирование полномочий;
- мотивация : управление персоналом ;
- контроль: определение зон контроля, регулирование производственного процесса на основе выявления отклонений.

Очень важно, если руководитель сам понимает, в какой области его личной эффективности (или неэффективности) есть проблемы, и над какой областью эффективности ему предстоит работа.

Поэтому главным становится формирование таких ключевых компетенций как *целеполагание (стратегическое видение и планирование)*, и *навыки практического менеджмента* (компетенции в этой области эффективно формируются в системе дополнительного управленческого образования). В таком случае задачи, решаемые в процессе *оперативного управления*, которое строится на базе профессионального медицинского образования, для руководителя ЛПУ носят подчиненный, зависимый от стратегических целей, характер.

Оперативное управление - решение текущих задач клиники – в идеале должно занимать порядка 20-30% рабочего времени руководителя ЛПУ, стратегическое управление – решение перспективных для клиники задач, обеспечивающих ее финансовую и технологическую состоятельность, закладывающих перспективу развития - это, соответственно, 70-80% рабочего времени топ-менеджера ЛПУ и ответственность за долгосрочный результат и позиционирование данного конкретного ЛПУ в глазах заинтересованных лиц: профильных Министерств, администраций и управлений здравоохранения муниципальных образований и др.

Постановка стратегических целей и движение к ним путем выполнения стратегических и оперативных задач должно производиться на основе моделей SMART (критериев качества целей) и BCS (сбалансированной системы показателей).

Критериями качества цели являются следующие ее характеристики:

S - simple - цель должна быть простой, понятной исполнителям, ясно и доступно сформулированной;

M –measurable – цель должна быть измеримой, иначе она останется непроверяемой, в то время как достижение цели должно стать основой для мотивации ;

A - achievable – цель должна быть достижимой, опираясь на внутренние ресурсы личности или организации;

R – realistic – цель должна быть реалистичной, относящейся к той стратегической перспективе, которая разрабатывается в данный момент, то есть с учетом внешней среды;

T - timed or time-bound – цель должна быть привязана к определенному промежутку времени, то есть у достижения цели должен быть конкретный срок.

Слово «SMART» переводится как «умный», пример формулировки цели «по-умному»: «достичь доли внебюджетных средств (платных услуг + ДМС) в консолидированном бюджете больницы 14 % в течение 2011 г.».

Соответствие целей критериям SMART структурируют и дисциплинируют и оперативную, и стратегическую деятельность медицинской организации.

Преимуществом BCS является то, что она «приземляет» стратегию до уровня конкретных техник формирования целей, позволяя

перевести стратегические планы в плоскость конкретных целей,مبرоприятий по их достижению и показателей их выполнения. Сбалансированная система показателей – BCS (balanced score card) – сфокусирует руководителя на формировании целей в четырех ключевых областях деятельности любой производственной структуры: финансы, маркетинг, производство и персонал. В медицинских организациях вместо термина «маркетинг» более уместен термин «медико-демографические показатели», который более точно отражает задачи по достижению медико-демографических показателей, стоящих перед лечебно-профилактическим учреждением.

Следующая компетенция менеджера ЛПУ, которую также следует признать ключевой, - это управление временем.

Для планирования личной деятельности все менеджеры мира используют матрицу Эйзенхауэра. В соответствии с этой матрицей дела каждого руководителя можно разделить на четыре группы: важные и срочные, важные и несрочные, срочные и неважные, неважные и несрочные.

Если рассматривать время руководителя через призму матрицы Эйзенхауэра, то наиболее важной областью для топ-менеджера являются дела с характеристиками «важно, но не срочно». К этому относится вся стратегическая деятельность: стратегическое планирование, разработка инновационных программ развития, подбор персонала, контроль за выполнением поставленной цели, работа с персоналом, особенно формирование кадрового резерва, - в решении этих задач проявляется проактивный тип управления.

Используя проактивный тип управления, руководитель «исполняет заключительные аккорды», поэтому эффективность деятельности организации повышается в разы. Проактивное управление принесет конкретные результаты: достижение поставленной стратегической цели, достижение определенного уровня экономического положения ЛПУ.

Если заниматься стратегическими вопросами, то менеджер с большей вероятностью избежит позиции, в которой «ситуация управляет тобой», с большей долей вероятности реже будут возникать ситуации для реактивного управления.

Зона «важное-срочное» предполагает возникновение и решение проблемных и кризисных ситуаций, когда требуется реакция руководителя на незапланированные раздражители внешней среды – это реактивный тип управления.

По оценкам, успешные менеджеры планируют от 50 до 80 % рабочего времени. Это возможно, поскольку расписание совещаний и деловых встреч, как правило, предоставляется заранее вышестоящими организациями. Также успешные менеджеры отмечают необходимость ежедневного планирования на каждый предстоящий рабочий день 15 минут вечером – в конце рабочего дня и 15 минут днем - корректировка оперативных планов на вторую половину дня. Оперативная обстановка меняется быстро, поэтому и в подведомственной организации могут произойти изменения. Ежедневные беседы с персоналом должны входить в запланированное время. Следует отметить, что время на полноценный обед должно быть запланировано в обязательном порядке!

Справедливости ради следует отметить, что оперативные дела – реактивное управление - неизбежны, начиная от аварийного прорыва трубы и заканчивая возникновением конфликта в каком-либо подразделении.

Если рассматривать реактивный тип управления, то с 80-90 % дел, которые сваливаются на руководителя клиники в течение дня, могут справиться ваши подчиненные при условии строгого контроля со стороны руководителя (время исполнения, проверка решения на соответствие с точкой зрения первого лица и/или его команды на данную ситуацию).

При реактивном типе управления (зона «важное – срочное» в матрице Эйзенхауэра) теряется масса времени и ситуация управляет нами, мы реагируем исключительно на текущие события внешней среды. Например, при проведении автором занятия в рамках программы повышения квалификации для главных врачей и заместителей главных врачей клиник бурную реакцию и обсуждение вызвал именно реактивный тип управления. Большинство слушателей признались, что до 80% времени уходит на решение вопросов, который нас заставляет решать внешняя среда (например, подготовка срочного документа по запросу вышестоящего руководства с ограничением по времени). При бурном совместном обсуждении слушатели пришли к выводу, что рационально делегировать подготовку документа своему заместителю или руководителю подразделения по профилю, а при необходимости – привлечь 2-3 специалистов из разных функциональных областей, установить им конкретный срок исполнения. Руководитель обязан дать четкие инструкции и изложить свою точку зрения по подготовке документа и до назначенного срока проконтролировать исполнение, возмож-

но, внести изменения и дополнения и снова отдать документ на доработку. Контроль и правка документа займет времени намного меньше, нежели самостоятельная полная подготовка документа. Этот пример касается одновременно и компетенции «управление временем», и компетенции «делегирование полномочий».

Из решения этих ситуаций логично вытекает необходимость владения такой компетенцией как делегирование полномочий.

Целесообразность делегирования полномочий в современном турбулентный век очевидна, но все-таки выгода от делегирования полномочий различна для разных заинтересованных лиц:

- для организации делегирование полномочий:
 - уменьшает иерархичность;
 - повышается оперативность;
 - способствует обучению персонала, подготовке кадрового резерва.
- для руководителя:
 - освобождает «от текучки»;
 - позволяет заняться решением наиболее сложных и важных проблем;

• дает возможность рационально распределить нагрузку среди подчиненных, выявить среди них помощников и возможных премников.

- для подчиненных - позволяет:
 - проявить инициативу и самостоятельность;
 - продемонстрировать свои способности, знания, опыт;
 - приобрести новые компетенции;
 - создать условия для дальнейшего карьерного продвижения;
 - получить удовлетворение от работы.

Работа, которую можно доверить подчиненному, должна соответствовать трем характеристикам:

1. *быть рутинной* - работа многократно выполняется одним и тем же способом;
2. *содержать ясные указания* - для выполнения данной работы необходимо написать или устно высказать ясные указания, чтобы ваши сотрудники имели возможность получить всю требуемую информацию;
3. *предполагать возможность обучения* - у вас есть подчиненный, способный к обучению и выполнению данной работы, желающий принять на себя ответственность.

Полномочия на практике закрепляются:

- уставом организации;
- положениями о подразделениях;
- должностными инструкциями;
- устными распоряжениями.

Последний вариант делегирования – это ситуационное делегирование, является объектом нашего особого внимания, поскольку остальные варианты определяются регламентами и носят стабильный и предсказуемый характер.

Механизм делегирования ситуационных, или проектных, задач, следующий:

1. постановка задачи перед подчиненным;
2. четкое обозначение зоны ответственности с учетом имеющихся регламентов и инструкций;
3. обсуждение для понимания неясных зон ответственности;
4. составление плана действий;
5. передача ресурсов;
6. договор о механизме контроля.

Иногда возникают проблемные вопросы при устных распоряжениях, связанных с ситуационным делегированием, которые необходимо решать на уровне здравого смысла.

Следующая важная компетенция руководителя - коммуникативные навыки. Коммуникации занимают большую часть рабочего времени руководителя.

Сегодня ЛПУ, особенно многопрофильное – это сложная организационная система, требующая объединения, регулирования через согласование интересов различных сторон. Вместе с тем, в эпоху турбулентных изменений внешней среды главврачу ЛПУ приходится параллельно решать задачу множественных внешних коммуникаций с органами власти, поставщиками, подрядчиками, контролирующими органами.

Как показывает практика, очень важным вопросом является общение (формальное и неформальное) топ-менеджера в среде управленцев своего уровня: участие в совещаниях различного уровня, конференциях, курсах повышения квалификации, программах профессиональной переподготовки и в неформальном общении. Это – «обучение через практику коллег», что очень ценится в любой профессиональной среде, особенно в такой специфической, каковой является медицинская среда.

Важным является коммуникация непосредственно с вышестоящим руководителем. Это позволяет вынести его личную точку

зрения на какую-либо проблему, личную оценку происходящих событий, иногда это бывает важнее анализа прямого источника информации - изучения приказа или прочтения протокола совещания - для принятия конкретного управленческого решения.

Самой основной проблемой формирования коммуникации является недоведение до рядовых исполнителей решений руководства, которое в этом случае блокируется на уровне руководителя подразделения. Чем меньше подразделение, тем хуже построены коммуникации, так как формальные инструкции переводятся на уровень неформального общения, когда важные проблемы организации, инструкции, приказы обсуждаются не на деловом совещании, а «за чашкой чая» с соответствующей интерпретацией.

Проблема управления медицинской организации в том, что руководителями становятся врачи – профессионалы в своей области медицины, не имеющие специального управленческого образования. К сожалению, в настоящее время очень мало внимания уделяется формированию у руководителя управленческих компетенций. Поэтому судьба ЛПУ часто зависит от интуиции и способности руководителя к самообразованию. Новая парадигма менеджмента дает шанс перейти от интуитивных методов управления к профессиональным инструментам менеджмента. Практика работы на посту заместителя главного врача областной больницы и руководство управлением здравоохранения второго по величине города Свердловской области позволяет сделать вывод о необходимости системной работы по подготовке кадрового резерва управленцев и целенаправленном обучении главных врачей и их замов практическому управлению общим менеджментом на программах повышения квалификации по направлению «Организация здравоохранения и общественное здоровье» и увеличения в этих программах доли дисциплин, проводимых в так называемых «активных формах», которые позволяют этому контингенту слушателей обменяться интересными наработками, полезным опытом и сформировать практические навыки в области прикладного менеджмента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архангельский Г. Организация времени: От личной эффективности к развитию фирмы. СПб.: Питер, 2006 - 448 с.
2. Дэвид А. Вэттен Ким С. Камерон «Развитие навыков менеджмента» (2004 г.) Издательство: Нева 672 стр.
3. Горбунова В.Л., Сквирская Г.П., Николаев А.П. Системный подход к менеджменту ресурсов крупного многопрофильного лечебно-профилактического учреждения // Проблемы управления здравоохранением 2010, № 3, с. 21-25
4. Дафт Ричард Л. Менеджмент. СПб: Питер, 2007 -864 с.
5. Кови С. Р. 7 навыков высокоэффективных людей. Мощные инструменты развития личности. Альпина Паблишерз. 2010 -374 с.

Khoulap O.L.

THE LEADER'S PERSONAL EFFICIENCY INFLUENCE ON THE WORKING EFFICIENCY OF MEDICAL ORGANIZATION

Abstract. The leader's management competence in treatment-and-prophylactic institution (TPI) is the guarantee of successful development for TPI in our modern unstable economical, legal and social areas. The main components of competence are strategic planning, time management, delegation of powers, communication skills. We lead the regular courses within the bounds of professional development, they offer you to develop all the mentioned skills.

Key words: competence, TPI leader's personal efficiency, strategic planning, time management, delegation of powers.

Авторская справка

Хулап Оксана Львовна

Управление здравоохранения Администрации г. Н. Тагил
622001 Россия, Свердловская область, г. Н. Тагил, Красноармейская 44
ntuzo-800@rambler.ru

Author

Khoulap Oxana L.

Department of public health services of N. Tagil city administration
ntuzo-800@rambler.ru
622001, Russia, Sverdlovsk region, N. Tagil, Krasnoarmeyskaya 44

Алашеев А.М., Белкин А.А., Лейдерман И.Н., Рогов Д.Ю., Исакова Т.М., Фечина Л.Г.,
Иванов Р.А., Леонтьев С.Л.

**ДИНАМИКА КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ, ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
И ОБЪЕМА ОЧАГА ИШЕМИИ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ПОДКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ
ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА БОЛЬНЫМ
С ОСТРЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ**

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург, Россия; МАУ Городская клиническая больница №40, г. Екатеринбург, Россия; ГУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Россия; АНО Клинический институт мозга, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

В исследование безопасности применения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) как нейропротектора включено 9 взрослых пациентов с односторонним ишемическим инсультом в бассейне внутренней сонной артерии не позднее 48 часов от начала заболевания. Все пациенты получили однократную подкожную инъекцию Г-КСФ в дозе 10 мкг/кг. Безопасность оценивалась по летальности, частоте геморрагической трансформации инфаркта и побочных эффектов. Введение Г-КСФ достоверно повысило уровень CD34 позитивных клеток в периферической крови. На 90-й день отмечена положительная динамика по степени зависимости от посторонней помощи и по другим изученным признакам. Однократная стимуляция костного мозга Г-КСФ в дозе 10 мкг/кг один раз в сутки безопасна.

Ключевые слова: ишемический инсульт, стволовые клетки, колониестимулирующие факторы, клиническое исследование

Благодарности

Авторы благодарят Налесника М.В., Чечик З.Э. за помощь в организации исследования; Рудника Е.Н., Никонову Н.Л., Бисерову О.А., Тругуб Н.М., Суханова В.Н., Вержбицкую Е.Ю. и Попова А.М. за помощь в обследовании пациентов.

Исследование финансировалось из бюджета Института медицинских клеточных технологий. Производитель препарата (ЗАО «Биокад», Россия) участвовал только на этапе подготовки протокола исследования и получения разрешения на проведение исследования.

Введение

Инсульт – вторая по распространенности в мире причина инвалидности и смертности [1]. Ученые не прекращают искать способы защиты уцелевших и возмещения погибших клеток мозга. Наиболее перспективными направлениями церебропротекции считаются использование препаратов, которые одновременно действуют на несколько механизмов клеточного повреждения [2]. Одним из таких препаратов является гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) [3]. Г-КСФ – гликопептид массой около 20 000 кД. На этапе эмбрионального развития Г-КСФ участвует в формировании нервной трубки и дифференциации нейронов [4]. Во взрослом организме Г-КСФ в большей степени связан с регулирующей функцией костного мозга, но связь с нервной системой остается. В частности нейронные области ишемической полутени экспрессируют на мембране рецепторы к Г-КСФ [5]. Тем самым Г-КСФ обладает рядом прямых эффектов на клетки мозга: антиапоптотическим, противовоспалительным, эксайтотекторным, нейротрофическим, стимулирующим ангио- и нейрогенез [6]. Косвенные церебропротекторные эффекты Г-КСФ связаны с его способностью мобилизовать гемопоэтические стволовые CD34-позитивные клетки (CD34+) из костного мозга в периферическую кровь [7], которые, оседая в очаге ишемического поражения, превращаются в «фабрики» нейротрофических факторов, что способствует репарации нейронов и восстановлению функции мозга [8].

Мета-анализ исследований применения Г-КСФ на модели фокальной ишемии у животных показал, что препарат уменьшает объем инфаркта мозга и улучшает функциональный исход [9]. Однако безопасность Г-КСФ и его влияние на уровень CD34+ клеток в периферической крови при остром ишемическом инсульте изучены недостаточно, что сохраняет актуальность нашего исследования.

Цель данного исследования – оценить безопасность и эффективность мобилизации CD34+ клеток после однократной стимуля-

ции Г-КСФ у больных с острым ишемическим инсультом.

Материалы и методы

Мы провели первый этап проспективного клинического исследования Г-КСФ при остром ишемическом инсульте. Протокол одобрен Комитетом по этике при федеральном органе контроля качества лекарственных средств (Протокол №85 от 27 февраля 2007), имеет разрешение Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Разрешение №209 от 21 мая 2007) и соответствует Хельсинской декларации и Национальному стандарту Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005).

Пациенты

Больные в возрасте от 40 до 70 лет с односторонним ишемическим инсультом в каротидном бассейне (до 48 часов от начала), нарушением сознания (шкала комы Глазго [ШКГ] менее 15, но более 8 баллов) и гемипарезом (движения в руке и ноге не более 4 баллов по шкале Medical Research Council) включались в исследование при поступлении в Региональный сосудистый центр (г. Екатеринбург). Больные набирались в одну группу без группы сравнения. Основными критериями исключения были: тромболитическая терапия, преморбидная зависимость от посторонней помощи (балл по модифицированной шкале Рэнкина больше нуля), геморрагический инсульт, коагулопатия, онкологические заболевания и беременность. До включения в исследование пациент или его законные представители подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Терапия

Мы применяли получаемый методами генной инженерии рекомбинантный человеческий Г-КСФ Лейкостим® (ЗАО «Биокад», Россия), который по физико-химическим характеристикам и специфической биологической активности является аналогом широко используемого препарата Нейпоген® («Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария; международное непатентованное название: Filgrastim).

Дополнительно к общепринятому лечению инсульта (в объеме приказа Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 513 от 01 августа 2007 года) пациенты получали рекомбинантный человеческий Г-КСФ подкожно в дозе 10 мкг/кг один раз в сутки (утром). Выбор дозы препарата и пути введения обусловлены их безопасностью и эффективностью в гематологической практике [7]

Клиническая оценка

Эффективность лечения оценивалась, прежде всего, по степени зависимости от посторонней помощи на девятый день от заболевания по модифицированной шкале Рэнкина. При неврологиче-

Таблица 1.

Характеристики пациентов (n=9).

Признак	До лечения	90-й день	p
mRS	4 (3–4)	2 (1–2)	0.004
mRS ≥2	8 (89%)	0 (0%)	0.008
NIHSS	8 (7–10)	2 (1–2)	0.004
Индекс Бартеля	45 (35–55)	95 (90–95)	0.004
Шкала исходов Глазго	6 (5–7)	8 (8–8)	0.035

NIHSS – шкала инсульта Национального института здоровья; mRS – модифицированная шкала Рэнкина.

Картина периферической крови (n=9).

Параметр	День 0	День 1	День 3	День 5	День 7	p
CD34+	0.02 (0.01–0.02)	0.01 (0.00–0.01)	0.05 (0.03–0.06)*	0.05 (0.03–0.06)*	0.04 (0.02–0.09)*	<0.001
WBC	9.2 (8.6–9.4)	24.2 (19.9–32.2)*	15.6 (13.7–18.4)*	9.4 (8.1–10.1)	7.1 (6.8–9.3)	<0.001
RBC	4.32 (4.03–4.64)	4.12 (3.98–4.22)*	4.05 (3.90–4.22)	4.28 (3.89–4.63)	4.33 (3.89–4.59)	0.013
HGB	145 (136–151)	137 (125–143)*	130 (124–140)*	135 (117–141)	135 (123–145)	0.002
PLT	281 (244–339)	309 (226–368)	225 (198–305)	275 (214–305)	239 (227–320)	0.312

* статистически значимое различие в сравнении с исходным значением (p<0.05)

CD34+ – количество CD34-позитивных клеток (в % от количества лейкоцитов); WBC – количество лейкоцитов (в 10⁹ клеток/л); RBC – количество эритроцитов (в 10¹² клеток/л); HGB – гемоглобин, г/л; PLT – количество тромбоцитов (в 10⁹ клеток/л).

Таблица 3.

Динамика параметров гемостаза (n=9).

Параметр	День 0	День 1	День 3	День 5	День 7	День 14	День 90	p
ПАТ, %	83 (81–84)	86 (82–91)	91 (89–93)	86 (66–93)	85 (79–92)	88 (82–91)	86 (83–93)	0.223
ПТИ, %	100 (51–100)	88 (62–100)	86 (67–100)	100 (87–100)	100 (100–100)	100 (75–100)	87 (60–100)	0.539
МНО	1.01 (1.0–1.13)	1.07 (1.0–1.16)	1.0 (1.0–1.12)	1.0 (1.0–1.04)	1.0 (1.0–1.04)	1.0 (1.0–1.08)	1.04 (1.0–1.13)	0.732
Фибриноген, г/л	3.0 (2.7–3.6)	2.7 (2.4–3.6)	2.8 (2.6–3.0)	2.8 (2.2–3.5)	2.6 (2.3–3.3)	2.8 (2.5–3.3)	3.0 (3.0–3.1)	0.610
Фибринолиз, %	70 (56–206)	79 (64–130)	75 (61–96)	63 (58–78)	77 (33–84)	80 (35–141)	89 (38–100)	0.931

ПАТ – показатель агрегации тромбоцитов; ПТИ – протромбиновый индекс; МНО – международное нормализованное отношение.

Таблица 4.

Биохимия крови (n=9).

Параметр	День 0	День 3	День 5	День 7	День 14
Глюкоза, ммоль/л	5.7 (5.1–6.5)	4.9 (4.6–5.3)	5.5 (4.8–5.7)	5.2 (4.9–5.3)	5.2 (5.0–6.1)
Общий белок, г/л	71 (70–73)	68 (65–70)	72 (67–76)	68 (63–73)	70 (67–75)
Альбумин, г/л	43.0 (40.6–45.7)	43.3 (41.9–45.4)	45.4 (43.3–46.9)	42.8 (39.8–43.3)	43.3 (42.2–45.4)
Билирубин, ммоль/л	7.5 (7.5–11.5)	6.4 (6.4–10.3)	6.4 (6.4–7.5)	7.5 (6.4–7.5)	8.6 (7.5–10.7)
АЛТ, Ед/л	17 (15–21)	21 (16–24)	27 (24–42)*	47 (27–88)*	36 (24–37)*
АСТ, Ед/л	21 (19–35)	26 (21–47)	38 (26–44)	49 (36–67)*	28 (24–33)
ГГТ, Ед/л	35 (22–48)	28 (22–52)	29 (25–55)	31 (30–56)	41 (26–51)
Креатинин, ммоль/л	78.2 (66.9–98.3)	85.8 (74.5–97.8)	91.2 (84.0–98.3)	80.0 (73.0–97.3)	73.0 (64.8–93.4)
Мочевина, ммоль/л	4.8 (4.5–5.2)	2.8 (2.4–4.2)	4.3 (3.6–4.7)	4.6 (3.0–6.1)	4.8 (4.0–6.3)
Мочевая кислота, мкмоль/л	350 (320–480)	320 (290–340)	310 (290–380)	320 (251–400)	300 (260–380)
Холестерин, ммоль/л	6.1 (4.7–7.5)	4.7 (4.5–6.8)	4.7 (4.2–6.2)	4.5 (3.9–5.7)*	5.6 (4.9–5.8)
Триглицериды, ммоль/л	1.09 (1.00–1.74)	1.05 (1.71–2.00)	1.32 (1.00–1.59)	1.53 (1.98–1.81)	1.65 (1.34–1.78)
Калий, ммоль/л	4.0 (3.6–4.2)	3.7 (3.5–3.9)	4.0 (3.9–4.2)	4.0 (3.8–4.2)	4.9 (3.9–5.1)
Натрий, ммоль/л	142 (141–143)	142 (139–144)	142 (140–143)	144 (140–145)	143 (143–147)
Хлор, ммоль/л	108 (105–109)	109 (106–110)	110 (109–113)	111 (108–114)	111 (108–112)
Кальций, ммоль/л	2.22 (2.12–2.42)	2.12 (2.08–2.26)	2.20 (2.05–2.26)	2.16 (2.05–2.31)	2.30 (2.21–2.36)

* статистически значимое различие между группами (p<0.05)

АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартаминотрансфераза; ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза.

ском осмотре подсчитывались баллы шкалы инсульта Национального института здоровья (NIHSS), индекса Бартела (ИБ) и шкалы исходов Глазго (ШИГ) до введения препарата и на 90-й день от заболевания.

Безопасность оценивалась по летальности, частоте геморрагической трансформации и серьёзных побочных эффектов. Регистрировалась информация о наличии боли в мышцах, суставах или костях, повышении температуры тела, болезненности на месте инъекции, тромбоцитопении, увеличении селезенки, наджелудочковой тахикардии, васкулита, диффузных отеков, одышки, перикардального выпота, тошноты и рвоты.

Определение объема инфаркта мозга

MPT (0, 1, 3, 7, 14 и 90-й день) проводилась на томографе Magnetom Symphony 1.5 T (Siemens, Германия) с использованием последовательностей: T1W-взвешенных изображений в сагиттальной плоскости, PDW-, T2W-взвешенных, FLAIR изображений в аксиальной плоскости. Для оценки объема инфаркта мозга использовалась последовательность FLAIR в аксиальной плоскости (TR 9000, TE 115, FOV 230, matrix 224x256, толщина среза 6 мм), с последующей математической обработкой. В спорных случаях, для выявления острой стадии инсульта на фоне множественной очаговой энцефалопатии, использовали DWI-изображения, карты диффузии.

Лабораторное обследование

Общий анализ крови (0, 1, 3, 5 и 7-й день) проводился с помощью стандартного гематологического анализатора.

Определение количества CD34+ клеток в периферической крови (0, 1, 3, 5 и 7-й день) производилось методом двухцветной проточной цитометрии на приборах "FACS Canto" и "FACS Canto II" (Becton & Dickinson, США [BD]). Использовались моноклональные антитела (MoAb), к антигенам CD45 (2D1, BD) и CD34 (8G12, BD), меченные флюоресцеинизотиоцианатом (FITC) и R-фикоэритрином (PE) соответственно. Окрашивание MoAb осуществлялось согласно инструкции производителя. После инкубации суспензии клеток с MoAb взвесь обрабатывалась лизирующим раствором («FACS Lysing solution» BD), а затем отмывалась фосфатно-солевым буфером (PBS), («Cell Wash», BD). Ресуспендированные в 1 мл PBS клетки анализировались на проточном цитометре не позднее, чем через два часа после окрашивания. Настройка проточных цитометров и мониторинг стабильности работы приборов осуществлялись при помощи калибровочной системы "7-color Setup Beads" (BD). В каждом образце анализировалось не менее 150000 CD45-позитивных клеток. Результаты иммунофенотипирования оценивались в соответствии с международными рекомендациями [10] при помощи программного обеспечения FACS Diva 4.0-6.1 (BD). Результат рассчитывался в виде процентного содержания CD34+ клеток от общего числа лейкоцитов (CD45-позитивных клеток).

Биохимические показатели: билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартаминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), креатинин, мочевина, мочевая кислота, общий белок, альбумин, глюкоза, холестерин, триглицериды, кальций, калий, натрий, хлор – исследовались (0, 3, 5, 7 и 14-й

Таблица 5.

Объем инфаркта мозга (n=9).

День	Абсолютные значения, мм ³	Относительные значения, %
0	11.75 (4.16–13.95)	100
1	12.92 (4.16–22.68)	131 (100–162)
3	20.26 (4.16–30.2)	157 (131–236)
7	24.77 (4.62–26.35)	192 (161–251)
14	18.7 (6.28–38.72)	167 (110–192)
90	5.69 (4.62–18.44)	104 (74–142)

день) на стандартном биохимическом анализаторе.

Свертывание крови (0, 1, 3, 5, 7 и 14-й день) оценивалось методом тромбоэластографии на аппарате ROTEM Gamma (Pentapharm, Германия).

Статистические методы

Для статистического анализа данных использовалась программа Stata 12 (StatCorp, США.). Исследуемые признаки не подчинялись нормальному распределению, кроме того, группы пациентов были малочисленны, поэтому применялись точные непараметрические критерии. Количественные данные представлены в виде медианы и в скобках межквартильного интервала (МКИ). Качественные признаки описывались простым указанием количества и доли (в процентах) для каждой категории.

Сравнительный анализ количественных признаков проводился с помощью парного критерия Фишера-Питмана или критерием Скиннинга-Мака с последующим *post hoc* сравнением критерия Фишера-Питмана с поправкой Бонферрони. Качественные признаки сравнивались критерием МакНемара.

Результаты

В исследование было включено 9 больных в возрасте 56 (54–64) лет, из них 7 мужчин. Поражение левого полушария выявлено у двух третей больных. В группе отмечена положительная динамика по степени неврологического дефицита (NIHSS), инвалидности (ИБ, ШИГ) и зависимости от посторонней помощи (mRS) через 90 дней после начала инсульта (Таблица 1).

Лабораторные данные

Г-КСФ увеличивал количество CD34+ клеток в периферической крови. Их максимальный подъем наблюдался с третьего по пятый день от начала терапии (Таблица 2). Регистрировался лейкоцитоз, вызванный преимущественно увеличением количества нейтрофилов (данные не приведены). Максимальный зарегистрированный лейкоцитоз был 34.7×10^9 клеток/л. Наблюдалось снижение количества эритроцитов на первый день и уровня гемоглобина с первого по третий дни от начала инсульта. Колебания количества тромбоцитов на фоне применения Г-КСФ были статистически не достоверны.

Выявленные изменения картины периферической крови не влияли на параметры гемостаза (Таблица 3).

На фоне терапии Г-КСФ уровни АЛТ на 5, 7, 14-й день и АСТ на пятый день были повышены, уровень холестерина снизился на седьмой день (Таблица 4). По другим показателям биохимического состава крови колебания были незначимыми.

Объем инфаркта

Отмечена тенденция к увеличению объема инфаркта мозга к седьмому дню от начала заболевания, которая не достигла статистической значимости как по абсолютным, так и по относительным величинам (Таблица 5).

Побочные действия и осложнения.

Больных с летальным исходом, геморрагической трансформацией очага ишемии не наблюдалось. Случаев боли в мышцах, суставах или костях, повышения температуры тела, болезненности в месте инъекции, увеличения селезенки, наджелудочковой тахикардии, васкулита, диффузных отеков, одышки, перикардального выпота, тошноты и рвоты, связанных с курсом терапии Г-КСФ, не зарегистрировано.

Обсуждение

Мы установили, что при остром ишемическом инсульте Г-КСФ в исследованной дозе безопасен и способен мобилизовать CD34+ стволовые клетки из костного мозга в кровотоки. Наши результаты согласуются с данными других авторов, которые также подтвердили безопасность Г-КСФ при остром ишемическом инсульте [11–1312]. После введения Г-КСФ отмечалась положительная динамика неврологического дефицита.

Выявленное снижение количества эритроцитов и уровень гемоглобина было клинически не значимо и, вероятно, обусловле-

но проводимой инфузионной терапией. Наблюдаемые колебания уровней АЛТ, АСТ и холестерина были клинически не значимыми и, возможно, связаны не столько с токсическим влиянием Г-КСФ на функцию печени, сколько с общей медикаментозной нагрузкой при лечении инсульта.

Мы ожидали, что увеличение вязкости крови за счет лейкоцитолиза повлияет на свертываемость крови. Однако значимых изменений параметров гемостаза не наблюдалось, что подтверждает безопасность применения Г-КСФ при ишемическом инсульте на фоне стандартной дезагрегантной терапии.

Динамика очага ишемии по МРТ была закономерной и указывает, что Г-КСФ в изученной дозировке не повлиял на объем инфаркта.

Для оценки эффективности Г-КСФ в терапии острого ишемического инсульта необходимо провести клиническое исследование с пятикратной стимуляцией и контрольной группой.

Библиография

1. Donnan G.A., Fisher M., Macleod M., Davis S.M. Stroke // Lancet. 2008. № 371. P. 1612–1623.
2. Rogalewski A., Schneider A., Ringelstein E.B., Schbitz W.R. Toward a multimodal neuroprotective treatment of stroke // Stroke. 2006. № 4. P. 1129–1136.
3. Borlongan C.V., Hess D.C. New hope for stroke patients: mobilization of endogenous stem cells // Can. Med. Assoc. J. 2006. № 174. P. 954–955.
4. Schneider A., Kuhn H-G., Schbitz W-R. A role for G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) in the central nervous system // Cell cycle. 2005 № 12. P. 1753–1757.
5. Schneider A., Kruger C., Steigleder T, et al. The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis // J. Clin. Invest. 2005. №8. P. 2083–2098.
6. Solaroglu I., Cahill J., Jadhav V., Zhang J.H. A novel neuroprotectant granulocyte-colony stimulating factor // Stroke. 2006. № 37. P. 1123–1128.
7. Grigg A.P., Roberts A.W., Raunow H. et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers // Blood. 1995. № 86. P. 4437–4445.
8. Shyu W., Lee Y., Liu D.D. et al. Homing genes, cell therapy and stroke // Frontiers in bioscience. 2006. № 11. P. 899–907.
9. England T.J., Gibson C.L., Bath P.M. Granulocyte-colony stimulating factor in experimental stroke and its effects on infarct size and functional outcome: a systematic review // Brain Res Rev. 2009. № 62. P.71–82.
10. Gratama J.W., Sutherland D.R., Keeney M., Papa S. Flow cytometric enumeration and immunophenotyping of hematopoietic stem and progenitor cells // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2001. № 15. P. 14–22.
11. Shyu W.C., Lin S.Z., Lee C.C. et al. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial // Can. Med. Assoc. J. 2006. № 174. P. 927–933.
12. Schbitz W.R., Laage R., Vogt G., et al. AXIS. A Trial of Intravenous Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Acute Ischemic Stroke // Stroke. 2010. №11. P.2545–2551.
13. Boy S., Sauerbruch S., Kraemer M., Schormann T., Schlachetzki F., Schuierer G., et al. Mobilisation of Hematopoietic CD34 Precursor Cells in Patients with Acute Stroke Is Safe - Results of an Open-Labelled Non Randomized Phase I/II Trial. PloS one. 2011. № 6. P. e23099.

Alashev A.M., Belkin A.A., Leiderman I.N., Rogov D.Yu., Isakova T.M., Fehina L.G., Ivanov R.A., Leont'ev S.L.

CLINICAL DYNAMICS, LABORATORY RESULTS AND INFARCT VOLUME AFTER SINGLE SUBCUTANEOUS GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR INJECTION IN PATIENTS WITH ACUTE ISCHEMIC STROKE

Abstract

The present study of safety of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) as a neuroprotector involved 9 adult patients with unilateral ischemic stroke in the carotid region presenting within 48 hours of onset. All patients received subcutaneous G-CSF injections in the dose of 10 mg/kg. Safety was evaluated by mortality, frequency of hemorrhag-

ic transformation of infarction and adverse events. G-CSF injections significantly increased the level of CD34-positive cells in peripheral blood. At 90 days positive dynamics in the need for third-party assistance and in other studied characteristics was shown. Single daily bone marrow stimulation by G-CSF in the dose of 10 mkg/kg is appeared to be safe.

Key words: ischemic stroke, stem cells, granulocyte colony-stimulating factor, clinical study

Авторская справка

Алашеев Андрей Марисович

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1» (Екатеринбург, Россия)

Белкин Андрей Августович

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1»; Институт медицинских клеточных технологий (Екатеринбург, Россия)

Лейдерман Илья Наумович

Институт медицинских клеточных технологий; Клинический институт мозга (Екатеринбург, Россия)

Рогов Дмитрий Юрьевич

МАУ «Городская клиническая больница №40» (Екатеринбург, Россия)

Исакова Татьяна Михайловна

МАУ «Городская клиническая больница №40» (Екатеринбург, Россия)

Фечина Лариса Геннадьевна

МАУ «Городская клиническая больница №40» (Екатеринбург, Россия)

Иванов Роман Алексеевич

МАУ «Городская клиническая больница №40» (Екатеринбург, Россия)

Леонтьев Сергей Леопольдович

Институт медицинских клеточных технологий (Екатеринбург, Россия);

balasheev@live.ru

20135, Россия, г. Екатеринбург, ул. Парниковая, д.8, кв. 102

Authors

Alashev Andrey M;

Sverdlovsk regional hospital №1 (Ekaterinburg, Russia)

Belkin Andrey A;

Sverdlovsk regional hospital №1; Institute Medical Cell Technologies (Ekaterinburg, Russia)

Leiderman Ilya N

Institute Medical Cell Technologies; Clinical Institute of the Brain (Ekaterinburg, Russia)

Rogov Dmitry Yu

City hospital №40» (Ekaterinburg, Russia)

Isakova Tatyana M.

City hospital №40» (Ekaterinburg, Russia)

Fechina Larisa G.

City hospital №40» (Ekaterinburg, Russia)

Ivanov Roman A.

City hospital №40» (Ekaterinburg, Russia)

Leont'ev Serey L.

Institute Medical Cell Technologies (Ekaterinburg, Russia)

620135, Russia, Ekaterinburg, street Hotbed, d.8, sq. 102

alashev@live.ru

616.342-002

Альтман Н.С., Ковтун О.П., Чередниченко А.М.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ФИЗИОПУНКТУРЫ

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме: Обследовали 198 больных в возрасте от 7 до 15 лет с диагнозом хронический эрозивный гастродуоденит ХЭГ и язвенная болезнь ЯБ. Изучали анамнез жизни и болезни у обследуемых детей и установили неэффективность ранее проводимой терапии. Проводили ЭГДС с биопсией слизистой оболочки антрального отдела желудка и определяли Н. Pylori гистобактериологическим методом Гимзы, назначали внутрижелудочную рН-метрию аппаратом РЭГ, Гастроскан – 24, проводили УЗИ органов пищеварения. Изучили показатели мембрано-дестабилизирующих процессов, а так же состояния вегетативной нервной системы. Анализировали электрокожное сопротивление (ЭКС) в биологически активных точках (БАТ).

Анализом ЭКС в БАТ заинтересованных меридианов установили, что у больных ХЭГ и ЯБ большинство БАТ были не готовы к проведению КВЧ – терапии и требовали приведения их к нормальным значениям на аппарате СКЭНАР. Сделали заключение о целесообразности назначения КВЧ-терапии с предварительной СКЭНАР-диагностикой на этапах реабилитации больных, что позволяет уменьшить лекарственную нагрузку и продлить ремиссию при длительном лечении больных – ХЭГ и ЯБ.

Ключевые слова: дети, хронический гастродуоденит, язвенная болезнь, физиопунктура.

Введение

Хронические заболевания органов пищеварительной системы у детей не имеют тенденции к уменьшению их распространенности. Напротив, в научных публикациях последних лет, по данным официальной статистики и углубленных медицинских осмотров, наблюдаются высокие темпы прироста болезней органов пищеварения. По итогам работы педиатрической службы 2005-2010 гг. г. Екатеринбурга хронические заболевания пищеварительной системы в структуре заболеваемости составили 8,5% и 12,6% соответственно [2,5].

Медико-социальное значение указанной патологии определяется не только значительным ее распространением в наиболее ответственные периоды роста и развития ребенка, каким является школьный возраст, но и хроническим рецидивирующим течением, формированием осложненных форм заболевания, в ряде случаев приводящих к инвалидности.

Необходимость длительного дорогостоящего медикаментозного лечения экономически затратна. Повторное пребывание в стационаре в периоде обострения болезни, пропуски занятий в школе, применение ограничительных лечебных диет приводят в совокупности к со-

циальной дезадаптации и ограничивает выбор профессии [6,7,8].

В связи с указанным актуальным является оптимизация и внедрение в педиатрическую практику немедикаментозных методов лечения и реабилитации детей, которые бы позволили уменьшить лекарственную нагрузку на ребенка и способствовать более благоприятному течению заболевания. Стремление избежать нежелательных побочных эффектов медикаментозной терапии, повысить направленность и специфичность воздействия – важный мотив для применения физиопунктуры, к числу которой относят КВЧ-терапию.

С КВЧ-терапией связывают противовоспалительный эффект, который уменьшает длительность абдоминальной боли, устраняет клинические проявления астено-невротического синдрома, проявляющегося чувством слабости и недомогания, лабильностью психоэмоционального тонуса и нарушением сна [1].

Цель исследования: показать эффективность применения физиопунктуры как лечебного фактора у больных с эрозивно-язвенным поражением верхних отделов пищеварительного тракта.

Материалы и методы исследования

Наблюдали 198 больных, в возрасте от 7 до 15 лет. Большинство больных имели давность заболевания от одного года до 5 лет.

В специализированное отделение городской детской многопрофильной больницы № 9 дети были направлены педиатрами-гастроэнтерологами консультативной поликлиники этой же больницы с диагнозом хронический эрозивный гастродуоденит (ХЭГ-128 детей) и язвенная болезнь (ЯБ-70 детей), ассоциированных с Н. pylori в связи с рецидивирующим течением заболевания и безуспешностью ранее проводимой терапии. С целью уточнения проводили ЭГДС с биопсией слизистой оболочки антрального отдела желудка и гистологическое исследование препаратов слизистой оболочки, гистобактериологический метод Гимзы для определения Н. Pylori, реогастрографию (аппарат РЭГ) с оценкой функциональной активности фундального и антрального отделов желудка, позволяющую изучить внутрижелудочную рН-метрию, и обследование на аппарате «Гастроскан-24», дающее информацию не только о внутрижелудочной рН-метрии, но и о количестве ГЭР (гастроэзофагальных рефлюксов) за сутки. Назначали УЗИ органов пищеварения, биохимический анализ крови и копрологический анализ, а так же изучали показатели мембрано-дестабилизирующих процессов, к числу которых относят содержание конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ), мембрано-клеточ-малоновый диальдегид (МДА) и вероятный инициатор актив-

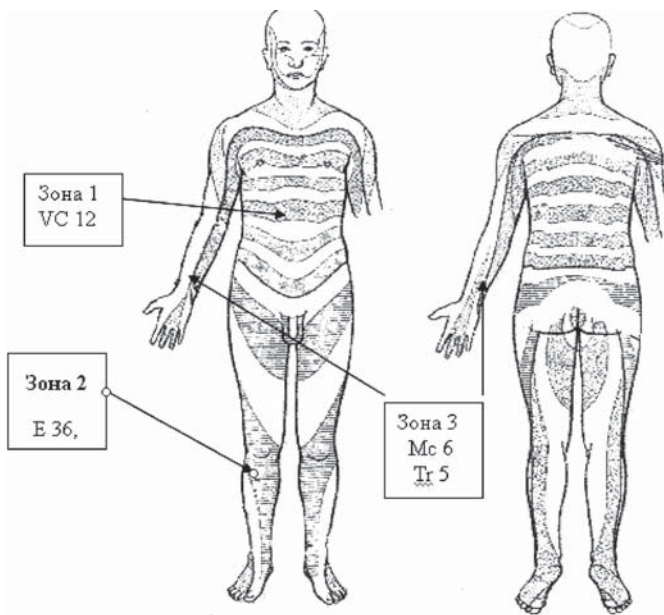


Рис. 1 Зоны воздействия Скэнар-97 и КВЧ

Примечание: Зона 1 – VC-12 – переднее срединного меридиана регулирует секреторную двигательную активность желудка. Зона 2 – E-36 – меридиана желудка отвечает за состояние слизистой желудка. Зона 3 – MC-6 и Tr-5 – меридиана перикарда и тройного обогревателя регулируют парасимпатический и симпатический отдел вегетативной нервной системы соответственно.

ности ПОЛ — R-белки.

Дополнительно изучали состояние вегетативной нервной системы (методом анализа сердечного ритма с помощью электроэнцефалографа-анализатора «Энцефалан-131-03».

Все больные получали физиопунктуру – биорезонансную (БРТ) и мультирезонансную (МРТ) терапию.

Биорезонансная терапия (БРТ) - метод лечения собственными электромагнитными колебаниями больных или их имитирующими. К последним относят СКЭНАР – терапию (самоконтролируемая энергия – нейроадаптивная регуляция). Применяя этот метод, представляется возможным восстановить нормальную электропроводность в определенных участках тела, называемых биологически активными точками (БАТ). Для этой цели использовали аппарат «Скэнар-97».

Мультирезонансная терапия (МРТ) – это терапия внешними сигналами окружающей среды, с которыми организм человека и отдельные его органы и системы входят в резонанс. Среди них можно выделить КВЧ-терапию. Благодаря синхронизирующему воздействию, восстанавливает нормальные по спектру и мощности колебания, свойственные здоровому организму.

Процедуры проводили в три этапа. На первом этапе анализировали электрокожное сопротивление (ЭКС) в биологически активных точках (БАТ) заинтересованных меридианов (рис. 1)

На 2 этапе готовили к процедуре КВЧ терапии биологически активные точки названных меридианов.

Если при измерении электрокожного сопротивления в биологически активных точках (БАТ) на аппарате «Скэнар-97» в режиме диагностики ЭКС было повышенным, а проведение тока минимальным, такое состояние точки называли «закрытой» (точка изолятор). Если электрокожное сопротивление было, напротив, минимальным, а проведение тока максимальным, такое состояние точки называли «открытой» (точка проводник). Среднее значение электрокожного сопротивления между состоянием точек «проводников» и «изолятора» называли точкой «полупроводником» (условно открытой).

3 этап – КВЧ терапии подвергались биологически активные точки с нормальным ЭКС (открытые). В одну процедуру КВЧ-терапии мы брали не более 4 точек акупунктуры. Общее время процедуры не превышало 30 минут. Количество ежедневных процедур на курсе лечения составляло 8-12. В контрольной группе, помимо медикаментозной терапии, больные получали стандартную физиотерапию.

Математико-статистический анализ показателей проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 for Windows. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$ и определяли с помощью параметрических и непараметрических методов статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе анамнестических данных нами было установлено, что наблюдаемые дети имели значительно измененный преморбидный фон. Относительный риск развития заболевания увеличивался при наличии в анамнезе отягощенной наследственности по хроническим заболеваниям гастродуоденальной области, гестоза во время беременности, приема антибиотиков в периоде новорожденности, анемии на первом году жизни, указаний на перенесенные кишечные и пищевые токсикоинфекции [4,5].

В клинической картине доминировал болевой синдром. При анализе абдоминальной болевой симптоматики было установлено, что основными жалобами у больных хроническими эрозивным гастродуоденитом и язвенной болезнью были боли «натошачевого» характера либо ранние, сразу после еды, либо поздние через 1,5 – 2 часа после приема пищи (92% и 91,3% соответственно). Боли локализовались в эпигастральной области либо в области пупка (82% и 72,8% соответственно). Во всех наблюдениях определялась болезненность при пальпации эпигастральной области (симптом Менделя) и в пилородуоденальной зоне (91,4% и 95,1% соответственно). Во многих наблюдениях для купирования боли были использованы препараты – спазмолитики. При осмотре больных обращали на себя внимание проявления интоксикационного симптома и вегето-сосудистой дисфункции (сухость или, напротив, избыточная влажность, неравномерное окрашивание кожи с участками гиперпигментации; сухость слизистой оболочки полости рта; обложенный налетом язык; тахикардия или брадикардия; артериальная гипотензия). Наличие клинических симптомов вегето-сосудистой дисфункции подтверждено данными инструментального обследования больных.

У больных хроническим эрозивным гастритом, как и язвенной болезнью, преобладало влияние парасимпатического отдела вегетативной нервной системы ($AMo = 29,32 \pm 1,3\%$ и $24,24 \pm 1,96\%$ соответственно, Δx (сек) = $0,34 \pm 0,02$ сек. и $0,32 \pm 0,03$ сек. соответственно). Симпатикотонический исходный вегетативный тонус (ИВТ) чаще регистрировали у больных хроническим эрозивным гастритом. Эйтония выявлена у небольшой части больных с хроническим эрозивным гастритом (20,7%), и язвенной болезнью (23,5%). Ваготонический ИВТ имел другие соотношения у детей с язвенной болезнью; эйтонический, ваготонический и симпатикотонический ИВТ отмечены в равных соотношениях.

Несмотря на повторную проводимую эрадикационную терапию с использованием ингибиторов протонной помпы у всех больных хроническим эрозивным гастродуоденитом выявлялась колонизация *H. Pylori*, преимущественно II степени (70,4%). Наряду с этим сохранялась высокая степень воспаления II – III стадии активности и атрофия слизистой оболочки различной степени выраженности. На дне желудочных ямок были выявлены «Крипт-абсцессы». У больных язвенной болезнью в большинстве случаев (64,5%) наблюдались III-я степень колонизации *H. Pylori*, во всех наблюдениях умеренная и выраженная степень воспаления и, как правило, III стадия активности воспалительного процесса при наличии атрофии слизистой оболочки различной степени выраженности.

По результатам внутрижелудочной pH-метрии у 58,5% больных хроническим гастродуоденитом и 56,9% детей с язвенной болезнью кислотность желудочного сока была нормальной или умеренно повышенной.

При эндоскопическом исследовании верхних отделов желудочно-кишечного тракта у больных хроническим эрозивным гастродуоденитом были найдены единичные (64,1%) или множественные (35,9%) эрозии в антральном отделе (21,9%), антральном отделе и теле желудка (30,4%), антральном отделе и двенадцатиперстной кишке (11,9%) либо только в двенадцатиперстной кишке. У больных язвенной болезнью был найден язвенный дефект в двенадцатиперстной киш-

Таблица 1

Частота и характер изменения показателей электрокожного сопротивления в биологически активных точках заинтересованных меридианов у больных эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта в периоде обострения

Показатель ЭКС в БАТ аппаратом СКЭНАР-97	Наблюдаемые дети, n=198 (БАТ-1386)				Показатель достоверности различий, p
	ЭГД, n=128 (БАТ - 896)		ЯБ, n=70 (БАТ - 490)		
	абс.	%	абс.	%	
	1	2	3	4	
Проводник (открытая) (18-22уе)	14	1,56	-	-	-
Полупроводник, (условно открытая) (22-36)	457	51,0	263	53,67	-
Изолятор (закрывая) (45 < > 12)	425	47,44	227	46,33	-

Таблица 2

Динамика исследуемых гистологических показателей слизистой оболочки антрального отдела желудка у больных хроническим эрозивным гастродуоденитом и язвенной болезнью при проспективном наблюдении

Гистологический признак	Наблюдаемые больные				Показатель достоверности различий Р.
	ХЭГ n=95		ЯБ n=45		
	Абс	%	Абс	%	
	1	2	3	4	
Степень колонизации <i>H. pylori</i>					
0 - ст.	72	75,8	26	57,8	2:4 < 0,05
I ст. до 20 микробов в п/зр.	23	24,2	19	42,2	2:4 < 0,05
II ст. от 20 до 40 микробов в п/зр.	-	-	-	-	-
III ст. более 40 микробов в п/зр.	-	-	-	-	-
Степень воспаления:					
I (легкая)	52	54,7	28	62,2	-
II (умеренная)	43	45,3	17	37,8	2:4 < 0,05
III (выраженная)	-	-	-	-	-
Активность:					
I стадия	74	77,8	31	68,8	-
II стадия	21	22,2	14	31,2	2:4 < 0,05
III стадия	-	-	-	-	-
Атрофия:					
Отсутствует	40	42,1	7	15,6	2:4 < 0,01
Различной степени выраженности	55	57,9	38	84,4	2:4 < 0,05

ке (92,9%) либо двойная локализация язвы – желудок и двенадцатиперстной кишке (7,1%).

По нашим данным установлено, что содержание МДА и R-белков повышается в период обострения у большинства наблюдаемых больных (83% и 60,4% соответственно). Указанные изменения активности ПОЛ сопровождались снижением антиокислительной активности (АОА) и значительным повышением супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов. Показатели биохемиолюминесценции (БХЛ) у больных хроническим эрозивным гастродуоденитом характеризовались сниженными уровнями спонтанной и индуцированной БХЛ крови (30,3% и 39,4% соответственно). У то же время у детей с язвенной болезнью преобладали повышенные показатели спонтанной и индуцированной БХЛ крови (52,5% и 37,5% соответственно). Почти у всех больных хроническим эрозивным гастродуоденитом и язвенной болезнью были найдены низкие показатели АОА (74,2% и 87,5% соответственно), избыточное содержание СОД эритроцитов (74,2% и 65% соответственно). Имело место избыточное содержание R-белков, при этом у детей с хроническим эрозивным гастродуоденитом они в 1,5 раза превышали эти же показатели у больных язвенной болезнью независимо от давности гастродуоденальной патологии.

Наряду с изучением клинической картины и проведением морфологических исследований были проанализированы показатели электрокажного сопротивления (ЭКС) в биологически активных точках (БАТ) заинтересованных меридианов (1386 БАТ) (табл. 1).

У наблюдаемых детей проанализировано 1386 биологически активных точек. У больных хроническим эрозивным гастродуоденитом из числа проанализированных БАТ (896) только в некоторых из них (14 - 1,6%) показатели ЭКС были нормальными (открытая БАТ) и можно было назначать КВЧ – терапию. Большинство биологически активных точек (882-98,4%) были не «готовы» к проведению КВЧ-терапии в связи с повышенным ЭКС и минимальным проведением тока (полупроводник или изолятор) и требовали выравнивания, т.е. приведения к нормальным значениям.

У больных язвенной болезнью были проанализированы ЭКС в 490 биологически активных точках и ни в одном наблюдении нельзя было назначать КВЧ терапию без предварительной нормализации ЭКС.

Все больные получали эрадикационную терапию в виде триплекс либо квадротерапии. Результаты клинко-инструментального обследования мы проанализировали через 6-8 недель после выписки детей из стационара. Все больные были выписаны в состоянии ремиссии, что подтверждалось заживлением язвенного дефекта, отсутствием колонизации *H. pylori*. Показатели внутрижелудочной рН-метрии указывали на нормальную кислотность желудочного сока, на аппарате «Гастроскан-24» были зарегистрированы единичные гастроэзофагеальные рефлюксы.

На контрольный осмотр через 1-1,5 года после пребывания в ста-

Таблица 3

Частота и характер изменения показателей ЭКС в биологически активных точках у больных эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта через 1-1,5 года после обострения в период ремиссии

Показатель ЭКС в БАТ Аппаратом СКЭНАР-97	Наблюдаемые дети, n=140 (БАТ-980)				Показатель достоверности различий, Р
	ЭГД, n=95 (БАТ - 665)		ЯБ, n=45 (БАТ - 315)		
	абс.	%	абс.	%	
	1	2	3	4	
Проводник (открытая) (18-22уе)	638	96,0	294	93,3	-
Полупроводник, (условно открытая) (22-36)	27	4,0	21	6,7	-
Изолятор (закрытая) (45 < > 12)	-	-	-	-	-

ционаре пришли 95 больных хроническим эрозивным гастродуоденитом и 45 детей с язвенной болезнью. У всех больных сохранялась ремиссия хронического эрозивного гастродуоденита и язвенной болезни, отсутствие *H. pylori* по данным ХЕЛИК-ТЕСТА. Были отмечены морфологические признаки поверхностного гастрита при нормальных показателях желудочной рН-метрии. Динамика исследуемых гистологических показателей слизистой оболочки антрального отдела желудка у больных эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта при проспективном наблюдении представлена в табл. 2.

Приведенные данные проспективного наблюдения указывали на положительный результат комплексной эрадикационной и КВЧ-терапии у больных хроническим эрозивным гастродуоденитом и язвенной болезнью. Показатели ЭКС в биологически активных точках изучаемых меридианов представлены в таблице 3.

У детей, лечившихся по поводу хронического эрозивного гастродуоденита, были повторно проанализированы ЭКС в 665 биологически активных точках заинтересованных меридианов. Оказалось, что большинство биологически активных точек (96%) имели нормальную электрическую проводимость (ЭКС). У пациентов, лечившихся по поводу язвенной болезни, проанализированы ЭКС в 315 биологически активных точках. Большая часть из них (93,3%) оказались «открытыми».

Больным хроническим эрозивным гастродуоденитом и язвенной болезнью в периоде ремиссии, но с наличием морфологических признаков поверхностного гастрита и дуоденита, а также «условно» открытыми БАТ, мы назначали КВЧ-терапию в виде монотерапии.

Заключение

Полученные нами результаты проспективного наблюдения за детьми с эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта позволяют сделать вывод о том, что использование в педиатрической практике схемы лечения больных с заболеваниями гастродуоденальной локализации, ассоциированных с *H. pylori*, оказываются не всегда эффективными, поскольку не учитывают состояние вегетативной регуляции деятельности органов пищеварения, в частности желудка и двенадцатиперстной кишки. В этих случаях применение физиопунктуры в виде Скэнара и КВЧ – терапии в сочетании с эрадикационной терапией, ранее неизвестные в детской гастроэнтерологии, весьма перспективно. Использование этого метода физиотерапии позволяет нормализовать вегетативное обеспечение функции верхних отделов желудочно - кишечного тракта и получить клинически выраженные положительные результаты лечения, подтвердить их данными рН-метрии и эндоскопического исследования. При проспективном наблюдении за больными положительный эффект сочетанной медикаментозной терапии и физиопунктуры подтверждается не только клиническими, но и гистологическими исследованиями слизистой оболочки антрального отдела желудка.

Указанные методы лечения особенно привлекательны в амбулаторно-поликлинических условиях, в дневных стационарах, не требуют круглосуточного пребывания больных, не нарушают привычного стереотипа общения детей с родителями и позволяют избежать полипрагмазии. Последнее особенно важно для улучшения качества здоровья детей с хронической гастродуоденальной патологией, вынужденных получать длительную противорецидивную медикаментозную терапию.

Литература

1. Баранов К. Н., Перхов В. И., Балувев Е. Е. // Рос. педиатр. журн. — 2010. — № 1. — С. 7 – 12.
2. Маламова Л. Н. // Бюлл. сиб. мед. — 2005. — Прил. № 2. — С. 104 – 105.

3. Чердниченко А. М., Савинова Т. Л., Малямова Л. Н. // Общая врачебная практика. — 2004. — № 2. — С. 18 – 22.

4. Альтман Н. С., Чердниченко А. М., Гуляев В. Ю. и др. Рофэс-диагностика эрозивно-язвенного поражения верхнего отдела желудочно-кишечного тракта у детей и оптимизация методов лечения: Пособие для врачей. — Екатеринбург, 2006. — 34 с.

5. Булатов В. П., Камалова А. А., Удачина Э. И. // Рос. педиатр. журн. — 2009. — № 6. — С. 32 – 34.

6. Чердниченко А. М., Малямова Л. Н. // Вопр. детской диетол. — 2007. — Т. 5, № 1. — С. 50.

7. Детская гастроэнтерология. Избранные главы / под ред. Баранова А. А., Климанской Е. В., Римарчук Г. В. — М., 2002. — С. 209 – 252.

8. Семенюк Л. А. Особенности течения воспалительных заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта у детей, ассоциированных с *H. pylori* [Текст] / Л.А. Семенюк, Н.Е. Санникова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. Приложение 19: сб. материалов 6-го Международного симпозиума «Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *H. pylori*». Екатеринбург, 26 – 27 мая 2003 года. – 2003. – Т. XIII, № 3. – С. 52.

Altman N.S., Kovtun O.P., Cherednichenko A.M. **PHYSIOPUNCTURE AND ITS EFFICACY IN THE TREATMENT OF CHILDREN WITH EROSIVE ULCER DAMAGE OF THE UPPER GASTROIN- TESTINAL CHAMBERS**

Abstract. Materials and methods: 198 patients aged 7-15 yr with chronic erosive gastroduodenitis (CEG) and ulcer disease (UD) were examined. Case histories and family histories of children were studied and ineffectiveness of previous therapies was established. The gastroduodenosco-

py with the biopsy of mucous coat of the antral stomach chamber was performed. *H.pylori* was assessed using the Gimza histobacterioscopic method. Intraventricular pH measurements, Gastroscan – 24, ultra sound examination of the digestive organs were performed. The rates of membrane destabilizing processes and state of the vegetative nervous system were evaluated. The electroskin resistance (ESR) in the biologically active points (BAP) was assessed. Using the analysis of electroskin resistance in the biologically active points of meridians we determined that the majority of BAP in patients with CEG and UD were not prepared for the short wave therapy (SWT) and required their adjusting to the normal levels using SCENAR. **Conclusion:** administration of SWT with the previous SCENAR adjustment to patients with CEG and UD allows to reduce the drug load and increase remission periods during rehabilitation.

Key words: children, chronic gastroduodenitis, ulcer disease, physiopuncture.

Авторская справка
Альтман Никита Сергеевич
Ковтун Ольга Петровна
Чердниченко Александра Марковна

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития
Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32-Б
e – mail: altman-nikita@mail.ru

Authors
Altman Nikita S.
Kovtun Olga P.
Cherednichenko Alexandra M.

GBOU VPO "Ural State Medical Academy", Russia, Yekaterinburg
Russia, Yekaterinburg, S. Derybin street, 32-b,
e – mail: altman-nikita@mail.ru

УДК 616-008.6

Баженова Ю.Л., Захарова С.Ю.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

В статье приводятся данные о состоянии сердечно-сосудистой системы у детей 7-12 лет, страдающих бронхиальной астмой (БА). Дана оценка изменения состояния сердечно-сосудистой системы у детей после проведенного лечения в течении 12 мес. В результате проведенных исследований установлено, что независимо от тяжести течения БА, все дети имеют отклонения со стороны сердечно-сосудистой системы в виде нарушений сердечного ритма, вегетативно-сосудистых дисфункций. Частой находкой при эхокардиографии (ЭХО-КГ) являются малые аномалии сердца, дисфункции клапанного аппарата, функционирующее овальное окно.

Ключевые слова: дети 7-12 лет, бронхиальная астма, сердечно-сосудистая система.

Введение

Бронхиальная астма - распространенное аллергическое заболевание, характеризующееся повторными эпизодами обструкции бронхов, патогенетическую основу которого составляет иммунное воспаление дыхательных путей и гиперреактивности бронхов. Эпидемиологические исследования последних лет свидетельствуют о том, что от 4 до 8% населения страдают БА, в том числе в детской популяции от 5% до 10% (по данным стандартизованных международных исследований ISAAC). Во всем мире отмечается тенденция к росту заболеваемости бронхиальной астмой [7].

Известно, что БА не протекает как изолированное заболевание. Наряду с дыхательной системой, в патологический процесс вовлекается и сердечно-сосудистая система, что связано с нарушением функции внешнего дыхания, гипоксией и гипоксемией, хронической интоксикацией, а также с нарушением функций вегетативной и адреналово-надпочечниковой систем, глубокими изменениями процессов тканевого метаболизма. Используемые для купирования приступа и базисной терапии БА селективные β-агонисты оказывают влияние не только на рецепторный аппарат бронхов, но и на рецепторный аппарат миокарда, вызывая расширение кровеносных сосудов, повышение частоты сердеч-

ных сокращений (ЧСС), атрио-вентрикулярной проводимости, автоматизма волокон проводящей системы, снижение вариабельности сердечного ритма за счет повышения симпатических влияний при значимом улучшении функции внешнего дыхания. [2, 3, 11, 9].

Цель исследования

Оценить состояние сердечно-сосудистой системы и ее изменение на фоне проводимого лечения у детей, страдающих бронхиальной астмой различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись 95 детей в возрасте 7-12 лет (средний возраст $10 \pm 1,69$), больных бронхиальной астмой различной степени тяжести. Из них 68 (71,5%) мальчиков и 27 (28,5%) девочек, что соответствует современным эпидемиологическим данным. Диагноз «бронхиальная астма» верифицирован на основании критериев Национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» (2008г) [7]. Легкое персистирующее течение БА диагностировано у 23 детей (24,2%), среднетяжелое 44 детей (46,3%), тяжелое 28 детей (29,5%). Все дети обследовались вне приступного периода. Состояние сердечно-сосудистой системы оценивалось по данным объективного осмотра, мониторингу артериального давления (АД), ЭКГ, Эхо-КГ. Состояние вегетативной нервной системы и исходного вегетативного тонуса определяли с помощью оценочных таблиц А.В. Вейна (2000г.). Статистическая обработка данных проведена на персональном компьютере с использованием программы описательной статистики «Microsoft Excel» и статистической программы «SPSS», версия 12.0. Обработка полученных данных проводилась по критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), стандартного отклонения (G), ошибки средней величины (m). Значимость различий определялась по параметрическим критериям проверки гипотез о средних и дисперсиях t-критериях Стьюдента, в случае малой численности вариант – критерий Фишера с вычислением достоверности p.

Клинические особенности состояния сердечно-сосудистой системы у наблюдаемых детей с бронхиальной астмой

Наименование признака	БА легкое течение n=23		БА среднетяжелое течение n=44		БА тяжелое течение n=28	
	Абс.	%**	Абс.	%**	Абс.	%**
Частота сердечных сокращений, уд/мин	89,95 ± 13,3		86,75 ± 17,0		92,7 ± 12,1	
Вегетативные нарушения:						
- бледность	11	47,8	21	47,7	13	46,4
- мраморность	20	86,9	31	70,4	9	32,1*
- акроцианоз	18	78,2	28	63,6	16	57,1
- похолодание дистальных отделов конечностей	15	65,2	18	40,9	12	42,8
- дистальный гипергидроз	17	73,9	22	50,0	12	42,8
Изменение характеристики сердечных тонов:						
- акцент II тона над легочной артерией	-	-	5	11,3	6	21,4*
- систолический шум	8	34,7*	6	13,6	5	17,8
- расщепление 1 тона над правым желудочком	-	-	5	11,3	3	10,7
Нарушение сердечного ритма:						
- тахикардия	4	17,3	7	15,9	9	20,4
- брадикардия	6	26,0*	4	9,09	-	-
- дыхательная аритмия	8	34,7	25	56,8	18	75,0
- экстрасистолия	-	-	2	4,5	7	15,9*
Дермографизм:						
- красный	18	78,3	28	63,6	15	53,6
- белый или бледно-розовый	5	21,7	16	36,4	13	46,4

* - частота встречаемости признака в данной группе достоверно выше, $p < 0,05$

** - общая частота наблюдений не соответствует 100% из-за наличия нескольких признаков у одного больного.

Таблица 2

Результаты ЭКГ у наблюдаемых больных с бронхиальной астмой через 12 мес. наблюдения и лечения в сопоставлении с тяжестью течения БА (абс., %)

Жалобы	БА легкое течение n=23				БА среднетяжелое течение n=44				БА тяжелое течение n=28			
	До лечения		После лечения		До лечения		После лечения		До лечения		После лечения	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
ЭКГ соответствует норме	3	13,04*	15	65,21*	-	-	4	9,09	-	-	-	-
Нарушение сердечного ритма и проводимости:	21	91,3*	8	21,73*	41	93,18*	15	34,09*	26	92,85*	14	50,0*
Синусовая брадиаритмия	-	-	-	-	3	6,81	-	-	2	7,14*	1	3,57*
Тахикардия	-	-	-	-	13	29,54*	2	4,54*	9	32,14*	5	17,85*
Предсердный ритм, миграция суправентрикулярного водителя ритма	1	4,34	-	-	4	9,09	-	-	-	-	-	-
Суправентрикулярная экстрасистолия	11	47,82*	5	21,73*	22	50,0	16	36,36	20	71,42*	12	42,85*
Блокада ножек пучка Гиса	2	8,69	-	-	6	13,63*	2	4,54*	1	3,57	1	3,57
Атрио-вентрикулярная блокада I-II ст.	-	-	-	-	2	4,54	-	-	2	7,14	2	7,14
Синоатриальная блокада I-II ст.	-	-	-	-	2	4,54	-	-	9	32,14*	5	17,85*
Укорочение PQ	1	4,34	-	-	-	-	-	-	1	3,57	-	-
Удлинение QT	7	30,43*	2	8,69*	30	68,18*	15	34,09*	19	67,85*	13	46,42*
Ишемические и метаболические изменения в миокарде:	-	-	-	-	3	6,81	-	-	1	3,57	-	-
С/м ранней реполяризации желудочков	-	-	-	-	5	11,36*	2	4,54*	4	14,28*	1	3,57*
Удлинение интервала QTc	2	8,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Увеличение амплитуды P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

** - общее количество наблюдений превышает 100% из-за наличия нескольких признаков

* - $p < 0,05$ – достоверные различия показателей в сравниваемых группах

Результаты исследований и их обсуждение

При анализе медицинской документации было выявлено, что у всех наблюдаемых больных в анамнезе имелись указания на наличие перинатального поражения ЦНС различной степени тяжести (при легком течении БА 43,4% детей, при среднетяжелом 81,81% больных, тяжелом 92,87% детей, $p < 0,05$). Как известно, ПП ЦНС, как правило, сопровождается обменно-электролитными нарушениями и расстройствами центральной гемодинамики [5]. Исходами ПП ЦНС у многих больных является синдром вегетативно-сосудистых дисфункций, в том числе и кардио-васкулярные нарушения, сохраняющиеся на протяжении первых лет жизни детей [10].

Предъявляемые жалобы у наших больных соответствовали клиническим симптомам вегетативно – сосудистых и кардиальных расстройств (утомляемость - 62,1%, одышка при физической нагрузке - 54,73%, метеозависимость - 35,79%, головная боль - 68,42%, сердцебиение - 80,0% и т.д.). Так, при легком течении БА дети преимущественно предъявляли жалобы, характерные для синдрома вегетативных дисфункций (головная боль, потливость, плаксивость, сердцебиение, расстройства сна, не-

переносимость транспорта и душных помещений). При среднетяжелом и тяжелом течении БА эти жалобы сохранялись. Однако достоверно увеличивается количество детей, предъявляющих жалобы на быструю утомляемость и слабость, а также боли в сердце. При объективном осмотре детей обращает на себя внимание высокая частота клинических проявлений синдрома вегетативных дисфункций. Наиболее ярко они проявились у детей с легким и среднетяжелым течением БА. Анализ изменения характеристики сердечных тонов показал, что систолический шум неорганического характера достоверно чаще встречался у детей, имеющих легкую форму заболевания. При среднетяжелом и тяжелом течении процесса частота встречаемости данного признака уменьшается в 2 раза. Наряду с этим у детей со среднетяжелой и тяжелой БА появляется акцент II тона над легочной артерией и расщепление 1 тона над правым желудочком, что мы связали с нарастанием явлений легочной гипертензии на фоне течения основного заболевания, что согласуется с данными других авторов [4, 5, 8]. (табл. 1)

Согласно литературным данным, нарушения сердечного ритма фиксируются у детей с БА независимо от тяжести процесса

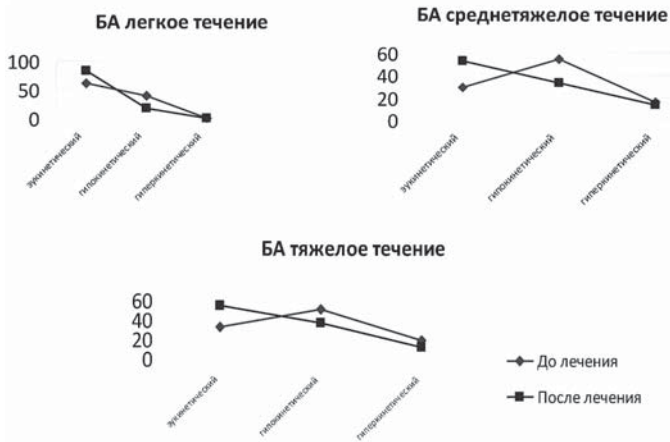


Рис. 1. Характеристика типов центральной гемодинамики у наблюдаемых больных до и после проведенного лечения

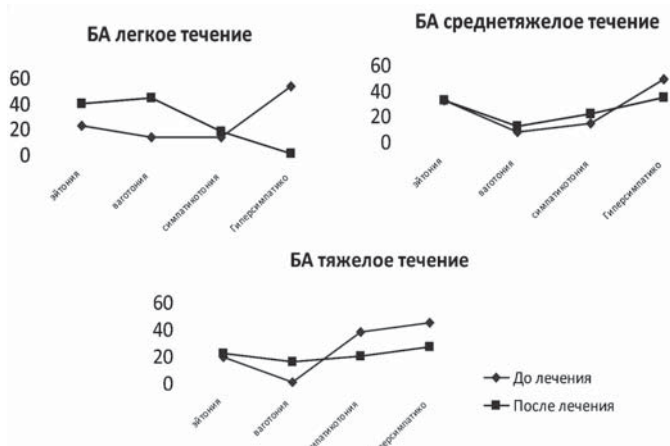


Рис.2. Характеристика исходного вегетативного тонуса у наблюдаемых больных до и после проведенного лечения

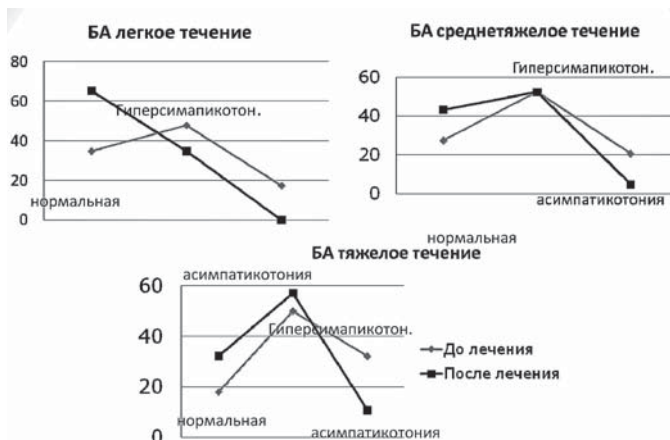


Рис. 3. Характеристика вариантов вегетативной реактивности у наблюдаемых больных до и после лечения

[8]. У наблюдаемых нами детей такие нарушения встречались во всех группах. Частота выявлений тахикардии в соответствии с тяжестью процесса была одинаковой. Наряду с этим дыхательная аритмия регистрировалась чаще у детей со среднетяжелой и тяжелой БА. В этих же группах, по мере утяжеления БА, возрастает число детей с экстрасистолией. Таким образом, у детей со среднетяжелой и тяжелой БА регистрируются не только вегетативные, но кардиальные нарушения.

По результатам оценки клинического состояния вегетативной нервной системы (ВНС) и исходного вегетативного тонуса у всех больных была выявлена вегетативно-сосудистая дисфункция, которая распределилась следующим образом: вегетососудистая дисфункция по ваготоническому типу у 30 детей

(31,59%), по симпатикотоническому типу у 22 детей (23,15%), по смешанному типу у 43 детей (45,26%). При оценке состояния вегетативной нервной системы в соответствии с тяжестью течения бронхиальной астмы, было получено преобладание ВСД по ваготоническому типу (47,82%) при легкой форме заболевания, по смешанному типу (56,81%) при среднетяжелом течении БА, в группе детей с тяжелой БА в равной степени преобладала ВСД по симпатикотоническому (39,28%) и смешанному типу (42,85%).

Всем детям проводилось измерение артериального давления по методу Короткова. Артериальное давление у всех больных находилось в пределах нормальных значений для соответствующего возраста, пола и роста с 10 по 90 перцентиль [6].

При анализе ЭКГ было установлено, что ни у одного ребенка с БА она не была нормальной.

Как правило, у наблюдаемых больных вне зависимости от тяжести БА регистрировались нарушения сердечного ритма и проводимости в виде синусовой брадиаритмии, синусовой аритмии; нарушения внутрижелудочковой проводимости (полная и не полная блокада пучка Гиса), АВ- блокады 1-2 степени. Однако у детей, имеющих среднетяжелую и тяжелую БА были зарегистрированы ишемически-метаболические нарушения в миокарде - синдром ранней реполяризации желудочков, признаки электрической нестабильности миокарда в виде удлинения интервала QTc, что не было характерно для детей с легкой формой бронхиальной астмы.

При проведении Эхо-КГ у всех наблюдаемых больных обнаружены морфологические изменения сердца, а именно: множественные дополнительные хорды в полости левого желудочка 100%, а так же дисфункция клапанного аппарата - трикуспидальная и митральная регургитация, пролапс митрального клапана 1-2ст. Частота этих нарушений увеличивалась параллельно тяжести течения БА. Функционирующее овальное окно (ФОО) чаще было выявлено у детей со среднетяжелой и тяжелой БА ($p < 0,05$). Полученные нами результаты свидетельствует о том, что наличие легочной гипертензии, формирующейся на фоне течения БА, может способствовать функционированию овального окна на протяжении всей жизни, в то же время овальное окно может привести к более тяжелому течению БА [1,3]. Сопоставление изучаемых показателей с тяжестью течения БА позволило выявить отсутствие взаимосвязи между ними. Однако обращает на себя внимание достоверное возрастание частоты выявления функционирующего овального окна параллельно с тяжестью течения БА (при легкой форме 13,04%, при среднетяжелой - 18,18%, при тяжелой - 42,8%, $p < 0,05$).

При оценке типов центральной гемодинамики было установлено, что при легком течении БА наиболее часто выявлялся эукинетический тип (60,86%). При среднетяжелом и тяжелом течении БА картина оказалась одинаковой. Только у трети больных тип центральной гемодинамики оказался эукинетическим (среднетяжелое течение - 29,54%, тяжелое течение - 32,14%). С одинаковой частотой у небольшого числа пациентов найден гиперкинетический тип. У половины больных в обеих группах найден гипокINETический тип (среднетяжелое течение - 54,54%, тяжелое течение - 50,0%), свидетельствующий о снижении компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы на фоне тяжести течения астматического процесса.

Как было изложено, большинство наблюдаемых больных имели и проявления вегетативно - сосудистой дисфункции. В связи с этим нами изучен исходный вегетативный тонус и состояние вегетативной реактивности у наблюдаемых больных с БА по данным кардиоинтервалографии.

Независимо от тяжести течения БА, преобладающим исходным вегетативным тонусом у наших больных оказались симпатикотония и гиперсимпатикотония (у 65,21% при легкой форме БА, 61,35% - при среднетяжелой форме и 71,42% - при тяжелой форме БА). Вероятно, полученные результаты свидетельствовали о напряжении или перенапряжении адаптационно-компенсаторных механизмов на фоне недостаточной активации парасимпатического отдела.

Варианты вегетативной реактивности у наблюдаемых больных с БА выглядели следующим образом. По мере утяжеления течения БА наблюдается отчетливое снижение количества детей с нормальным вариантом вегетативной реактивности. У большинства детей найден гиперсимпатикотонический вариант ВР независимо от тяжести течения БА (у 47,83% при легкой форме БА, 52,28% - при среднетяжелой форме и 50,0% - при тяжелой форме БА), что нами расценено как позитивный показатель, свидетельствующий о достаточных компенсаторных возможностях ВНС при текущей БА. В то же время, по мере утяжеления

БА нарастает количество детей с асимпатикотонией (17,39% при легкой форме БА, 20,45% - при среднетяжелой форме и 32,14% - при тяжелой форме БА). Установлена прямая корреляционная связь между частотой выявления асимпатикотонии и тяжестью течения БА ($r = +0,81$). Частота выявления гиперсимпатикотонического варианта ВР выявлялась примерно с одинаковой частотой при различной степени тяжести течения БА.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что все дети с бронхиальной астмой имеют изменения функционального состояния сердечно-сосудистой системы в виде нарушений сердечного ритма и проводимости, вегетососудистой дисфункции, диспластических изменений со стороны сердца, усугубляющиеся с тяжестью процесса. Поскольку тяжесть изменений сердечно-сосудистой системы у детей с БА коррелирует с тяжестью течения заболевания, тактика лечения и наблюдение данных больных должны быть дифференцированными.

Лечение наблюдаемых детей проводилось в соответствии с рекомендациями Федерального детского кардиологического центра Московского НИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ, учитывая тяжесть течения основного заболевания и выявленных в результате проведенного исследования изменений со стороны сердечно-сосудистой системы.

Комплекс проводимой терапии включал в себя лечение синдрома вегетативной дисфункции, коррекции метаболических нарушений (нормализация режима дня, нормализация кардиocereбральных взаимодействий, восстановление нормальной электрической активности миокарда, улучшение мозгового и периферического кровообращения, физиолечение, бальнеотерапия). На протяжении периода наблюдения, в течении 12 месяцев, проводилась динамическая оценка показателей состояния сердечно-сосудистой системы. Наблюдаемым больным проводилось от 2 до 4 курсов лечения. Дети систематически осматривались педиатром, кардиологом, неврологом, пульмонологом с оценкой эффективности лечения через 6 и 12 месяцев.

При оценке состояния детей после 6 месяцев наблюдения и лечения существенных изменений выявлено не было.

При сравнении результатов клинического и лабораторно-инструментального методов исследования через 12 мес. наблюдения и лечения с данными о состоянии здоровья детей, полученными до проведения восстановительного лечения, было выявлено следующее.

При анализе структуры жалоб, независимо от тяжести течения БА, выявлено отчетливое снижение их количества. Достоверно уменьшилось количество предъявляемых жалоб как вегетативного, так и кардиального характера, однако, только через год после начала восстановительного лечения и коррекции кардиальных нарушений у детей со среднетяжелым и тяжелым течением БА были зафиксированы положительные результаты.

Оценивая частоту выявления клинических признаков вегетососудистых дисфункций по таблице А.В. Вейна (2000), после проведенного лечения достоверно чаще у наблюдаемых детей регистрировалась ВСД по ваготоническому типу независимо от тяжести течения основного заболевания (65,56% при легкой форме БА, 54,54% - при среднетяжелой форме и 46,42% - при тяжелой форме БА). Однако у детей с тяжелым течением БА количество детей с симпатикотонией имело лишь тенденцию к уменьшению, что говорит о сохраняющемся напряжении состояния компенсаторно-адаптационных процессов.

По результатам ЭКГ установлено, что только через год после начала восстановительного лечения и коррекции кардиальных нарушений у детей со среднетяжелым и тяжелым течением БА были зафиксированы положительные результаты. У 4 детей (9,09%) со среднетяжелым течением БА была зафиксирована нормальная ЭКГ. Значительно уменьшилась, почти в 2 раза, частота встречаемости нарушений сердечного ритма и проводимости, а также метаболических нарушений, что скорее можно связать не только с приемом препаратов, улучшающих метаболизм миокарда, но также и с улучшением контроля за течением БА (табл. 2).

При оценке типа центральной гемодинамики через 12 мес. от начала лечения наибольший положительный эффект был зафиксирован у детей с легким течением БА. На 20% увеличилось количество детей, имеющих эукинетический тип гемодинамики, соответственно уменьшилось количество детей, имеющих патологический гипокинетический тип гемодинамики. Хорошая положительная динамика была также зафиксирована у детей с тяжелым и среднетяжелым течением БА. Количество детей, имеющих гипокинетический тип гемодинамики, свидетель-

ствующий о декомпенсации состояния сердечно-сосудистой системы, было выявлено достоверно меньше ($p < 0,05$). В единичных случаях был зарегистрирован гиперкинетический тип гемодинамики. Больше половины детей (63,63% - при среднетяжелом течении, 60,7% - при тяжелом течении) имели эукинетический тип, что свидетельствует об обратимости процессов со стороны сердечно-сосудистой системы у детей с БА при любой степени тяжести на фоне проводимого лечения и достижения уровня контроля основного заболевания (рис.1).

Исходный вегетативный тонус у детей с легким течением БА регистрировался у трети больных – эйтония 39,13% и больше половины детей имели ваготонию 56,52%. Не зарегистрировано ни одного случая гиперсимпатикотонии.

Среди детей со среднетяжелой и тяжелой формой БА встречались все варианты ИВТ. У трети детей сохранялась гиперсимпатикотония (при среднетяжелом течении - 18,18%, тяжелом - 14,29%) и симпатикотония (среднетяжелое течение БА - 11,36%, тяжелое течение БА - 17,86%), однако, у большинства детей регистрировалась эйтония (у детей с БА средней степени тяжести - 36,36%, тяжелой БА - 35,71%) и ваготония (БА средней тяжести - 34,1%, тяжелая БА - 32,14%) в равной степени (рис.2).

Оценивая варианты вегетативной реактивности (ВР) у наблюдаемых больных по данным КИГ, мы получили следующие результаты.

У подавляющего большинства наблюдаемых детей с легким течением БА (62,33%) после проведенного лечения регистрировалась нормальная вегетативная реактивность и гиперсимпатикотония. Детей с асимпатикотоническим вариантом ВР не было. У детей с тяжелой (50,0%) и среднетяжелой БА (47,73%) чаще регистрировалась гиперсимпатикотония, однако достоверно возросло количество детей имеющих нормальный тип вегетативной реактивности (при среднетяжелой БА - 34,09%, у детей с тяжелой БА - 25,0% ($p < 0,05$). В единичных случаях была зафиксирована асимпатикотония (рис.3).

Выводы

На основании проведенных исследований мы заключили, что на фоне лечения адаптационно-компенсаторные возможности вегетативной нервной системы, в том числе регулирующей сосудистый тонус, в зависимости от тяжести БА улучшаются в течении 6-12 месяцев. В связи с этим, все дети, страдающие БА, должны наблюдаться не только пульмонологом, но и кардиологом. В зависимости от тяжести течения БА тактика наблюдения и лечения должна быть дифференцированной. При легкой форме БА - 1 визит в год к кардиологу, при среднетяжелой и тяжелой форме БА больные нуждаются в систематическом наблюдении кардиолога с проведением коррекционных мероприятий не менее 2 - 3 раз в год.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.С. Клиническая эхокардиография у детей и подростков. СПб.: Специальная литература, 1999. 422с.
2. Гуревич М.В., Стручков П.В., Александров О.В. Влияние некоторых лекарственных препаратов различных фармакологических групп на вариабельность ритма сердца. // Качественная клиническая практика - 2002 №1 с.25-27
3. Домбровская Ю.Ф. Руководство по пульмонологии детского возраста. М.: Медицина, 1978. 429с.
4. Коровина Н.А., Захарова И.Н. Вегетативная дистония у детей и подростков. Руководство для врачей. // Педиатрия. - Медпрактика М - 2009, 36с.
5. Котлукова Н.П., Кравцова Л.А., Школьников М.А. Синдром дезадаптации сердечно-сосудистой системы у детей первого года жизни в «Физиология и патология сердечно-сосудистой системы у детей первого года жизни» по ред. Школьниковой М.А.Кравцовой Л.А., - Медпрактика М. - 2002, с58-69
6. Мутафьян О.А. Артериальная гипертензия и гипотензия у детей и подростков. М., 2002г. 114с.
7. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей: стратегия лечения и профилактика» 3-е издание испр. и доп.- М., 2008г.-108с.
8. Осолкова М.К. Кровообращение у детей в норме и патологии. М.; Медицина, 1976. с 275-285
9. Рачинский С.В., Таточенко В.К. Болезни органов дыхания у детей. Руководство для врачей. М.: Медицина, 1988. 430с.
10. Шишмакова М.Ю. Кардиоваскулярные нарушения у детей раннего возраста с перинатальным поражением ЦНС и оптимизация их лечения. // Автореф. дисс. канд. мед. наук.- Екатеринбург 2008 - 22с.

11. Якушина М.Р. Клинико-инструментальная характеристика кардиореспираторной системы и вегетативного гомеостаза у больных хроническим обструктивным бронхитом // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Рязань: 1995 - 24с.

Bazhenova J. L. Zakharova S.J
**EFFECTIVENESS TREATMENT OF THE
CARDIOVASCULAR SYSTEM OF CHILDREN
WITH BRONCHIAL ASTHMA**

Abstract. The article gives the data about a condition of cardiovascular system of 7-12 year-old children, suffering from bronchial asthma (BA). The estimation of changes in the cardiovascular system in children after treatment for 12 months. As a result of the research it is established that all the children have changes of cardiovascular system in the form of heart rate changes, vegetovascular dysfunctions. As a rule all these dysfunctions do not depend on how heavy the BA is. Small anomalies of heart, dysfunction of valve apparatus, a functioning foramen oval can be frequently found in the echocardiography (ECHO-KG).

Keywords: children of 7-12 years, a bronchial asthma, cardiovascular system.

Авторская справка
Баженова Юлия Львовна
Захарова Светлана Юрьевна

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Уральская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

620109 Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Нагорная 48
e-mail: pediatr.fpk@bk.ru

Authors
Bazhenova Julia L.
Zakharova Svetlana Y

State budget institution of higher education "Ural State Medical Academy" Department of Health and Social Development

Russia, Sverdlovsk region, Ekaterinburg, ul. Sermon 48
e-mail: pediatr.fpk@bk.ru

УДК 616.36-008.64

Бессонова Е. Н., Корнилова И. А.

**АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ КАТЕГОРИИ БОЛЬНЫХ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИЕЙ
ХРОНИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕЧЕНИ, НАХОДЯЩИХСЯ В ЛИСТЕ ОЖИДАНИЯ
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ**

Областной гепатологический центр ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Изучение структуры категории больных, имеющих показания для пересадки печени, позволяет отработать максимально эффективную методику ведения их в листе ожидания и предупредить развитие фатальных осложнений до операции. В настоящее время смертность в листе ожидания высока и составляет 38,4%. Тщательное обследование больного до операции позволяет своевременно выявить неблагоприятные факторы и противопоказания для трансплантации, что является особенно важным в условиях дефицита донорских органов.

Ключевые слова: цирроз печени, лист ожидания, трансплантация печени.

Введение.

На протяжении последнего десятилетия стало очевидным, что только трансплантация печени является эффективным, спасающим жизнь методом лечения пациента с циррозом печени. Трансплантация показана тем пациентам с заболеваниями печени, у которых предполагаемая продолжительность жизни составляет менее 1 года или качество их жизни, из-за тяжелой болезни печени, крайне плохое [9]. Основным принципом является прогнозирование того, что выживаемость больного после трансплантации превысит продолжительность его жизни без нее [7]. В то же время, суммируя данные нескольких исследований, проведенных Американским Обществом трансплантологов и Американским Обществом по изучению болезней печени, были сформированы минимальные критерии, по которым больной с тяжелым заболеванием печени может быть включен в лист ожидания (ЛО) трансплантации. Было достигнуто соглашение о том, что только больные с имеющимися на данный момент показаниями для трансплантации должны включаться в ЛО. Больные с расчетом на необходимость такой терапии в будущем включаться в ЛО не должны [7].

Учитывая крайне высокую стоимость трансплантации как метода лечения, особенно важным является отбор пациентов для операции, требующий тщательного и всестороннего обследования больного [2, 9]. При сегодняшнем уровне развития трансплантологии становится очевидным, что претрансплантационное состояние больного во многом определяет послетрансплантационное течение и исход операции [4, 10]. Все трансплантационное сообщество стоит перед лицом жесткого дефицита органов, соответственно, и смертность в ЛО крайне высока.

Одним из самых сложных вопросов является вопрос о выборе времени проведения трансплантации печени для каждого конкретно-

го пациента. Мнения различных авторов по этому поводу достаточно разноречивы, но, в целом, сегодня в мире отмечается тенденция к более ранней постановке показаний к операции [11,12].

В отсутствие определенных стандартов и протоколов, касающихся выбора пациента и определения оптимального времени операции, ведение больных с циррозом в настоящее время является настоящим искусством и требует большего профессионализма, чем когда-либо ранее [6,8]. Разрыв между потребностью в трансплантации печени и наличием донорских органов имеет огромное влияние на смертность в ЛО.

Материал и методы исследования.

За период с 2004 года по 2010 год в областном гепатологическом центре ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1» в ЛО трансплантации печени для пациентов, страдающих циррозом печени в терминальной стадии его развития, было включено 198 пациентов с циррозом печени различной этиологии класса А, В и С по Child-Pugh. Обследование потенциальных реципиентов перед постановкой в ЛО проходило в стационаре ГУЗ «СОКБ №1». Все пациенты обследовались по принятому протоколу.

Результаты и их обсуждения.

В результате проведенной работы из всех пациентов, имевших показания для трансплантации печени, поступавших в Областной гепатологический центр с 2004 по 2010 гг, в ЛО было включено 198 больных.

Распределение больных, включенных в ЛО трансплантации печени на декабрь 2010 года, представлено на рис. 1. В целом, состояние ЛО пересадки печени крайне изменчиво из-за нестабильного состояния пациентов по основному заболеванию, высокой смертности в ЛО и появлению новых больных, отрицательной динамики по сопутствующей патологии у пациентов, включенных ранее и выбывания их из ЛО по этой причине.

На конец 2010 года в ЛО состояло 58 больных, которые после полного обследования по принятому протоколу не имели противопоказаний для операции. Из общего числа включавшихся в ЛО пациентов 76 человек (38,4%) умерли от осложнений цирроза печени, исключая 4 пациентов (5,2%), у которых смерть наступила от причин, не связанных с заболеванием печени.

Среди всех больных, которые включались в ЛО (198 чел.), распределение по этиологической форме было следующим (Рис. 2).

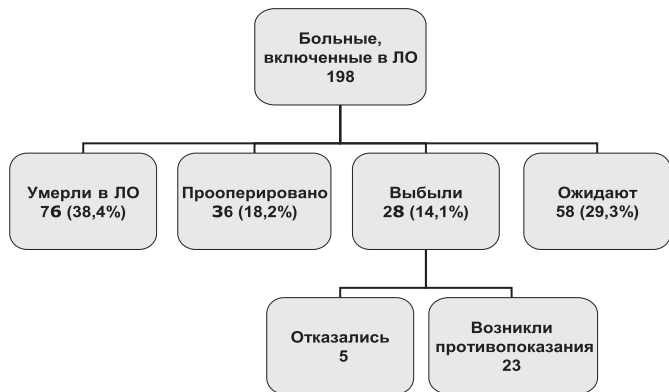


Рис.1. Распределение больных, включенных в ЛО трансплантации печени 2004–2010 гг.

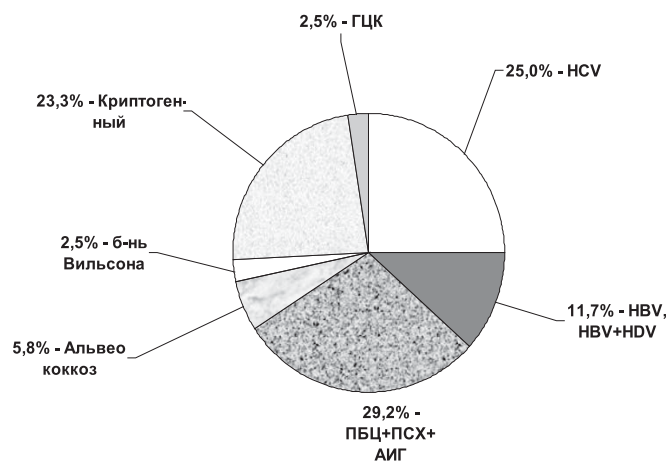


Рис. 2. Доля цирроза печени различной этиологии, среди больных, включенных в ЛО трансплантации печени

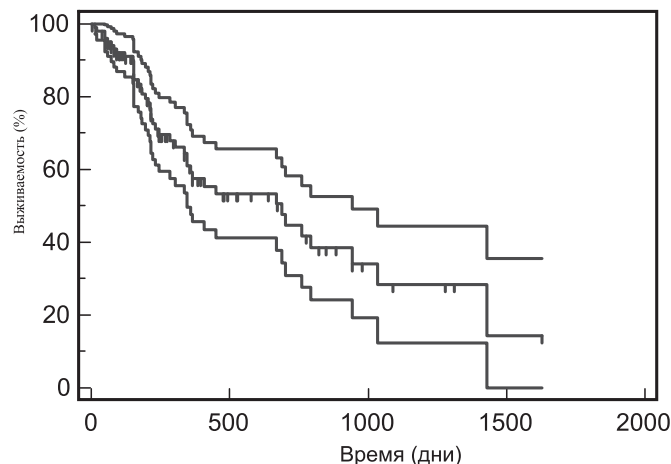


Рис. 3. Выживаемость (в %) во всей группе листа ожидания

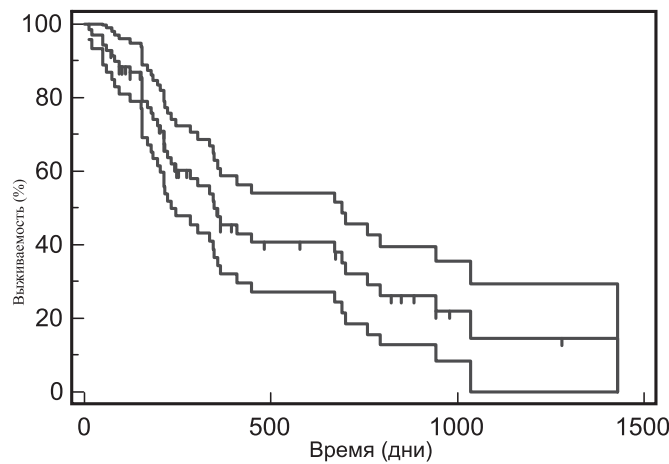


Рис.4. Выживаемость (в %) в группе больных из листа ожидания, кому не была выполнена трансплантация печени

Как следует из рис. 2, больные с вирусной этиологией цирроза составляют самую большую долю среди пациентов, включенных в ЛО трансплантации печени – 36,7% (HCV, HBV, HBV+HDV). Среди них лидирующую роль играл HCV ассоциированный цирроз печени (25%). Следующей по численности группой является группа холестатических и аутоиммунных заболеваний – 29,2%. В нее вошли больные с первичным билиарным циррозом (ПБЦ), первичным склерозирующим холангитом (ПСХ), аутоиммунным гепатитом (АИГ) и перекрестными синдромами (overlap ПБЦ+ПСХ, ПБЦ+АИГ, АИГ+ПСХ).

Таблица 1

Основные характеристики больных в ЛО пересадки печени n=198

Показатель	n	%
Средний возраст (лет)	46,3±7,87 (мин – 23, макс – 60)	
Муж/Жен	71 / 127	35,8 / 64,2
Средний MELD на момент включения (баллы)	17,3 (макс – 38, min – 7)	
Средний балл по Child-Pugh на момент включения (баллы)	10,8 (макс – 13, min – 7)	
Смертность в ЛО (чел)	76	38,4

Таблица 2

Причины летальных исходов у пациентов, включенных в ЛО трансплантации печени (n=76)

Причина смерти	Число больных	% от числа всех включенных в ЛО
Печеночная недостаточность	33	12,5%
Кровотечение из ВРВП пищевода и желудка	26	10,0%
Сепсис	11	4,2%
Злокачественная опухоль другой локализации	4	1,7%
Тромбоз мезентериальных сосудов	2	0,8%

Криптогенная этиология цирроза печени составила 23,3% больных, у которых ни один из методов обследования, проведенного до включения в ЛО, не смог установить причины его развития, а алкогольная природа заболевания печени исключалась по данным анамнеза.

Средний возраст пациентов в ЛО составил 46,3±7,87г (табл.1), то есть в основном лица трудоспособного возраста, максимально перспективного в плане социальной реабилитации и дальнейшего трудоустройства. Большинство составили женщины (64,2%), что можно связать с тем, что 29,2% больных в ЛО пациенты с холестатическими заболеваниями печени аутоиммунного генеза (АИГ, ПБЦ, перекрестные синдромы), которыми в большинстве случаев страдают женщины. Что касается включения в ЛО ряда больных с минимальными показателями по MELD и Child-Pugh, то все эти пациенты имели портальную гипертензию, осложненную кровотечениями из варикозного расширенных вен (ВРВП) II – IV степени и, следовательно, требовали постановки в ЛО. Следует отметить, что наличие у пациентов с циррозом печени варикозного расширения вен пищевода и кардии, имеющиеся в анамнезе кровотечения из них, рассматривались нами, как и большинством других авторов, как показание к выполнению трансплантации печени.

Из пациентов, включенных в ЛО, умерло 76 человек (38,4%). Причины смерти приведены в табл.2, где показано, что наиболее частой из них являлось развитие терминальной печеночной недостаточности и кровотечение из ВРВП пищевода, желудка (и вследствие портальной гастропатии). В эту большую группу больных, умерших от кровотечения, были отнесены как случаи смерти непосредственно на высоте кровотечения (все они были повторными), так и случаи быстро прогрессирующей печеночной недостаточности развившейся вследствие кровотечения. Септические состояния у больных циррозом печени чаще всего обусловлены были развитием спонтанного бактериального перитонита или пневмонии. Среди злокачественных опухолей другой, не печеночной локализации были: лимфосаркома с локализацией в области грудины, опухоли толстой кишки, рак желудка.

Разрыв между потребностью в трансплантации печени и наличием

Таблица 3

Причины выбывания пациентов из ЛО ОТП (n=28)

Причина выбывания	Число больных	% от числа всех включенных в ЛО
Выявление туберкулеза легких	2	1,0
Выявление злокачественной опухоли другой локализации	5	2,5
Метастазирование опухоли печени в другие органы	3	1,5
Прогрессирование тромбоза воротной и селезеночных вен с вовлечением других сосудов	5	2,5
Отказ от операции	5	2,5
Слишком большая тяжесть печеночной недостаточности (too sick to be operated)	7	3,5
Большое распространение альвеококка с вовлечением нижней полой вены и сердца	1	0,5

ем донорских органов имеет огромное влияние на смертность в ЛО. Своевременное выявление и правильная оценка факторов риска, которые могут помочь предсказать летальные исходы в листе ожидания, позволяет снизить смертность. При анализе факторов риска смерти в ЛО в отделении трансплантации шт. Виктория (Австралия) за период с 1988 по 2004 гг, смертность в котором составила в среднем 10,6% в год, были выявлены следующие факторы, связанные со смертью в ЛО: женский пол, фульминантная печеночная недостаточность, I (0) группа крови, более неотложное состояние по классификации United Network for Organ Sharing (UNOS), классу Child-Turcotte-Pugh ≥ 11 баллов, MELD ≥ 20 [5].

На рис. 3 представлена выживаемость (%) во всей группе листа ожидания и границы ее 95% доверительного интервала. Событием в данном случае считалась смерть пациента, цензурированием – операция или выбытие из листа (представлены на графике короткими вертикальными штрихами).

Как следует из рис.3, среднее время до наступления смерти составляло 747 дней (95% ДИ: 590-906). Медиана дожития (момент, к которому в листе ожидания оставалось лишь 50% выживших) составляло 690 дней (95% ДИ: 332-1047).

Для сравнения были проанализированы аналогичные данные для тех пациентов в листе ожидания, кому не была выполнена операция (рис.4). В данном случае событием являлась смерть пациента, цензурированием – выбытие пациента из листа ожидания

Как видно из рис.4, среднее время до наступления смерти в этой группе составляет 559 дней (95% ДИ: 422-694). Медиана дожития (момент, к которому в листе ожидания остается лишь 50% выживших) составляет 347 дней (95% ДИ: 240-453).

Причиной выбывания больных из ЛО у 7 больных (25% из всех выживших) была слишком большая тяжесть заболевания, осложнявшаяся развитием инфекционных осложнений, при которой риск операции был недопустимо высок, при оценке по MELD все они имели более 33 баллов. Все эти пациенты имели быстрое прогрессирование терминальной печеночной недостаточности за время их нахождения в ЛО. Тяжесть состояния больных во всех случаях отягощалась наличием сепсиса, тяжелой коагулопатии, гепаторенальным синдромом (табл.3).

У 3 (1,5%) больных, ранее включенных в ЛО, в процессе наблюдения и повторных госпитализаций, был впервые выявлен туберкулез легких по данным компьютерной томографии грудной клетки, что послужило причиной выбывания больных из ЛО. Все эти больные были взяты на противотуберкулезную терапию в условиях специализированного учреждения.

По мере совершенствования хирургической техники, методов проведения иммуносупрессии, противовирусной терапии, накопления опыта конкретным трансплантационным центром круг противопоказаний для проведения пересадки печени будет сужаться, что позволит включать в ЛО все большее число больных.

Высокий уровень летальности в ЛО, составивший 38,4%, говорит о необходимости дальнейшего развития и увеличения числа трансплантаций печени в Уральском регионе. Основная причина недостаточного количества трансплантаций печени – дефицит донорских органов.

Выводы.

Изучение структуры категории больных, имеющих показания для пересадки печени, позволяет отработать максимально эффективную методику отбора пациентов и ведения их в ЛО, предупреждать развитие фатальных осложнений до операции и тем самым снизить уровень летальности в ЛО. Ведение ЛО включает в себя как минимум два больших раздела работы: первое – это тщательное и комплексное обследование больного до операции, динамическая оценка его степени

тяжести и класса неотложности выполнения операции, второе – своевременное и максимально эффективное лечение развивающихся в процессе ожидания тяжелых осложнений цирроза печени. Такой подход к пациентам в ЛО позволяет своевременно выявить неблагоприятные факторы и противопоказания для трансплантации, что является особенно важным в условиях дефицита донорских органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрейцева О. И., Журавель С.В., Гуляев В. А., Чжао А. В. и др. Ведение пациентов в листе ожидания трансплантации печени // Consilium Medicum Гастроэнтерология. 2006. №2. С. 66-70.
2. Готье С. В., Константинов Б. А., Цирульникова О. М. Трансплантация печени: Руководство для врачей. Москва: МИА. 2008. С. 240 - 246.
3. Хубутя М. Ш., Андрейцева О. И., Журавель С. В., Гуляев В. А. и др. Методика формирования «листа ожидания» трансплантации печени // Трансплантология. 2009. №1. С.13-19.
4. Botta F, Giannini E, Romagnoli P, et al. MELD scoring system is useful for predicting prognosis in patients with liver cirrhosis and is correlated with residual liver function: A European study // Gut. 2003. Vol.52. P.134-139.
5. Fink MA, Berry SR, Gow PJ, et al. Risk factors for liver transplantation waiting list mortality. Liver Transplant Unit Victoria, Victoria, Australia. mafink@unimelb.edu.au PMID: 17201891 [PubMed - indexed for MEDLINE]
6. Forman L.M., Lewis J.D., Berlin J.A., Feldman H.I., et al. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation // Gastroenterology. 2002. Vol.122 (4). P. 889-896.
7. Lucey V.R., Brown K.A., Everson G.T., et al. Minimal criteria for placement of adults on the liver transplant waiting list: report of a national conference organized by the American Society of Transplant physicians and AASLD. Liver Transpl Surg 1997;3:628-37.
8. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease // Hepatology. 2001. Vol.33. P.464-70.
9. Killenberg P. G., Clavien P.A. Medical Care of the Liver Transplant Patient. 3rd Edition. Blackwell Publishing. 2006. P.47-48.
10. Starzl T.E., Demetris A.J., VanThiel D. Liver Transplantation // N Eng J Med. 1989. Vol.321. P.1014-1022.
11. Teperman L. Donor-Transmitted Diseases // Liver Transplantation. 2010. Vol.16 (10). P.40 – 44.
12. Zimmerman H, Reichen J. Assessment of liver function in surgical patient. // Surgery of the liver and biliary tract (edt) L. H. Blumgart. Churchill livingstone.- Edinburgh. London. Madrid. Melbourne. New York and Tokyo/- 1994.-P. 41-64

Bessonova E. N., Kornilova I. A.

ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF POTENTIAL LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS CATEGORY WITH END STAGE LIVER DISEASE

Abstract. Evaluation of the structure of potential liver transplant recipients category allows to develop maximal effective management of waiting list patients and prevention of fatal complications before operation. Now waiting list mortality is high (38.4%). In the era of transplant organ shortage careful medical examination of the patient before the operation and detection of unfavorable facts and transplantation contraindications are of paramount importance.

Key words: liver cirrhosis, waiting list, liver transplantation

Авторская справка.
Бессонова Елена Николаевна
Корнилова Ирина Александровна

Областной гепатологический центр
ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1»
Россия, 620102, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская, 185

Authors
Bessonova Elena N.
Kornilova Irina. A

Regional Hepatological Center
State Health Care Institution «Sverdlovsk Regional Clinical Hospital №1»
Russia, 620102, Ekaterinburg, Volgogradsk street, 185
e-mail:ben@okb1.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭКЗЕМОЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕТОТРЕКСАТОМ

ГОУ ДПО УГМАДО Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, г. Челябинск, Россия

Резюме. Метотрексат является эффективным препаратом для лечения иммунозависимых заболеваний. Лечение больных экземой метотрексатом приводит к продолжительной клинической ремиссии и восстановлению продукции изучаемых нами цитокинов. Одной из клинических форм экземы является почесуха взрослых, в структуре ее заболеваемости занимающая около 20%.

Ключевые слова: экзема, почесуха взрослых, цитокины, метотрексат.

Атопический дерматит (атопическая экзема) является одним из наиболее распространенных кожных заболеваний. На территории Российской Федерации общее число больных АД в 2009г. насчитывало 680 560 человек [5].

Европейская академия аллергологии и клинической иммунологии (ЕААСИ 2003) для больных с повышенным уровнем иммуноглобулина Е (IgE) предусматривает замену термина «атопический дерматит» на «атопическая экзема» (АЭ). Повышение уровня IgE наблюдается у 80-90% пациентов. Почесуха взрослых (ПВ) является одной из клинических форм вышеуказанной патологии.

Почесуха – гетерогенное заболевание, характеризующееся высыпаниями сильно зудящих пруригинозных элементов, расположенных на отечном (уртикарноподобном) основании [9], относящиеся к группе аллергических дерматозов.

ПВ характеризуется приступообразно появляющимися на любом участке кожного покрова, чаще на разгибательных поверхностях конечностей, зудящими папулами, волдырями, папуловезикулами. На месте разрешающихся элементов временно остается пигментация, при расчесах – поверхностные рубцы. Данное заболевание отличается наиболее упорным течением и резистентностью к проводимой терапии. Гистологическая картина при ПВ неспецифична и имеет сходство с подострыми дерматитами, отличиме являются меньшие размеры морфологических элементов при почесухе [12].

Основным иммунологическим нарушением при АЭ является дисбаланс Th1 и Th2 субклассов Т-лимфоцитов в пользу последних с соответствующим им цитокиновым профилем, что приводит к гиперпродукции IgE.

В основе представлений о IgE-опосредованной аллергии лежит понятие атопии – наследственная предрасположенность к усиленному образованию антител класса IgE, находящихся под сложным контролем регуляторных клеток и цитокинов. Большинство аллергической патологии связано с нарушением регуляции продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками и повышенным синтезом провоспалительных цитокинов, способных регулировать синтез IgE при помощи как прямых, так и опосредованных механизмов [2].

Цитокины действуют на местном уровне, в связи с этим концентрация их в сыворотке крови очень мала. При системной патологии цитокины накапливаются в циркуляторном русле, что приводит к тяжелым последствиям. Влияние цитокинов на IgE-опосредованную аллергию осуществляется как на уровне образования антител, так и на росте и дифференцировке эффекторных клеток и синтезе медиаторов аллергии. Функция цитокинов в аллергическом процессе проявляется следующим образом: ИЛ-1 способствует выделению гистамина из базофилов; ИЛ-2 препятствует ИЛ-4-зависимому синтезу IgE; ИЛ-4 праймирует синтез IgE и модулирует воспалительные реакции [4]; ИЛ-6 индуцирует продукцию ИЛ-2 мононуклеарными клетками, активируя таким образом Т-клетки; ИЛ-8 активирует нейтрофилы и макрофаги, является хемотаксическим фактором для нейтрофилов и Т-клеток [4]; ИЛ-10 оказывает противовоспалительное действие за счет блокирования функций макрофагов, дендритных и тучных клеток, участвующих в реализации аллергического воспаления [3]; ИЛ-17 стимулирует выработку ИЛ-1, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8; γ-ИНФ подавляет ИЛ-4-зависимый синтез Ig E и образование лейкотриенов [1]; α-ИНФ подавляет образование Ig E; ФНО-α индуцирует синтез белков острой фазы, вызывает повреждение кровеносных сосудов.

В последние годы для лечения различной аутоиммунной патологии широко применяется метотрексат (МТ). Препарат относят к группе антиметаболитов, он является аналогом фолиевой

кислоты [7]. Биологические эффекты МТ связаны с дозой препарата. Подавление активности дигидрофолатредуктазы, приводящее к иммунодепрессивному эффекту, выявляется только при использовании высоких доз МТ, применяемых в онкологии и гематологии [10]. Клиническая эффективность использования низких доз препарата связана с действием глутаминированных производных, ингибирующих активность 5-аминоимдазол-4-карбоксамидорибонуклеотида, что ведет к избыточному накоплению аденозина, способного моделировать воспалительные и иммунные реакции [7]. В основе противовоспалительного и иммуномодулирующего действия МТ лежат следующие механизмы: индукция апоптоза быстропролиферирующих клеток; ингибция синтеза провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ФНО-α; усиление синтеза противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 [14]. Противовоспалительное действие МТ также связано с подавлением миграции незрелых и «воспалительных» моноцитов из костного мозга в зону воспаления и снижением продолжительности жизни этих клеток в воспаленных тканях [13].

При лечении ревматических заболеваний применяются дозы от 5 до 20 мг/нед. В случае отсутствия эффекта при пероральном приеме или при развитии токсических реакций со стороны желудочно-кишечного тракта следует перейти на парентеральное введение. С целью снижения риска возникновения неблагоприятных реакций при лечении МТ рекомендуется назначение фолатов [6,14]. Доказано, что препараты фолиевой кислоты ослабляют неблагоприятное действие МТ на клетки костного мозга и на клетки предшественники гемопоэза [11]. Отечественная формулярная система рекомендует больным, принимающим МТ, фолиевую кислоту в дозе 1-5 мг/сут [8].

Цель. Определить уровень IgE общего у больных экземой и ПВ, как одной из ее клинических форм. Исследовать содержание цитокинов сыворотки крови у больных ПВ до назначения метотрексата и через четыре месяца его приема.

Материалы и методы. Нами обследовано 826 больных в возрасте от 18 до 82 лет, 26% мужчин и 74% женщин с клиническими проявлениями экземы в фазе обострения, в т.ч. ПВ, у 27 пациентов процесс протекал по типу эритродермии. ПВ клинически верифицирована у 181 больного, среди них 39% мужчин и 61% женщин. В контрольную группу были включены 15 человек, не имеющих в анамнезе аллергической патологии, что подтвердилось результатами обследования методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест».

Из анамнеза пациентов известно, что аллергическая патология в возрасте до 3 лет была диагностирована у 100% больных, в детском возрасте многократные ОРВИ. Ближайшие родственники пациентов страдали различными клиническими формами атопических и аутоиммунных заболеваний. Кроме АЭ у пациентов имели место аллергический ринит (18%), бронхиальная астма (9%), крапивница (11%), лекарственная аллергия (14%), атопическая тотальная (5%) и очаговая (7%) алопеция, пищевая аллергия (61%), витилиго (5%). Заболевания желудочно-кишечного тракта (76%), желчного пузыря и протоков (37%), поджелудочной железы (12%), язвенная болезнь желудка и 12-типерстной кишки (4%). Хронические заболевания носоглотки у 46% больных. Бактериальные инфекции кожи – 76%, вирусные – 11%. Вторую и третью группы инвазивности имели 1,5%.

При осмотре отмечался белый дермографизм, лихенификация, субъективно - интенсивный зуд, эмоциональная лабильность, бессонница, снижение массы тела в период обострения. Наиболее упорное течение АЭ наблюдалось при сочетании с бронхиальной астмой, алопецией, витилиго.

Перед началом терапии МТ пациенты проходили обследование, включающее определение общего IgE, IgG с фракциями, противовоспалительных и провоспалительных цитокинов крови, общий анализ крови с тромбоцитами, биохимический анализ крови, общий анализ мочи. Инструментальные исследования: УЗИ абдоминальной полости, щитовидной железы, органов малого таза у женщин. В процессе лечения обследование включало: общий анализ крови с тромбоцитами – один раз в месяц, биохимический анализ крови – один раз в два месяца.

Исследуемые показатели	До применения МТ/ 4 мес. применения МТ
ИЛ-2	$p < 0,062$
ИЛ-4	$p > 0,048$
ИЛ-6	$p > 0,048$
ИЛ-8	$p < 0,020$
ИЛ-10	$p < 0,020$
ИЛ-17	$p < 0,020$
ИЛ-18	$p < 0,022$
ИЛ-1b	$p > 0,062$
ИНФ-а	$p < 0,020$
ИНФ-г	$p < 0,032$
ФНО-а	$p < 0,016$

Обсуждение.

Среди 826 леченных нами пациентов, IgE у 65% превышает физиологическую норму, характеризую Ig E-зависимую экзему. ПВ верифицирована у 21%, Ig E-зависимая форма у - 60%, IgG зависима у -40%.

При исследовании цитокинов в сыворотке крови больных ПВ до назначения МТ ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, ИЛ-18, а-ИНФ, ФНО-а превышали нормальные значения, что соответствует дисбалансу Th1 и Th2 при аллергической патологии. В результате лечения МТ в течение четырех месяцев показатели ИЛ-18, ФНО-а достигли нормальных значений у всех обследованных пациентов, а ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-17, а-ИНФ нормализовались в 2%, 6%, 10%, 6% случаев соответственно.

В настоящее время МТ рассматривается как один из наиболее эффективных противовоспалительных препаратов для лечения многих иммунозависимых заболеваний. При лечении МТ больных АЭ достигался положительный клинический эффект в виде продолжительной ремиссии (от полугода до нескольких лет) и повышения качества жизни пациентов. Многолетние наблюдения вышеуказанной категории пациентов позволяют констатировать, что при значении IgE более 1000 МЕ/мл требуется длительная поддерживающая цитостатическая терапия в дозе 2,5-0,63 мг в неделю. Полученные нами статистические результаты, свидетельствуют о положительном влиянии МТ на иммунологический статус больных. После 4 месяцев цитостатической терапии показатели провоспалительных (ФНО-а, ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-18) и противовоспалительных (ИЛ-4, а-ИНФ) цитокинов сыворотки крови приближаются или достигают нормальных значений. Наличие у пациентов IgE-зависимого и IgE-независимого процессов диктует необходимость дальнейших исследований в данной области.

Литература.

1. Балаболкин И.И., Тюменцева Е.С. Влияние генетических факторов на развитие атопического дерматита у детей. Педиатрия. – 2009. - том 87. -№2. –125-129с.
2. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы. Цитокины и воспаление. –2007. -том 6. -№2, -26-34с.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. - СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2008.-485-489с.
4. Козлова Н.Н., Прокопенко В.Д. Кожа как иммунный орган. Иммунология, аллергология, инфектология. –2006. -№4. 34-40с.
5. Кубанова А.А., Лесная И.Н., Кубанова А.А., Мелехина Л.Е., Каспирович М.А. Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. -№5. -4-21с.
6. Насонов Е.Л., Соловьёв С.К. Применение метотрексата в ревматологии. М., 2000;19-30.
7. Ревматология: Национальное руководство/ под ред. Е.Л.Насонова, В.А. Насоновой. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. –720с. 207-214.
8. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Москва «ЭХО», 2004; 5: 393.
9. Цветкова Г.М., Мордовцева В.В., Вавилов А.М., Мордовцев В.Н. Патоморфология болезней кожи: Руководство для врачей. – М.: Медицина. -2003. – 110-112с.
10. Alarcon G.S. Methotrexate: Itis use for the treatment of rheumatoid arthritis and other rheumatic disorders. In Arthritis and Allied Conditions. A Text book of rheumatology. 13th Edition. /ed. W.J. Koopman. - Baltimore, Philadelphia, London: Williams and Wilkins, 1997; 1: 679-98.

Лечение проводилось амбулаторно. До назначения МТ больные лечились различными вариантами медикаментозной терапии, включающей глюкокортикоиды, гравитационную хирургию крови, антигистаминные средства, антимедиаторы, антилибраторы, иммуномодуляторы, витамины, нейролептики, транквилизаторы, альфа – адреноблокаторы. Вышеуказанная терапия не приводила к продолжительной клинической ремиссии.

Больные получали цитостатическую терапию МТ в дозах, зависящих от уровня IgE, площади поражения, давности заболевания, массы тела, возраста, наличия сопутствующих заболеваний. Препарат назначали по альтернирующей схеме 1 раз в неделю, внутрь, при наличии противопоказаний - в\м, начиная с максимальной недельной дозы 10 – 20 мг с постепенным снижением до поддерживающей дозы 0,625 мг в неделю. Суммарная курсовая доза не превышала 500 мг. Через 24 часа после приема 20-15-10 мг МТ в неделю больные получали 10-15 мг фолиевой кислоты, при более низких дозах МТ (менее 10 мг в неделю) фолиевая кислота не назначалась. Лечение высокими дозами (20- 15- 10 мг в неделю) длилось, как правило, 2-4 недели, не дожидаясь положительных клинических результатов, доза снижалась в 2 раза на 2-4 недели. МТ в дозе 5 - 2,5 мг пациенты принимали от 4 до 20 недель. Продолжительность терапии в основной массе не превышала 1 года. Клиническое наблюдение продолжалось в течение 5 лет. У 19 пациентов отмечались тошнота, рвота, обострение хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта, в связи с чем 8 больных были переведены на парентеральный в\м прием препарата, 11 – МТ был отменен.

В венозной крови больных ПВ (181 человек), взятой утром натощак, определяли концентрацию некоторых иммуноглобулинов и цитокинов. Первое исследование проводилось в указанной группе больных до назначения МТ, второе – спустя 4 месяца после начала терапии. Обследование проводилось методом иммуноферментного анализа на ИФА-анализаторе Micro Reader 4 производства Нупергон (США). Использовались наборы реактивов ЗАО «Вектор Бест»: «IgE общий-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения до100 МЕ/мл), «IgG общий-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 7,0-16,0 мг/мл), «Подклассы IgG-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения фракций IgG1 4,9-11,4 мг/мл, IgG2 1,5-6,4 мг/мл, IgG3 0,2-1,1 мг/мл, IgG4 0,08-1,4 мг/мл), «Интерлейкин-2-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-10,0 пг\мл), «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-4,0 пг\мл), «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-10,0 пг\мл), «Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-10,0 пг\мл), «Интерлейкин-17-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-5,0 пг\мл), «Интерлейкин-18-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 104-650 пг\мл), «Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-11,0 пг\мл), «альфа-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-5,0 пг\мл), «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-10,0 пг\мл), «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» (нормальные значения 0-6,0 пг\мл).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью прикладных программ BIOPSTAT методами непараметрической статистики. О статистической значимости различий между показателями судили по критерию Уилкоксона. Корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты. При определении уровня общего IgE у 826 больных различными клиническими формами экзем и почесух у 65% IgE был выше нормальных показателей, у 35% - в пределах физиологической нормы. ПВ составляет 21% от общего числа обследованных пациентов, общий IgE был выше физиологических показателей у 60% больных, а у 40% - в пределах нормы. При атопической форме АЭ показатели IgE варьировали от 200 МЕ/мл до 2500 МЕ/мл.

Общий IgG у 25% больных ПВ был выше нормы, у 20% - ниже нормы. Цифровые значения фракций Ig G2, Ig G3, Ig G4 не выходят за пределы физиологических показателей, однако у фракции Ig G1 результаты в 45% случаев ниже нормы. Результаты ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, ИЛ-18, а-ИНФ, ФНО-а больных ПВ до начала приема МТ превышали показатели нормы в 18%, 43%, 33%, 43%, 24%, 33%, 31%, 25% случаев соответственно, показатели ИЛ-10, ИЛ-1b, g-ИНФ соответствовали нормальным значениям. После 4 месяцев приема МТ показатели ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, а-ИНФ превышали норму в 20%, 41%, 27%, 45%, 14%, 25% случаев соответственно, ИЛ-10, ИЛ-1b, ИЛ-18, g-ИНФ, ФНО-а - в пределах нормы.

Были получены статистически положительные взаимосвязи между IgE контрольной группы и атопической ПВ ($p < 0,02$), а также между общим IgG контрольной группы и атопической ПВ ($p < 0,02$), между общим IgG контрольной группы и IgG-зависимой ПВ ($p < 0,02$). При исследовании цитокиновых профилей больных ПВ были получены следующие статистические результаты (таблица).

11. Bauer H., Breitbart A., Brado B. et al. Intravenous intensification of methotrexate therapy in severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1993; 36 (suppl): S232.

12. Lever W.F. *Histopathology of the Skin*. Fifth edition. -Philadelphia, Toronto: J.B.Lippincott Company, 1975; 135.

13. Siegert S., Yin Z, Grolms M. et al. Treatment of Early Rheumatoid Arthritis (Ra) With Methotrexate: Clinical Improvement Correlates With Change In T-Cell Cytokines. 62-nd National Scientific Meeting American College of Rheumatology. Abstract. San Diego. -1998. S. 138 – № 634.

14. Van Ede A.E., Laan R.F., Rood M.J. et al. Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum.* 2001; 44: 1515-24.

munodepend diseases. The results of treatment by methotrexate of patients with eczema are long clinical remission and recovery of synthesis cytokines which are investigated by us. Prurigo simplex is one of clinical forms of eczema and in structure of disease occupies about 20%.

Key words: eczema, prurigo simplex, cytokines, methotrexate.

Авторская справка
Вандышева Мария Александровна
Яровинский Борис Георгиевич

ГОУ ДПО УГМАДО Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, кафедра кожных и венерических болезней
Россия, 454021, г. Челябинск, ул. Молодогвардейцев, 51
e-mail: ybg2007@yandex.ru

Authors
Vandyшева Mariya A
Yarovinsky Boris G.
Ural State Medical Additional Education Academy, Federal Agency for Health Care and Social Development, Russia, Chelyabinsk.
Molodogvardeyev Street 51 Chelyabinsk 454 021 Russia
E-mail: ybg2007@yandex.ru

Vandyшева М.А., Яровинский В.Г.

THE STUDY OF CYTOKINES IN THE SERUM IN PATIENTS WITH ECZEMA AT TREATMENT BY METHOTREXATE

Abstract. Methotrexate is an effective medicine for treatment of im-

УДК 616.381-0023

Галимзянов Ф.В., Прудков М.И., Богомягкова Т.М., Лазарева М.А. РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ТРЕТИЧНЫМ ПЕРИТОНИТОМ С ТЯЖЕЛЫМ АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия;

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Цель исследования: улучшение результатов лечения у больных третичным перитонитом, осложненным тяжелым абдоминальным сепсисом. Материал и методы. Настоящее исследование проведено у 132 пациентов. Пациенты по способу лечения были распределены на две группы: в первую группу вошли 56 больных третичным перитонитом, тяжелым абдоминальным сепсисом, которым проводилось комплексное лечение, санации и дренирование брюшной полости «по требованию» («традиционная хирургическая тактика»); во вторую группу включены 76 пациентов с третичным перитонитом, тяжелым абдоминальным сепсисом, которым применялось комплексное лечение и санации и дренирование брюшной полости «по программе» («предложенная нами хирургическая тактика»). Больные находились в тяжелом состоянии с выраженной полиорганной недостаточностью, риск летального исхода в обеих группах был одинаков. Хирургические методы включали лапаротомию, релапаротомию, санации, дренирование брюшной полости, мини-лапаротомию. Результаты. Применение разработанного алгоритма хирургического лечения больных третичным перитонитом и тяжелым абдоминальным сепсисом позволило улучшить результаты лечения. Длительность нахождения больных в РАО была меньше в 1,4 раза, соответственно, 10,0±1,4 и 14,0±1,9 дней ($P<0,1$). Длительность лечения пациентов в стационаре была меньше на 3,3 дня, соответственно, 29,9±0,9 и 32,2±1,2 дней ($P<0,05$). Летальность была в 2,5 раза меньше, чем при санациях брюшной полости по требованию, соответственно, 21,1% и 51,8% ($P<0,01$).

Ключевые слова: третичный перитонит, тяжелый абдоминальный сепсис, санация, дренирование брюшной полости.

Введение

Третичный перитонит рассматривается как тяжелый абдоминальный сепсис (3). В то же время группа пациентов с третичным перитонитом неоднородна. Течение заболевания сопровождается сепсисом, тяжелым абдоминальным сепсисом, септическим шоком и имеет рецидивирующий характер (4, 5, 6). Еще много спорных вопросов остается в тактике хирургического лечения. Ведущее место в комплексном лечении этой тяжелой патологии занимают санации брюшной полости. В основном они выполняются по требованию при ухудшении клинической картины течения заболевания. Для санации наиболее часто применяют релапаротомию или видеолaparоскопию (1, 2, 7). Традиционная хирургическая тактика лечения этих больных заключается в релапаротомиях по клиническим показаниям и пассивном дренировании брюшной полости трубчатými дренажами в период между санациями (4). Остаются дискуссионными особенности контингента больных третич-

ным перитонитом (клиническая характеристика), риск и причина летальности при применении релапаротомий «по требованию» и традиционном дренировании брюшной полости. Не обоснована необходимость активизации хирургической тактики. Не решены способы дренирования брюшной полости между санациями. Решению этих задач и посвящено настоящее исследование.

Цель исследования: улучшить результаты лечения у больных третичным перитонитом, осложненным тяжелым абдоминальным сепсисом.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности контингента больных, риск и причины летальности при использовании релапаротомий «по требованию» и традиционного дренирования брюшной полости.
2. Обосновать необходимость активизации хирургической тактики.
3. Усовершенствовать методику дренирования брюшной полости в перерывах между санациями.
4. Усовершенствовать хирургическую тактику и оценить ее эффективность.

Материал и методы

Научное исследование носило клинический характер. Изучены результаты комплексного обследования и лечения 132 пациентов с третичным перитонитом и тяжелым абдоминальным сепсисом, госпитализированных в отделение гнойной хирургии №1 ГУЗ «СОКБ №1» за период с 2003 по 2007гг. Распределение больных третичным перитонитом по фазам течения и годам показано на рис.1.

Пациенты по способу лечения были распределены на две группы. В первую группу вошли 56 больных третичным перитонитом, тяжелым абдоминальным сепсисом, которым проводилось комплексное лечение, санации и дренирование брюшной полости «по требованию» («традиционная хирургическая тактика»). Во вторую группу включены 76 пациентов с третичным перитонитом, тяжелым абдоминальным сепсисом, которым применялось комплексное лечение, санации и дренирование брюшной полости «по программе» («предложенная хирургическая тактика»).

Мужчин было 71(53.8%), женщин 61(46.2%). Средний возраст больных составил в первой группе – 45.8±13.7лет, во второй – 43.9±15.1лет. Пациенты поступали на 12.3±10.8 сутки от начала заболевания (первая группа – 13.4±11.6 сутки, вторая группа – 12.1±10.8 сутки) и от первой операции на 7.5±7.8 сутки (первая группа – 7.6 ± 9.0 сутки, вторая группа – 7.5±7.1 сутки).

В исследуемых группах было, как правило, два сопутствующих заболевания.

Таблица 1

Оценка исходного состояния больных в баллах

Шкала	Средний балл		
	Первая группа, n=56	Вторая группа, n=76	Всего, n=132
SOFA	7.1±1.9	7.1±1.8	7.1±1.9
APACHE II	21.6±5.4	21.5±4.3	21.6±4.8
«Екатеринбург-2000»	243.7±103.8	299.8±102.8	275.1±106.9

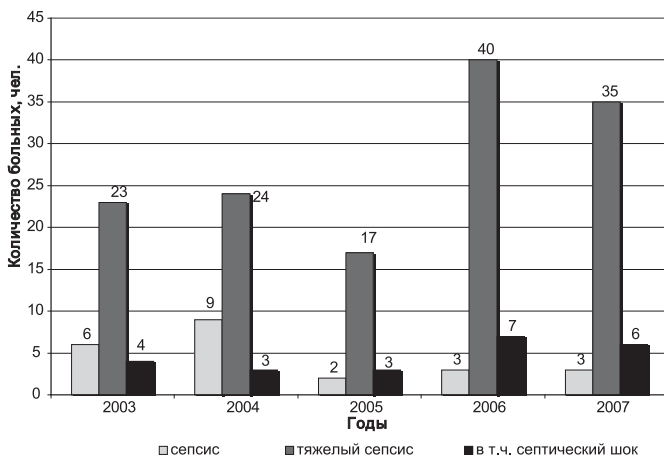


Рис. 1. Распределение больных третичным перитонитом по фазам течения и годам.

Больным проводились ультразвуковое исследование (УЗИ) в режиме реального времени несколько раз в динамике, фиброгастро-доденоскопия (ФГДС), компьютерная томография (КТ).

У большинства больных перитонит был вызван перфорацией и деструкцией органов брюшной полости: перфорация толстой кишки имела место у 33(25%) из 132 человек, воспалительные заболевания придатков – у 26(19.7%) из 132 человек, гнойные осложнения при распространенном некротизирующем панкреатите – 20(15.2%) из 132 человек. По нозологическим причинам перитонита группы существенно не различались между собой.

Всем больным осуществлялась комплексная клиничко-лабораторная диагностика. По клиничко-лабораторным показателям у больных третичным перитонитом выявлялись патологические изменения со стороны системы терморегуляции, сердечно-сосудистой, дыхательной систем. Отмечалась дисфункция со стороны почек, печени, ЖКТ. Выражена была коагулопатия, интоксикация. В день поступления по данным различных шкал («Екатеринбург -2000», SOFA, APACHE II) больные находились в тяжелом состоянии с полиорганной недостаточностью, риск летального исхода в обеих группах был одинаков. Оценка исходного состояния больных в баллах представлена в табл. 1.

По критериям МИП степень тяжести состояния и вероятность летального исхода была высокой. МИПср в первой группе был 31+7 баллов, во второй группе - 31+6 баллов. И по МИП степень тяжести в обеих группах была сходной.

Статистическая обработка полученных данных проводилась согласно методикам математической статистики в клинических исследованиях. Результаты исследования обработаны методами математической статистики с вычислением среднеарифметической величины (M), среднестатистического отклонения (m). Для парных и независимых выборок соответственно рассчитывали вероятность ошибки (p). Изменения считались достоверными при $p < 0.05$ и $p < 0.01$. Определялся доверительный интервал (ДИ), который позволял оценить, в каких пределах могут колебаться истинные значения полученных результатов. Объектом исследования для определения эффекта лечения как клинически значимого явления служил исход заболевания. Изучалась разница в частоте исходов между двумя группами (снижение абсолютного риска – CAP). Кроме этого, вычислялось отношение частоты изучаемого исхода во 2 группе больных к его частоте в 1 группе пациентов (относительный риск – ОР). Значение ОР от нуля до единицы соответствовало снижению риска летального исхода, более единицы – его увеличению. ОР, равный единице, означал отсутствие эффекта. ОР рассчитывался на основе сводной таблицы всех возможных исходов исследования по изучению эффективности лечебного воздей-

Патологический процесс	Третичный перитонит
Септический шок	Купирование явления шока
Тяжелый абдоминальный сепсис	Открытое ведение брюшной полости. Программные санации через 24 часа. Контрапертурное дренирование боковых каналов дополнительными поперечными миниразрезами с использованием широких плоских перчаточных дренажей.
Абдоминальный сепсис	Смена хирургической тактики
Без признаков ССВР	Смена хирургической тактики

Рис. 2. Схема тактического алгоритма ведения больных третичным перитонитом.

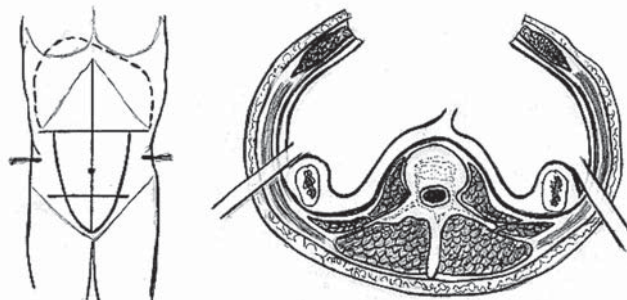


Рис. 3. Мини-доступ на переднебоковой поверхности брюшной стенки

ствия. Другим биостатистическим показателем, использованным в работе, был метод оценки клинической значимости изучаемого эффекта в проспективных исследованиях – снижение относительного риска (COR) летального исхода. Он представляет собой отношение разницы в частотах изучаемого исхода между двумя группами к частоте этого исхода в 1 группе больных. COR выражался в процентах. Значения COR более 50% всегда соответствуют клинически значимому эффекту, от 25 до 50% - очень часто соответствуют клинически значимому эффекту.

В медикаментозном лечении за период с 2003г. по 2007г. изменений не было, действовала программа медицинского обеспечения в РАО.

Пациенты оперировались от поступления в среднем через 24-48 часов (в первой группе – через 38.6±43.7 часов, во второй группе – 26.2±34.0 часов, в общей группе – 31.4±38.8 часов). Хирургические методы включали лапаротомию, релапаротомию, санацию, дренирование брюшной полости, мини-лапаротомию.

В первой группе больных оперативное вмешательство осуществлялось следующим образом. Проводилась срединная лапаротомия (релапаротомия), обеспечивающая возможность полноценной ревизии и санации всей брюшной полости. При необходимости производилась хирургическая обработка краев раны. При ревизии органов брюшной полости ликвидировался источник перитонита при его наличии, патологическое содержимое удалялось, брюшная полость осушалась (брались посевы на микрофлору и чувствительность к антибиотикам), далее многократно промывалась с использованием антисептиков. Санация антисептиком (водным 0,02% раствором хлоргексидина) повторялась до «чистых вод».

После первичной санации брюшной полости дренирование осуществлялось трубчатыми полихлорвиниловыми перфорированными дренажами. Концы трубок устанавливались в подпеченочное, поддиафрагмальное пространство, полость малого таза, а при необходимости дополнительно подводились в брюшную полость перчаточные или перчаточко-марлевые тампоны через отдельные разрезы. Затем укладывались петли кишечника, на них помещался большой сальник (если был в наличии). Рану ушивали послойно или накладывались наводящие швы с помощью шовного материала или пластин для предупреждения прорезывания швов, если выявлялись показания к последующей санации.

Повторная санация проводилась через срединную лапаротомную рану, с промыванием всей брюшной полости, в среднем – через 4.2±5.4 дня.

Во второй группе больных хирургическая тактика определялась разработанным алгоритмом (рис 2).

Оперативное вмешательство осуществлялось следующим образом (патент №2342085, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации, г. Москва, 27 декабря 2008г.). Проводилась срединная лапаротомия, обеспечивающая

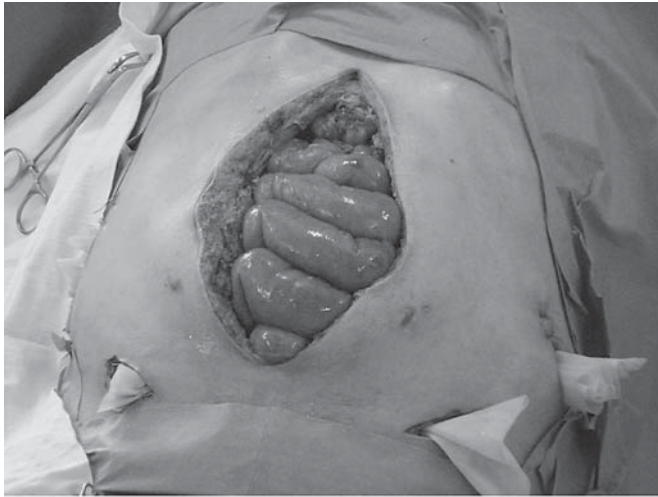


Рис. 4. Косопоперечные мини-разрезы на брюшной стенке



Рис.5. Многослойное обкладывание салфетками пленки и передней брюшной стенки



Рис.6. Ушивание брюшной полости с закреплением швов на передней брюшной стенке при помощи специальных поддерживающих пластин.

возможность полноценной ревизии и санации всей брюшной полости. Патологическое содержимое удалялось, брюшная полость осушалась, многократно промывалась с использованием антисептиков.

После первичной санации брюшной полости на левой и правой переднебоковой брюшной стенке определялось положение передней и средней подмышечных линий и между ними, на середине расстояния между свободным концом 12-го ребра и гребнем подвздошной кости, выполнялось по одному поперечному мини-

разрезу длиной 3-4см через все слои брюшной стенки (рис. 3).

Для этого, вначале на одной, а затем на другой боковой брюшной стенке, с внутренней стороны брюшной полости пальцем находилось отлогое место бокового канала брюшной полости. На середине расстояния между свободным концом 12-го ребра и гребнем подвздошной кости (в проекции найденного отлогого места) выполнялось по одному поперечному разрезу длиной 3-4см (патент №2364347, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации, г. Москва, 20 августа 2009г.).

На передней брюшной стенке (в местах традиционной установки дренажей) выполнялись два-четыре (количество зависит от наличия или отсутствия у больного сформированных стом) косопоперечных мини-разреза брюшной стенки длиной 3-4см (в правом и левом подреберьях, правой и левой подвздошных областях). В каждый мини-разрез устанавливался плоский дренаж шириной 3-4см. В качестве дренажа использовались одна или несколько хирургических перчаток, пальцы которой располагались в брюшной полости веерообразно, а широкая часть выводилась через мини-разрез наружу (рис. 4).

Через эти разрезы дренировались правое и левое поддиафрагмальные, подпеченочное межпетлевые пространства, боковые каналы, полость малого таза и область, прилегающая к срединной ране. После установки дренажей укладывались петли кишечника, на них помещался большой салыник (если был в наличии) и брюшная полость закрывалась перфорированной пленкой или асептической сеткой. Пленка (сетка) многослойно обкладывалась салфетками (открытое дренирование брюшной полости через срединный доступ брюшной стенки), гнойные края раны изолировались от брюшной полости дополнительными салфетками (рис. 5).

Для дополнительного местного дренирования, например, малого таза, где наибольшее скопление экссудата, или для ограничения той или иной области брюшной полости использовались перчаточко-марлевые дренажи. Последующие санации проводились через срединную лапаротомную рану с интервалом 24-48 часов, с промыванием всей брюшной полости и заменой салфеток, пленки (сетки) и дренажей.

При очищении брюшной полости и краев срединной раны, снижении внутрибрюшного давления (обычно после двух-трех плановых санаций) срединная лапаротомная рана послойно ушивалась. В сомнительных случаях производилось провизорное (временное) ушивание брюшной полости с закреплением швов на передней брюшной стенке при помощи специальных поддерживающих пластин (рис.6).

Это позволяло активизировать больного, что улучшало дренирование брюшной полости.

Дальнейшие санации проводились через мини-лапаротомные разрезы раздельно по областям брюшной полости.

Повторение таких санаций осуществлялось через 24-48 часов. При ликвидации явлений перитонита и гнойного отделяемого в какой-либо области брюшной полости санация здесь прекращалась, и продолжалось санирование остальных областей. Заживление срединной и мини-лапаротомных ран, остающихся после удаления дренажей, происходило вторичным натяжением.

Результаты и обсуждение

В первой группе выздоровевших больных состояние оценивалось по различным шкалам как тяжелое на протяжении всего периода пребывания в РАО. Положительная динамика отмечалась с 10-12 суток лечения (табл. 2). Полиорганная дисфункция имела волнообразное течение.

Количество релапаротомий в среднем на человека у этой группы проводилось 3.3 ± 2.8 раза. Повторная релапаротомия осуществлялась через 4.2 ± 5.4 дня. Средний койко-день среди выживших составил 32.3 ± 1.2 дней, среди умерших 16.8 ± 16.3 дней. В среднем в РАО больные лечились 11.6 ± 8.7 дней (выздоровевшие - 14.0 ± 1.9 и умершие 9.6 ± 7.2 дней). Умерли при нарастании явлений ПОН 29 (51.8%) из 56 человек. Результаты патологоанатомического исследования показали, что у 26 (89.7%) из 29 человек были выявлены явления некупированного перитонита.

Во второй группе выздоровевших больных, так же, как и в первой группе, состояние оценивалось по различным шкалам как тяжелое на протяжении всего периода пребывания в РАО (табл.3). Но положительная динамика в тяжести состояния отмечалась раньше - с 4-6 суток.

Количество релапаротомий в среднем на человека у этой группы составило 6.4 ± 3.6 раза. Повторная релапаротомия производилась через 12 - 36 часов.

Средний койко-день среди выживших составил 29.2 ± 0.9 дней, среди умерших 13.2 ± 9.5 дней. Из них в РАО - 10.2 ± 6.9 дней (у выздоровевших 10.0 ± 1.4 , умерших - 10.9 ± 5.8 дней). Умерли

Характеристика тяжести состояния больных по шкалам в баллах в 1 группе больных (выздоровевшие)

Шкала	1–3 сутки	4–6 сутки	7–9 сутки	10–12 сутки	13–15 сутки	16–18 сутки
«Екатеринбург - 2000»	241.4±145.1	209.1±138.4	214.1±144.0	177.9±114.7	168.7±110.3	128.9±104.7
SOFA	7.2±2.6	6.9±2.6	5.7±2.4	4.9±2.5	4.7±2.5	2.7±2.0
APACHE II	21.4±6.9	19.9±4.7	18.9±7.3	15.3±6.7	13.0±5.9	9.8±5.9

Характеристика тяжести состояния больных по шкалам в баллах (выздоровевшие)

	1–3 сутки	4–6 сутки	7–9 сутки	10–12 сутки	13–15 сутки	16–18 сутки
Екатеринбург-2000	300.1±103.3	220.1±114.7	191.6±97.3	141.1±68.4	91.1±83.0	49.9±70.0
SOFA	7.2±2.0	4.4±1.5	4.5±1.6	4.0±0.8	3.6±1.6	2.9±2.3
APACHE II	21.5±7.0	16.9±4.8	15.1±5.5	13.5±6.5	11.8±3.6	10.0±4.1

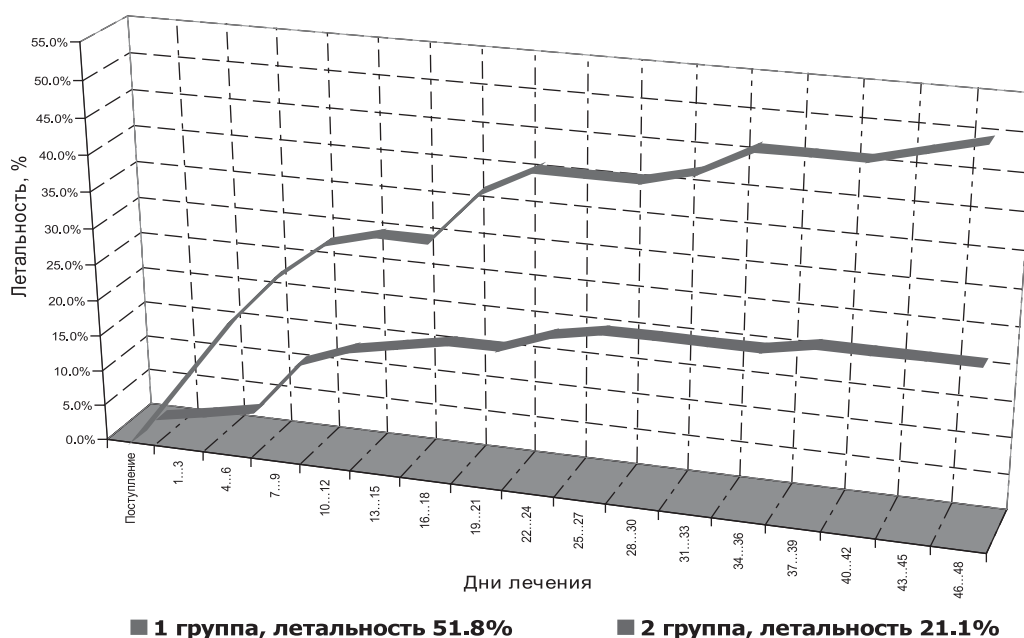


Рис. 7. Летальность посуточная в группах.

16 (21.1%) из 76 человек. Результаты патологоанатомического исследования показали, что у 5 (31.2%) из 16 человек были выявлены явления некупируемого перитонита.

В качестве основных критериев при анализе результатов лечения больных третичным перитонитом, осложненным тяжелым абдоминальным сепсисом, при санациях, дренировании брюшной полости «по требованию» (традиционная хирургическая тактика) и «по программе» выбрали прямые клинические характеристики, к которым относили: длительность лечения в условиях РАО, длительность нахождения пациентов в стационаре и летальность.

Длительность нахождения больных в РАО в основной группе была меньше, чем в контрольной группе, в 1,4 раза, соответственно 10.0 ± 1.4 (ДИ 7.6–12.4) и 14.0 ± 1.9 (ДИ 10.8–17.2) дней, $P < 0.1$.

Длительность лечения пациентов в стационаре в основной группе была на 3,1 дня меньше, чем в контрольной, и составила, соответственно, 29.2 ± 0.9 (ДИ 27.4–31.0) дней и 32.3 ± 1.2 (ДИ 29.9–34.7) дней, $P < 0.05$.

В основной группе из 76 умерли 16 больных, летальность составила 21.1% (ДИ 3.2–39.0%), в контрольной группе – из 56 умерли 29 пациентов. Летальность составила 51.8% (ДИ 26.3–77.3%).

Летальность посуточная в группах представлена на рис. 7.

Итак, летальность в основной группе – 21.1% была в 2.5 раза меньше, чем летальность в контрольной группе – 51.8% ($P < 0.01$).

Снижение абсолютного риска (САР) наступления летального исхода в основной группе – на $30.7 \pm 4.0\%$ при 95% доверительном интервале (ДИ) 15.5–45.9%, $P < 0.01$; снижение относительного риска (СОР) $59.3 \pm 4.3\%$ при ДИ 43–75,6% (соответствует клинически значимому эффекту); $OR = 0.41$ (соответствует снижению риска наступления летального исхода в основной группе).

Проведена визуальная оценка тяжести состояния на графике (линия тренда). Динамика полиорганной недостаточности пациентов по различным шкалам в первой группе представлена на рис. 8. Как видно, положительную динамику в состоянии пациентов наблюдали с 10–12 суток лечения. Наиболее информативны пред-

ставленные изменения были по шкале «Екатеринбург-2000».

Проведена визуальная оценка тяжести состояния на графике (линия тренда). Динамика суммарной балльной оценки тяжести состояния пациентов по различным шкалам во второй группе представлена на рис. 9. В основной группе среди выздоровевших положительная динамика от лечения наблюдалась на 4–6 сутки с тенденцией к дальнейшему улучшению. Наиболее чувствительной оказалась шкала «Екатеринбург-2000».

ВЫВОДЫ

1. Высокая летальность больных третичным перитонитом с явлениями тяжелого абдоминального сепсиса (51.8%) при использовании релапаротомий «по требованию» и традиционного дренирования трубчатых дренажами во многом обусловлена исходной тяжестью состояния пациентов, несвоевременностью и недостаточной эффективностью санации брюшной полости.

2. При определении показаний для проведения очередной санации брюшной полости следует ориентироваться на течение полиорганной недостаточности (тяжелого абдоминального сепсиса) и местного статуса.

3. Для улучшения эффективности пассивного дренирования в перерывах между санациями целесообразно открытое ведение лапаротомной раны, контрапертурное дренирование боковых каналов дополнительными поперечными миниразрезами и использование широких плоских перчаточных дренажей.

4. Активные программные санации брюшной полости через каждые 24 часа и предложенная схема дренирования брюшной полости способствует улучшению результатов лечения третичного перитонита с явлениями тяжелого абдоминального сепсиса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буянов В.М. Плановая послеоперационная видеолапароскопия в комплексном лечении распространенного перитонита. [Текст] / В.М. Буянов, Г.В. Родман, Л.А. Лаберко // Актуальные проблемы

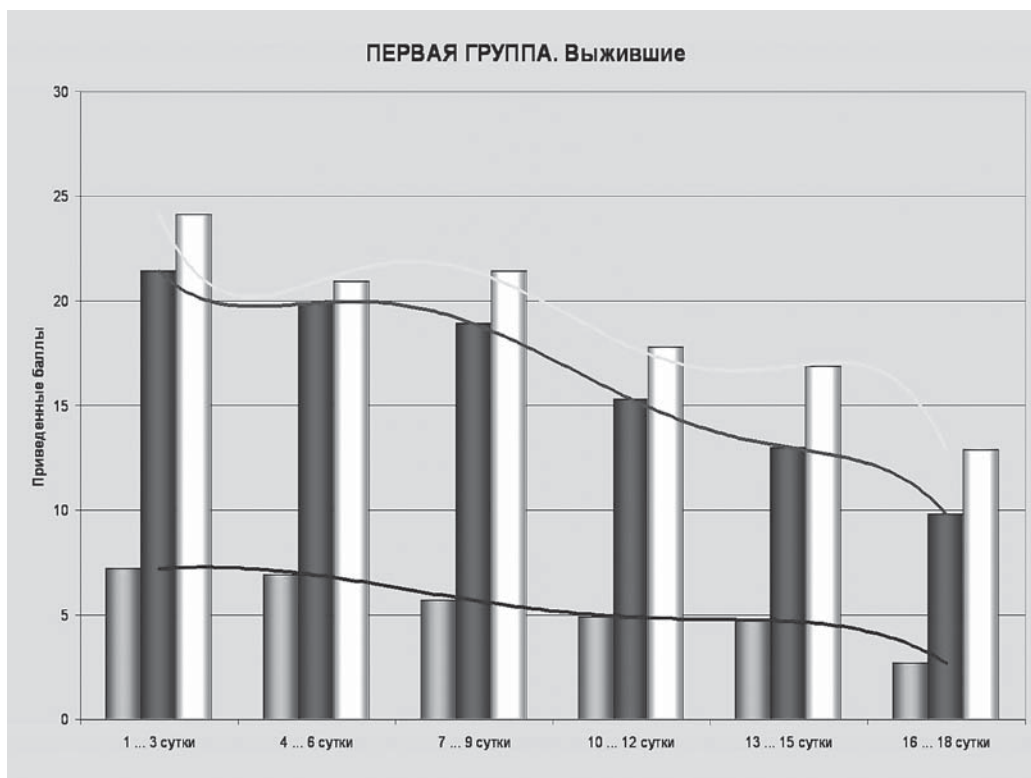


Рис. 8 Динамика полиорганной недостаточности, первая группа.

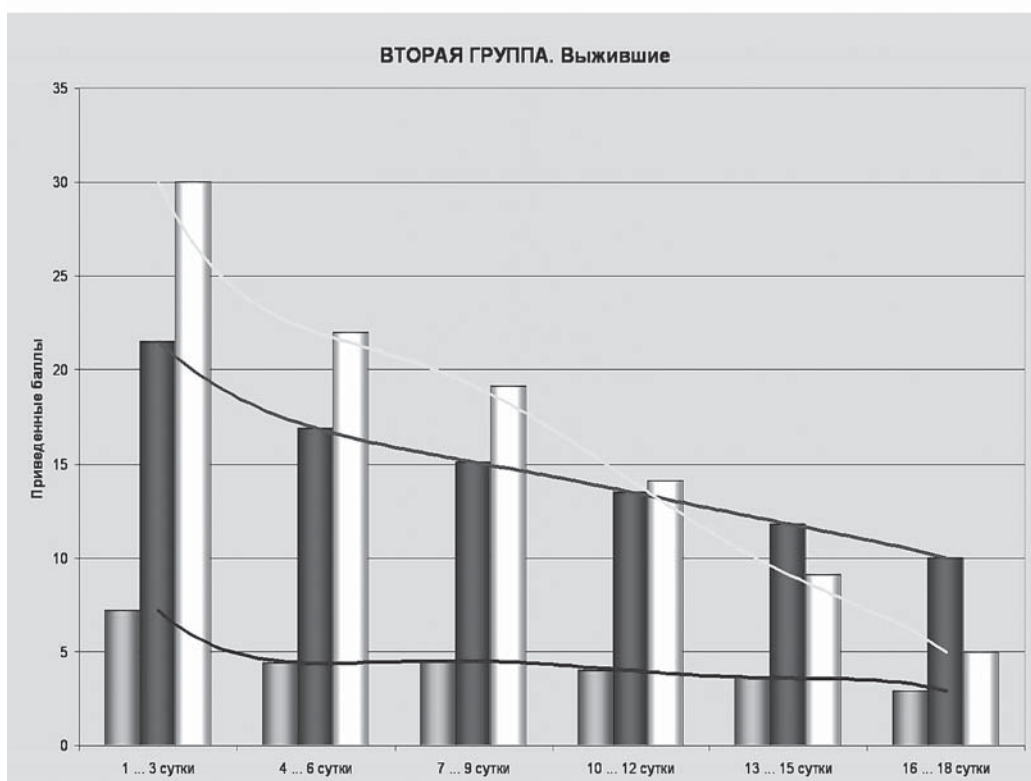


Рис. 9 Динамика полиорганной недостаточности, вторая группа.

и перспективы развития эндохирургии. Материалы 2-го конгресса Ассоциации хирургов им. Н.И. Пирогова. СПб.: Человек и здоровье. – 1998. - С.15–17.

2. Лобаков А.И. Лапароскопическая санация брюшной полости как дополнение и альтернатива этапных лаважей брюшной полости при перитоните [Текст] / Лобаков А.И., Ватазин А.В., Филижанко В.П., Грингауз В.Б. // Второй Моск. междунар. конгр. по эндоскоп, хирургии. – М., 1997. –С. 176-177.

3. Савельев В. С., Гельфанд Б. Р., Филимонов М. И. Перитонит. Практическое руководство. Москва. Издательство «Литера». 2006

ISBN 5-98216-046-6.

4. Савельев В.С. Релапаротомия в хирургии распространенного перитонита [Текст] / В.С.Савельев, М.И.Филимонов, П.В.Подачин., В.А.Ступин // Инфекции в хирургии. - 2007. – Т. 5. № 3. – С. 6 - 13.

5. Шапошников В.И. К вопросу лечения терминального распространенного гнойного перитонита [Текст] / В.И. Шапошников, А.Я. Коровин // Харьковская хирургическая школа. - Харьков. - 2008.- № 2. - С. 304 - 306 .

6. Nathens A.B. Tertiary Peritonitis Clinical features of a complex nosocomial infections [Text] / A.B. Nathens, O.D. Rotstein, J.C. Mar-

shall // World J Surg. - 1998. - № 22. P. 158–163.

7. Santillana M. Surgical complication of tuploid fever: Enteric perforation // World J. Surg. – 1991. – Vol. 15. – No. 2. – P. 170-175.

*Galimzyanov F.V., Proudkov M.I.,
Bogomyagkova T.M., Lazareva M.A.*
**SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH
TERTIARY PERITONITIS COMPLICATED
WITH GRAVE ABDOMINAL SEPSIS**

Abstract. Aim of investigation: improvement of results of treatment in patients with tertiary peritonitis complicated with grave abdominal sepsis. Materials and methods: the present investigation is performed in 132 patients. According to the way of treatment the patients were divided into 2 groups: the first (control) group included 56 patients with tertiary peritonitis, grave abdominal sepsis who got complex treatment, sanitations and abdominal cavity drainage according to “clinical indications”. The second (main) group included 76 patients with tertiary peritonitis, grave abdominal sepsis who got complex treatment and a surgical treatment algorithm which we have worked out. The patients were in grave condition with marked polyorgan insufficiency, with equal risk of lethality in both groups. Surgical methods included laparotomy, relaparotomy, sanitations, abdominal cavity drainage, mini – laparotomy.

Results: application of the elaborated algorithm for surgical treatment of patients with tertiary peritonitis and grave abdominal sepsis made it possible to improve the results of treatment. Intensive ward stay was 1.4 times less accordingly, 10.0 ± 1.4 days and 14.0 ± 1.9 days ($P < 0.1$). Hospital stay was 3.3 days less accordingly, 29.0 ± 0.9 days and 32.3 ± 1.2 days ($P < 0.05$). Lethality was 2.5 times less as compared with abdominal cavity sanitations according to “clinical indications”, accordingly 21.1% and 51.8% ($P < 0.01$).

Key words: Tertis peritonitis, severe abdominal sepsis, sanitization, drainage of abdominal cavity

Авторская справка

Галимзянов Фарид Вагизович

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург;
ГОВ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

Прудков Михаил Иосифович

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург;
ГОВ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

Богomyagkova Татьяна Михайловна

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург

Шаповалова Ольга Петровна

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург

Адрес: Россия, 620102, г. Екатеринбург, Волгоградская, 185, ГУЗ «СОКБ №1»
e-mail: isurg@okb1.ru

Authors

Galimzyanov Farid V.

Sverdlovsk regional hospital №1; Ural State Medical Academy

Proudkov Michail I.

Sverdlovsk regional hospital №1; Ural State Medical Academy

Bogomyagkova Tatyana Michaylovna

Sverdlovsk Regional Hospital №1

Shapovalova Olga Petrovna

Sverdlovsk Regional Hospital №1

Адрес: Russia, 620102, Ekaterinburg, Volgogradskaya street 185, Sverdlovsk Regional Hospital №1

e-mail: isurg@okb1.ru

УДК 616.37-002.1-07

Галимзянов Ф.В., Прудков М.И., Шаповалова О.П.

**ИНФИЦИРОВАННЫЙ ПАНКРЕАТОГЕННЫЙ ИНФИЛЬТРАТ, ПАНКРЕАТОГЕННЫЙ
АБСЦЕСС И ПАНКРЕАТОГЕННАЯ ФЛЕГМОНА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ**

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург, Россия; ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Изучены истории болезни 811 пациентов с инфицированными формами некротизирующего панкреатита. 119 (14,7%) больных были с инфицированным панкреатогенным инфильтратом, 154 (19,0%) пациента - с панкреатогенным абсцессом, 538 (66,3%) больных лечились по поводу панкреатогенной флегмоны. Комплексная клиничко-лабораторная диагностика включала такие методы исследования, как УЗИ, ФГДС, КТ. Выделены основные клинические формы инфицированного панкреонекроза, в зависимости от этого определялась и хирургическая тактика.

При инфицированном панкреатогенном инфильтрате лечение – консервативное, при панкреатогенном абсцессе - лечение хирургическое: навигационная пункция, пункционное дренирование, дренирование из минидоступа. У больных панкреатогенной флегмоной лечение хирургическое, предпочтительнее наружное дренирование через мини-разрезы с формированием единого пространства и последующие программные санации гнойной полости, захватывающей все пространство пораженной брюшинной клетчатки.

Ключевые слова: больные, инфицированный панкреатогенный инфильтрат, абсцесс, флегмона, диагностика, ФГДС, УЗИ брюшной полости, КТ брюшной полости, лечение.

Введение

Летальность среди больных тяжелым панкреатитом составляет 20-30% [1,2,3]. Причиной смерти в 80% случаев являются инфицированные формы некротизирующего панкреатита [4,5]. Выделяют три основных типа эволюции инфекционного процесса - это инфицированный панкреатогенный инфильтрат, панкреатогенный абсцесс и панкреатогенная флегмона [6]. При инфицирован-

ных формах панкреонекроза летальность, по данным различных авторов колеблется от 30 до 70% [7,8]. Причиной такой высокой летальности может быть поздняя диагностика заболевания и неадекватная лечебная тактика [9].

В большинстве случаев инфицирования панкреонекроза степень деструкции паренхимы поджелудочной железы (ПЖ) уходит на второй план, а поражение брюшинной клетчатки может определять клиническую картину этого тяжелого заболевания [10]. Особо хотелось бы подчеркнуть, что патологические процессы в брюшинном пространстве могут быть ограниченными и распространенными.

Одним из предметов дискуссии при решении вопросов лечения тяжелых форм острого панкреатита является инфицированный панкреонекроз и гнойные осложнения. Правильная постановка диагноза может наполовину решить исход заболевания. Инфицирование зон панкреатогенной агрессии нередко происходит уже в первые дни заболевания. Однако сам факт инфицирования еще не означает обязательности возникновения гнойных осложнений. Не решен вопрос о показаниях к операции при панкреатогенных инфильтратах. Недостаточно четко определена практическая значимость тонкоигольной пункции в диагностике инфицированного панкреонекроза и его гнойных осложнений. Не решен вопрос о выборе хирургического пособия у больных панкреатогенным абсцессом, панкреатогенной флегмоной. Требуется уточнения организация хирургической помощи пациентам с инфекционными осложнениями панкреонекроза в масштабах города, региона.

Цель исследования – улучшение диагностики и повышение эффективности лечения у больных инфицированными формами

некротизирующего панкреатита.

Материал и методы

Наша клиника много лет занимается концентрацией больных с инфицированным панкреатитом и гнойными осложнениями панкреонекроза из общей сети хирургических стационаров Свердловской области (население - 4,5 млн. человек). К настоящему времени мы располагаем опытом лечения около 1000 подобных пациентов. Для анализа мы взяли группу больных из 811 человек. Из них 119 (14,7%) пациентов были с инфицированным панкреатогенным инфильтратом, 154 (19,0%) - с панкреатогенным абсцессом, 538 (66,3%) - с панкреатогенной флегмоной. Соотношение мужчин и женщин было 4:1. Средний возраст пациентов 42+1,86 лет. Преобладали пациенты работоспособного возраста от 20 до 59 лет. Они составили 638 (78,7%) человек.

Все 811 больных ранее перенесли тяжелый острый панкреатит (Атланта, 1992). Как правило, дальнейшей эволюции инфекционного процесса способствовали неэффективная антибактериальная терапия, исходное массивное инфицирование и ранние операции на клетчаточных пространствах.

Средние сроки от начала заболевания до выявления клинической формы заболевания у больных панкреатогенным инфильтратом составили 8+0,7 дней; панкреатогенным абсцессом - 15+0,6 дней и панкреатогенной флегмоной - 16+0,6 дней. Панкреатогенная флегмона и абсцесс развивались позднее, чем инфицированный панкреатогенный инфильтрат в 2 раза ($P < 0,01$).

До поступления в нашу клинику 258 (31,8%) из 811 пациентов были ранее оперированы в остром периоде в стационаре по месту жительства при отсутствии признаков инфицирования.

В группе пациентов с панкреатогенным инфильтратом оперированы 37 человек: закрытые оперативные вмешательства выполнены 12 (32,4%), открытые - 25 (67,6%) пациентам.

В группе пациентов с панкреатогенным абсцессом из 53 больных закрытые вмешательства произведены 20 пациентам (37,7%), открытые - 31 (58,5%) и на забрюшинной клетчатке - 2 (3,8%) пациентам.

В группе пациентов с панкреатогенной флегмоной оперированы 168 больных: закрытые оперативные вмешательства (диагностическая лапароскопия, ЭПСТ) выполнены 58 (34,5%) больным, открытые (лапаротомия, МЛТ) - 59 (35,1%) и на забрюшинной клетчатке (оментобурсостомия, люмботомия) - 51 (30,4%) больным.

Всем больным осуществлялась комплексная клиничко-лабораторная диагностика, включая УЗИ, ФГДС, КТ.

Признаки инфицирования панкреонекроза устанавливались на основании клинических и лабораторных данных (повышение температуры тела до фебрильных цифр, лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг в формуле крови, положительный посев на микрофлору или наличие гнойного содержимого при тонкоигольной пункции инфильтрата).

Проводили формализованную оценку степени тяжести состояния больных. Первичная оценка тяжести состояния больных панкреатогенным инфильтратом подразумевала клиническую дифференциацию на основании анамнеза, клиники, лабораторной диагностики и выявления выраженности местной и общей симптоматики.

Последующая оценка тяжести течения заболевания строилась на анализе клиничко-лабораторных шкал интегральной оценки параметров физиологического состояния больного.

Для интегральной оценки тяжести состояния использовали шкалу APACHE II, для оценки сепсис-ассоциированной органной недостаточности применили балльную оценку по шкале SOFA. Для ежедневного контроля течения заболевания и его тяжести применили Екатеринбургскую шкалу-2000г. (ШПОН) с определением индекса полиорганной дисфункции.

Применив мультифакторные балльные шкалы SOFA, APACHE II, Екатеринбург 2000, вычислили средние значения баллов.

У больных панкреатогенным инфильтратом оперативные вмешательства в зоне воспаления (оментобурсостомия, ретроперитонеостомия) при поступлении в специализированное отделение были предприняты у 23 пациентов в связи с отсутствием положительной динамики от консервативного лечения.

Санационная видеолaparоскопия и холецистостомия из мини-доступа при гипертензии в желчеотводящих путях была выполнена у 20 больных с перитонитом без вмешательства в зону поражения ПЖ и забрюшинную клетчатку. 54 пациентам производилась тонкоигольная пункция. 22 человека лечились только консервативно, несмотря на явные признаки инфицирования. Всего три последние группы составили 96 человек.

Основные направления консервативной комплексной терапии

включали:

1. Интенсивную терапию, а в условиях РАО и проведение мониторинга органных дисфункций с последующей коррекцией выявленных нарушений. Лечение полиорганной недостаточности (ПОН) осуществлялось по клиническим показаниям.

2. Ингибирование экзокринной секреции поджелудочной железы препаратом «Сандостатин» (300 – 600 мкг/сут.), H_2 блокаторами (в последнее время мы отказались от H_2 блокаторов, заменив их на ингибиторы протонной помпы)

3. Антибактериальную терапию. В комплекс лечения включали антибиотики широкого спектра действия (цефалоспорины III и IV поколений, карбапенемы, фторхинолоны в комбинации с метронидазолом).

4. Парентеральное питание, нутритивную поддержку.

В группе больных панкреатогенным абсцессом 5 (3,2%) из 154 человек лечились с помощью однократной навигационной пункции под контролем УЗИ, размеры абсцессов не превышали 5 см и в полости абсцесса отсутствовали секвестры.

16 (10,3%) из 154 пациентов проводили пункционное дренирование абсцесса также под контролем УЗИ, размеры абсцессов были в пределах 7 см и в полости абсцесса также отсутствовали секвестры.

133 больным абсцессы дренировали из мини-доступа. Размеры абсцессов были более 7 см. У 124 человек в полости абсцессов находили секвестры. У 30 человек абсцессы оказались многокамерные, распылчатой формы.

В группе больных панкреатогенной флегмоной 353 пациентов лечились по предложенному нами алгоритму с применением минимально инвазивных хирургических методик.

Объем поражения забрюшинной клетчатки стремился определить до операции, ориентируясь на данные УЗИ, КТ.

Дренирование осуществляется тремя типами малых доступов. Четыре передних были расположены в проекции соответствующих квадрантов клетчаточных пространств (забрюшинную клетчатку условно делим брыжейкой ободочной кишки и позвоночником на 4 квадранта). Два задних (люмботомии) дополняли дренирование и формировали условия для сквозного промывания любого из квадрантов.

На рис.1 представлена схема мини-доступов в забрюшинное пространство при забрюшинной панкреатогенной флегмоне.

Объем дренирования определяли в соответствии с предполагаемой распространенностью поражения забрюшинной клетчатки. При этом каждый разрез формировали с таким расчетом, чтобы его можно было использовать в последующем для многократной программной санации образующихся полостей с помощью специальных инструментов Мини-Ассистент (рис. 2) и ретроперитонеоскопов (рис. 3).

Необходимо уточнить, что такой способ дренирования требует точной топической диагностики и опыта у хирургов. В условиях специализированного центра обеспечивает практически те же возможности для дренирования, секвестрэктомии и программных санаций, что и при традиционных. Преимущество в том, что больные легче переносят операцию и последующие программные санации

Главная цель вмешательства – создание широкой и хорошо дренируемой полости, объединяющей все выявленные очаги некроза и нагноения.

185 пациентов лечились традиционно с применением широкой лапаротомии и люмботомии.

Результаты исследования обработаны методами вариационной статистики с вычислением среднеарифметической величины (M), ошибки средней (m), среднеквадратического отклонения (G), критерия достоверности Стьюдента (t) и уровня значимости (p) на компьютере Pentium 166 MMX с применением пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение.

Средние сроки от начала заболевания до выявления клинической формы заболевания у больных панкреатогенным инфильтратом составили 8+0,7 дней; панкреатогенным абсцессом 15+0,6 дней и панкреатогенной флегмоной 16+0,6 дней. Панкреатогенная флегмона и абсцесс развивались позднее, чем инфицированный панкреатогенный инфильтрат в 2 раза ($P < 0,01$).

Мы выявили некоторые различия в клинических проявлениях заболевания, что давало основание заподозрить ту или иную форму инфицированного панкреонекроза. Так, болевой синдром, наличие пальпируемого образования в брюшной полости и симптом Керте оказались более характерными для пациентов с инфицированным панкреатогенным инфильтратом и панкреато-

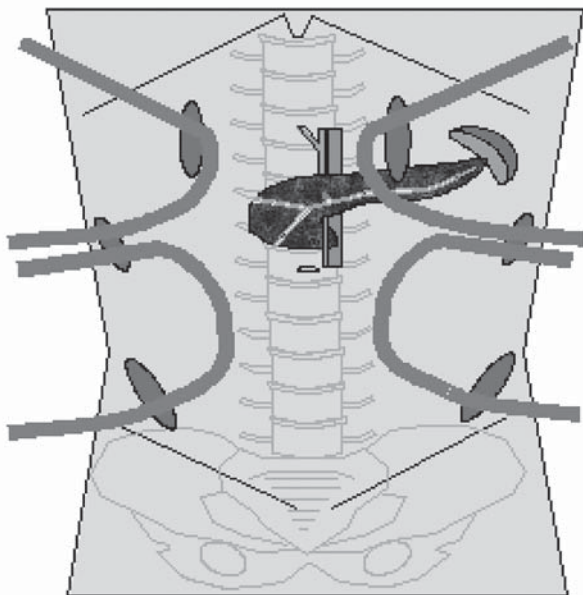


Рис. 1. Панкреатогенная флегмона, дренирование из малых доступов, 4 основных доступа – по одному в каждый квадрант и 2 контрапертуры на стыках боковых квадрантов

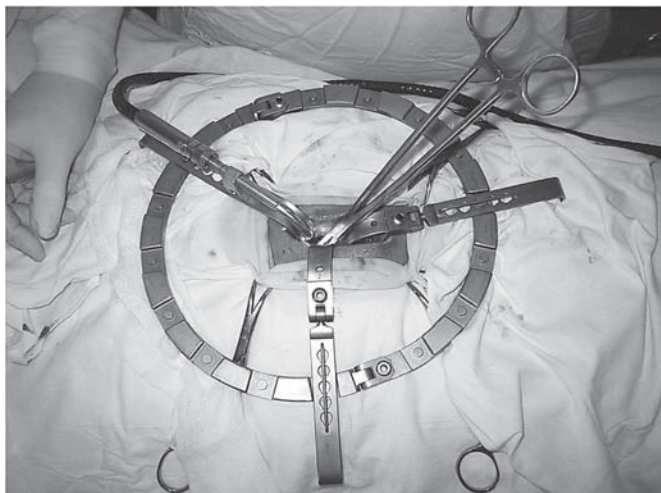


Рис. 2. Программная санация с использованием набора инструментов Мини-Ассистент. Основу комплекта составляет кольцевой ранорасширитель с набором сменных зеркал разной длины, которые перемещаются в брюшной полости в двух плоскостях

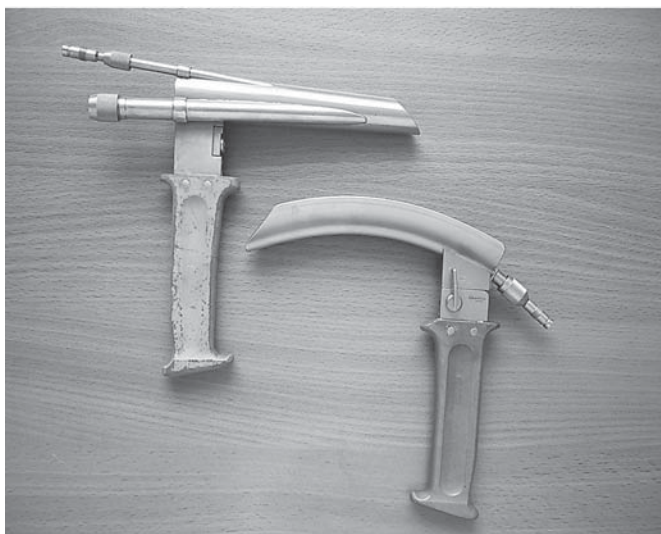


Рис. 3. Ретроперитонеоскопы, конструкция позволяет подключать их к видеосистеме

генным абсцессом. В отличие от панкреатогенного инфильтрата панкреатогенный абсцесс формировался позднее. С другой стороны, в отечности и метеоризме были более выражены у больных инфицированным панкреатогенным инфильтратом, чем у пациентов с панкреатогенным абсцессом и флегмоной. При панкреатогенной флегмоне проявления ПОН были сильнее, чем при остальных клинических формах инфицированного панкреонекроза. Кроме того, панкреатогенная флегмона возникала намного позднее, чем инфицированный панкреатогенный инфильтрат. Такие симптомы, как Мейо-Робсона и Воскресенского проявлялись одинаково при различных клинических формах инфицированного панкреатита. А такие клинические признаки, как коагулопатия, SIRS были больше характерны для пациентов панкреатогенной флегмоной. Проявления болевого синдрома по мере формирования гноя уменьшались, парез наиболее был выражен при инфильтрате, ПОН – при панкреатогенной флегмоне.

Степень ПОН наиболее была выражена при флегмоне, при панкреатогенном абсцессе ПОН была меньше, чем при инфильтрате.

Для панкреатогенного инфильтрата были характерны: срок формирования 8 дней, наличие пальпируемого образования, рецидив ПОН, лейкоцитоз до $12,7 \times 10^9/\text{л}$, ГТТП до 400ед, при ФГДС – деформация желудка (ДПК), по данным УЗИ, КТ – перипанкреатическая инфильтрация.

Сроки формирования панкреатогенного абсцесса составляли 15 дней, также определялось пальпируемое образование, ПОН была, как правило, не характерна, лейкоцитоз – до $12,8 \times 10^9/\text{л}$, ГТТП – до 86ед, по данным ФГДС – гастрит, по данным УЗИ, КТ (МРТ) – отграниченное жидкостное образование.

Для панкреатогенной флегмоны характерно: срок формирования 16 дней, рецидив ПОН, лейкоцитоз до $18,8 \times 10^9/\text{л}$, ГТТП до 126 ед, при ФГДС – эрозии, язвы желудка (ДПК), по данным УЗИ, КТ множественные жидкостные образования.

При тонкоигольной пункции у 31(57,4%) из 54 больных панкреатогенным инфильтратом выделялся *acinetobacter (baumannii)*, *escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*, *enterococcus spacies*. Чувствительность в основном была к карбапенемам, редко к защищенным цефалоспорином (цефоперазон – сульбактам), а у энтерококков к ванкомицину.

При оперативном вмешательстве выявлялся плотный инфильтрат с микроабсцедированием. Все микроабсцессы вскрыть не удалось. В 7 случаях отмечалось диффузное кровотечение из мелких сосудов. В 3 случаях – ранение сосудов среднего диаметра. Кровотечение было остановлено тампонированием. После операции у всех пациентов произошло ухудшение состояния, нарастание органических расстройств. 12(52,2%) из 23 человек умерли. В дальнейшем мы отказались от практики эксплоративных операций при отсутствии убедительных данных за флегмону или абсцедирование по данным комплексного обследования.

В группе больных, где не было оперативного вмешательства в зону панкреатогенного инфильтрата, умерли 8(8,3%) из 96 человек. Средние сроки стационарного лечения при панкреатогенных инфильтратах при консервативном лечении составили 13,4 дня, при оперативных вмешательствах – 36,7 дней.

По результатам лечения мы пришли к твердому мнению о том, что пациенты с инфицированным панкреатогенным инфильтратом должны лечиться строго консервативно. Практика эксплоративных операций рискованна.

В группе пациентов с панкреатогенным абсцессом и флегмоной микроорганизмы высевались в 78,7% случаев. При этом грамм-отрицательная флора определялась в 52,5% исследований (преобладала *pseudomonas aeruginosa*), грамм-положительная флора – в 44% (в большинстве высева – *enterococcus faecium*) и грибы в 3,5% случаев.

Послеоперационных осложнений при лечении больных панкреатогенным абсцессом не было. Все 154 пациента выздоровели.

Полученные результаты, на наш взгляд, свидетельствовали о достаточной эффективности и безопасности применяемого комплекса дренирующих методик и необходимости дифференцированного подхода к выбору способа дренирования у больных панкреатогенным абсцессом. Средние сроки стационарного лечения при панкреатогенных абсцессах составили $24,2 + 0,421$ дня.

В группе больных панкреатогенной флегмоной, где проводилось лечение по предложенному нами алгоритму, умерли 41 (11,6%) из 353 человек. Средние сроки лечения составили – 38,7 дней.

В группе больных панкреатогенной флегмоной, где проводилось традиционное лечение, умерли 53 (28,7%) из 185 человек. Средние сроки лечения составили $53,2 + 3,060$ дней.

В результате хирургического лечения соответственно снижа-

лась и степень органной недостаточности. Так, уменьшение органной дисфункции по шкале «Екатеринбург–2000» при малоинвазивных технологиях выявлено на 5+0,097 сутки (с 123+0,567 до 010+1,123 баллов), при традиционном лечении - на 8+0,113 сутки (с 122+0,321 до 014+1,897 баллов), $P < 0,01$.

Частота послеоперационных осложнений в группе больных с традиционным лечением была больше. В среднем при малоинвазивных способах лечения на одного больного было в 2,7 раза меньше осложнений, чем при традиционных, соответственно, 0,6 и 1,6 случаев на одного больного.

Выводы

К инфицированным формам некротизирующего панкреатита относятся панкреатогенный инфильтрат, панкреатогенный абсцесс и панкреатогенная флегмона.

1. Разработанные критерии позволяют дифференцировать основные клинические формы инфицированного панкреонекроза:

а) инфицированный панкреатогенный инфильтрат характеризуется формированием через 8+0,7 дней, появлением пальпируемого образования на фоне сохранения болевого синдрома, диспептических расстройств, метеоризма, сужением просвета ДПК и деформацией желудка по данным ФГДС, наличием перипанкреатической инфильтрации без явных признаков абсцедирования и скопления жидкости по данным УЗИ, КТ (МРТ). Лейкоцитоз в пределах $6,4-12,7 \times 10^9/\text{л}$. Уровень ГГТП 127–400 ЕД/л. Лечение – консервативное.

б) для панкреатогенного абсцесса характерны: срок формирования 15+0,6 дней, болевой синдром, наличие пальпируемого образования. Лейкоцитоз находится в пределах рассчитанного интервала $6,5-12,8 \times 10^9/\text{л}$. Уровень ГГТП в пределах 22–86 ЕД/л. Гастрит по данным ФГДС, отграниченное жидкостное образование по данным УЗИ, КТ (МРТ). Лечение хирургическое (навигационная пункция), пункционное дренирование, дренирование из мини-доступа).

в) панкреатогенная флегмона чаще возникает через 16+0,6 дней от начала заболевания и сопровождается развитием тяжелого абдоминального сепсиса, прогрессированием ПОН, выраженными изменениями клинических, биохимических, иммунологических показателей, нарушениями в системе свертывания крови и фибринолиза, кислотно-основного состояния крови. Лейкоцитоз находится в пределах рассчитанного интервала $8,3-18,8 \times 10^9/\text{л}$. Уровень ГГТП в пределах 87–126 ЕД/л. Выявляются язвы, эрозии по данным ФГДС, визуализируются множественные жидкостные образования в забрюшинном пространстве и брюшной полости, диффузное увеличение поджелудочной железы по данным КТ (МРТ). Лечение хирургическое, предпочтительнее наружное дренирование через мини-разрезы с формированием единого пространства и последующие программные санации гнойной полости, захватывающей все пространство пораженной забрюшинной клетчатки.

2. Разработанные приемы и инструменты позволяют дренировать при всех основных вариантах панкреатогенных флегмон забрюшинной клетчатки от диафрагмы до таза и осуществлять программные санации пораженных клетчаточных пространств. При этом сокращаются сроки пребывания в стационаре, уменьшается летальность и число послеоперационных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З. Хирургическая тактика при панкреонекрозе. *Анналы хирургии* 2003; 3: 30-35.

2. Buchler M.W., Gloor B., Muller C.A., Friess H., Seiler C.A. Acute necrotizing pancreatitis: treatment strategy according to the status of infection. *Ann. Surg.* 2000; 232(5): 619-626.

3. De la Torre M.V., Estecha M.A., Alcántara García A., et al. Infectious epidemiology in severe acute pancreatitis. 10-th Annual Congress of the European society of intensive care. *Medicine. Paris* 1997. *Int. Care Med*; 1997; 23; Sup. 1: 115.

4. Савельев В. С., Филимонов М. И., Бурневич С. З., Орлов Б. Б., Саганов В. П., Пухаев Д. А. Оценка эффективности вариантов хирургической тактики при инфицированных формах панкреонекроза. *Анналы хирургии* 2001; 5: 30 – 35.

5. Бурневич С. З. Оптимизация диагностики и лечения больных с панкреонекрозом. *Трудный пациент* 2003; 2 (1): 14 – 19.

6. Прудков М.И., Галимзянов Ф.В., Шаповалова О.П. Пути эволюции инфицированного панкреонекроза и выбор хирургической тактики. Тезисы докладов XVI международного Конгресса хирургов-гепатологов стран СНГ «Актуальной проблемы хирурги-

ческой гепатологии», посвященной памяти проф. И.Д.Прудкова, 16 – 18 сентября 2009 года, Екатеринбург, с. 91.

7. Данилов, А.М. Острый панкреатит: клиника, диагностика и лечение. *Врач* 2003; 5: 17-19.

8. Buchler P., Reber H.A. Surgical approach in patients with acute pancreatitis. Is infected or sterile necrosis an indication--in whom should this be done, when, and why? *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 1999; 28 (3): 661 - 671.

9. Григорьев Е. Г., Коган А.С. Хирургия тяжелых гнойных процессов. Новосибирск: «Наука»; 2000: 314.

10. Beger H.G., Rau B., Majer J.M., Pralle U. Natural course of acute pancreatitis. *World J Surg.* 1997; 21(3): 130 – 135.

*Galimzyanov F.V., Prudkov M.I.,
Shapovalova O.P.*

THE INFECTED PANCREATIC INFILTRATE, PANCREATIC ABSCESS AND PHLEGMONA DIAGNOSTIC AND TREATMENT

Abstract. 811 patients with infected forms of necrotizing pancreatitis have been treated, 119 (14.7%) of them had pancreatogenic infiltrate with signs of infection; 154 (19.0%) had pancreatogenic abscess and 538 (66.3%) of patients had pancreatogenic phlegmon. All patients underwent all-inclusive instrumental clinical-laboratory diagnostics: USI, FGDS, CT. Criteria were elaborated which made it possible to differentiate the main clinical forms of infected pancreonecrosis as well as surgical tactics.

Conservative treatment is preferable in case of pancreatogenic infiltrate whereas surgical treatment – in case of pancreatogenic abscess: navigating puncture, paracentetic drainage, drainage from minimal access. In case of pancreatogenic phlegmon the treatment is surgical, preferably external drainage via mini-incisions thus forming a common space; further programmed sanitations of purulent cavity were performed covering all the space of the affected abdominal fat.

Key words: patients, infected pancreatogenic infiltrate, abscess, phlegmon, diagnostics, FGDS, abdominal cavity USI, abdominal cavity CT.

Авторская справка

Галимзянов Фарид Вагизович

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург;

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

Прудков Михаил Иосифович

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург;

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

Шаповалова Ольга Петровна

ГУЗ Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург

Россия, 620102, г. Екатеринбург, Волгоградская, 185, ГУЗ «СОКБ №1»

e-mail: isurg@okb1.ru

Authors

Galimzyanov Farid V.

Sverdlovsk regional hospital №1; Ural State Medical Academy

Prudkov Michail I.

Sverdlovsk regional hospital №1; Ural State Medical Academy

Shapovalova Olga Petrovna

Sverdlovsk Regional Hospital №1

Russia, 620102, Ekaterinburg, Volgogradskaya street 185, Sverdlovsk Regional Hospital №1

e-mail: isurg@okb1.ru

Герасименко Е.Н., Катыврева Ю.Е., Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В.
**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ
 В ГЕРОПРОФИЛАКТИКЕ У ПАЦИЕНТОВ**

ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия
 Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В работе рассмотрены возрастные особенности реакции перекисного окисления липидов в периферической крови и биовозраста у пациентов разного возраста, получивших курс парентеральной озонотерапии.

Интенсивный короткий режим озонотерапии не приводит к значительным изменениям в системе ПОЛ-АОС у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста. Но при этом снижает перекисную и осмотическую резистентность эритроцитов в группе пациентов пожилого и старческого возраста. Биологический возраст при этом снижается в группе пациентов зрелого возраста, поэтому она рекомендуется в этой группе для использования в качестве геропрофилактического средства.

Ключевые слова: озонотерапия, геропрофилактика, эритроцит, перекисное окисление

Введение

Действующим началом в лечении озоном являются активные формы кислорода (АФК), к которым относятся сам озон, продукты распада озона в водной среде - свободные радикалы кислорода, гидроксильный анион-радикал, супероксидный анион-радикал, синглетный кислород [3, 7, 8, 13].

Озонотерапия проводится, в первую очередь, с целью восполнения дефицита кислорода в тканях. Механизм восполнения дефицита кислорода во многом заключается в активации в эритроцитах 2,3-дифосфоглицератного шунта, в котором образуется 2,3-дифосфоглицерат, который облегчает отдачу кислорода оксигемоглобину и улучшает кислородное обеспечение в тканях [2, 5, 9, 10]. Под влиянием озона увеличивается кислородная емкость крови. Эффект может сохраняться до нескольких месяцев, повышенная кислородная емкость крови оказывает самостоятельный терапевтический эффект после прекращения лечения озоном [5,9,15]. Известно, что процессы старения характеризуются развитием нескольких видов гипоксии [3, 4, 6, 12, 14], поэтому логично предположить ее позитивный геропрофилактический эффект в этом отношении.

Стимуляция пентозофосфатного шунта и гликолизы повышает утилизацию глюкозы клетками и снижает гликемию, что является важной причиной использования озонотерапии при сахарном диабете, коррекции гипергликемии [4, 8]. Известно, что процессы старения сопровождаются увеличением диапазона нормогликемии и заметным повышением концентрации глюкозы в крови, затруднением ее проникновения в клетку [6, 14], поэтому можно предположительно связать с этим возможным геропротекторный механизм озонотерапии. При введении озона в организм происходит активация ферментов, катализирующих процессы окисления углеводов, липидов и белков [3, 5, 7, 13, 15], активация процессов ПОЛ (перекисного окисления липидов) при озонотерапии может сопровождаться нежелательными побочными эффектами, однако такие данные об их использовании в оценке безопасности метода в литературе отсутствуют.

Есть предположение, что в основе процесса старения лежит уменьшение «клеточности», то есть количества клеток, образующих соответствующие органы, ответственные за физиологические функции организма [12]. Поддержание нормальной функции гемопоэтических стволовых клеток является критически важным для коагуляции крови, транспорта кислорода и защите от инфекции [11]. Возможно, стимуляция стволовых кроветворных клеток пациентов разного возраста при проведении им озонотерапии может быть еще одним механизмом торможения у них процессов старения.

Озонотерапия широко используется в клинике для лечения целого ряда патологий, разработаны показания и противопоказания для ее применения [1,5,9], однако ее использование в качестве геропрофилактического средства не описано, отсутствуют принципиальные экспериментальные или клинические данные о ее эффективности у разных возрастных групп пациентов, как и до сих пор не предложены способы оценки ее геропрофилактической эффективности. Другие методы газовой терапии ранее были предложены и изучены нами в эксперименте и клинике и показали в ряде случаев заметную возрастзависимую геропрофилактическую эффективность, особенно у лиц зрелого возраста [14].

Целью нашей работы было оценить возраст-зависимую безопасность для пациентов разного возраста с полиорганной патологией по показателям перекисного окисления липидов, активности антиокислительных систем плазмы, клеточных элементов периферической крови и резистентности клеточных мембран эритроцитов и геропрофилактическую эффективность озонотерапии по показателям биовозраста.

Материалы и методы: исследование проводилось на пациентах мужского пола разных возрастных групп - зрелого возраста (35 – 59 лет), пожилого (60-74 года) и старческого возраста (75-89 лет) и было одобрено этическим комитетом лечебного учреждения. Всего в исследовании приняли участие 87 пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста мужского пола в возрасте от 35 до 84 лет. Группа пациентов зрелого возраста составила 53 человека, две группы пациентов пожилого и старческого возраста №1 и №2 – 18 и 16 человек соответственно. Все пациенты прошли плановое обследование и лечение в неврологических отделениях Свердловского областного клинического психоневрологического госпиталя для ветеранов войн и им проводилась идиентичная базисная (в основном сосудистая) терапия. У больных имелась полиорганная патология в стадии компенсации; преобладала патология нервной системы – последствия черепно-мозговой травмы в виде гипертензионно-гидроцефального синдрома у лиц зрелого возраста и дисциркуляторная энцефалопатия сосудистого характера у пожилых и старых пациентов. У этой группы больных имелись также проявления атеросклероза с поражением коронарных артерий и артерий нижних конечностей, гипертензивная болезнь 2-3 стадии, хронические неспецифические заболевания легких, сахарный диабет. В исследование не включались пациенты, имевшие выраженные функциональные нарушения органов и систем (сердечная, дыхательная, почечная недостаточность в стадии выше 1, обострения хронических заболеваний).

Лечение методом озонотерапии проводилось с помощью аппаратов «Квазар» и «Медозонс» (Россия, Н. Новгород). Для озонирования использовался стерильный изотонический раствор хлорида натрия во флаконах по 200 мл. Время барботирования раствора 10-15 мин, после чего на фоне продолжающегося барботирования раствор вводился пациенту внутривенно капельно в течение 15-30 мин [1,9,15]. Параллельно пациентам проводилась идиентичная медикаментозная терапия, согласно имеющимся заболеваниям.

Пациенты зрелого возраста получали озонотерапию в режиме «интенсивный короткий» с концентрацией 1500 мкг/л. При установлении концентрации озона в кислородно-озоновой газовой смеси мы исходили из рекомендаций по использованию озонированного физиологического раствора, утвержденной МЗ РФ. Согласно рекомендациям, терапевтический диапазон озона в газовой смеси может колебаться от 1000 до 4000 мкг/л [1,9,15]. При «интенсивном коротком» режиме сеансы проводились ежедневно за исключением выходных и праздничных дней, всего в количестве шести. Пациенты пожилого и старческого возраста группы №1 получали озонотерапию в том же «интенсивном коротком» режиме, концентрация озона в газовой смеси на выходе из озонатора составляла 1500 мкг/л. Группа пациентов пожилого и старческого возраста группы №2 получали концентрацию озона в газовой смеси 1000 мкг/л через день, количество сеансов - десять. Такой режим мы назвали «щадящим длительным». Повторный забор крови в этой группе пациентов осуществлялся после десятиго сеанса.

Показатели периферической крови (плазмы крови и эритроцитов) исследовались на гематологическом анализаторе-автомате ERMA PCE 90VET (Walpole, США), показатели обмена веществ, перекисного окисления липидов (ПОЛ), в том числе – хемилипоперекисности сыворотки крови (ХЛ) и антиокислительной активности (АОА) - с помощью люминометра - фотометра Lucy 3 (Anthos Labtec Instruments, США), спектрофотометра сканирующего UNICO-2802 (UNICO, Япония), наборов реагентов «Spinreact» (Испания) [2, 10, 13, 14]. Выраженность процессов старения и безопасность метода оценивалась по биологическому возрасту [4,6,14]. Статобработка проведена в Statistic 6.0. [6,14].

Показатели ПОЛ плазмы и крови пациентов разного возраста до и после озонотерапии в «интенсивном коротком» режиме

Показатель ПОЛ плазмы крови	Возраст пациентов	До лечения М±m	После пятого сеанса М±m	p	Изменение %
Светосумма ХЛ отн.ед./г об.липидов	Зрелые	6885,38± 462,74	6211,27± 428,55	0,158	-9,8
	Пож., старые №1	6290,67± 430,13	6595,91± 852,53	1,000	+4,8
Амплитуда ХЛ Отн.ед./г об.липидов	Зрелые	59,39 ±4,32	54,47 ±3,62	0,539	-8,3
	Пож.,старые №1	53,50 ±4,73	53,73 ±7,10	0,838	+0,4
Диеновые конъюгаты мкмоль/мл	Зрелые	3,11 ±0,24	2,97 ±0,26	0,765	-4,5
	Пож.,старые №1	2,68 ±0,45	2,42 ±0,31	0,868	-9,7

Таблица 2

Показатели АОС плазмы крови пациентов разного возраста до и после озонотерапии в «интенсивном коротком» режиме

Показатели АОС	Возраст пациентов	До лечения М ± m	После пятого сеанса М ± m	p	Изменение %
Активность каталазы мккат/г гемоглобин.	Зрелые	3,57 ±0,13	3,41 ± 0,13	0,843	-4,5
	Пож., старые №1	3,29 ±0,17	3,31 ±0,12	0,670	+0,6
Активность пероксидазы мккат/г гемоглобин.	Зрелые	35,49 ± 1,71	32,95 ±1,69	0,101	-7,2
	Пож., старые №1	32,25 ± 1,77	33,68 ±3,02	0,554	+4,4

Таблица 3

Показатели перекисной и осмотической резистентности эритроцитов крови пациентов разного возраста до и после озонотерапии в «интенсивном коротком» режиме

Показатели резистентности эритроцитов	Возраст пациентов	До лечения М±m	После пятого сеанса М±m	p	Изменения %
Перекисная резистентность % гемолиза	Зрелые	2,86 ±0,28	2,07 ± 0,24	0,010	-27,6
	Пож., старые №1	1,70± 0,40	2,81 ± 0,59	0,029	+65,3
Осмотическая резистентность % гемолиза	Зрелые	4,31 ±0,46	4,35 ± 0,70	0,379	-1,0
	Пож., старые №1	4,75 ±0,49	6,02 ± 0,43	0,045	+26,7

Таблица 4

Показатели ПОЛ и АОС пациентов пожилого и старческого возраста до и после озонотерапии в «щадящем длительном» режиме

Показатель	До лечения М ± m	После десятого сеанса М ± m	P	Изменения %
Амплитуда ХЛ отн.ед/г об.липидов	112,50 ± 2,87	107,88 ± 6,93	0,706	-4,1
Диен. кон. мкмоль/мл	1,28 ± 0,16	1,33± 0,14	0,798	+3,9
Каталаза мккат/г гем.	3,81 ± 0,44	3,49± 0,24	0,233	-8,4
Пероксидаза мккат/г гем.	27,20 ± 3,18	25,54 ± 1,54	0,460	-6,1
Пер.резистентность эрит. % гемол.	2,18 ± 0,36	2,37 ±0,46	0,125	+8,7
Осм.резистентность эрит. % гемол.	4,57 ± 1,38	3,41 ± 0,94	0,910	-25,4

Таблица 5

Показатели биовозраста пациентов разного возраста до и после озонотерапии в «интенсивном коротком» режиме

Показатель БВ годы (разные виды тестов)	Возраст пациентов	До лечения М ± m	После лечения М ± m	P	Изменения годы	Изменения %
Тест max	Зрелые	55,07± 1,46	52,48 ± 1,53	0,003	2,59	-4,7
	Пож. и старые № 1	64,54 ± 1,86	63,57 ± 2,15	0,208	0,97	-1,5
Тест mini	Зрелые	43,11 ± 1,33	41,25 ± 1,58	0,006	1,86	-4,3
	Пож. и старые № 1	65,99± 1,94	61,74 ± 1,93	0,093	4,25	-6,4
Тест кардиопульмональный	Зрелые	56,87 ± 1,80	54,33 ± 1,47	0,179	2,54	-4,5
	Пож. и старые № 1	70,34 ± 3,74	62,21 ± 3,90	0,069	8,13	-11,6

Примечание: Показатели биовозраста пациентов пожилого и старческого возраста до и после озонотерапии в «щадящем длительном» режиме не имели существенных и достоверных различий.

Результаты

Светосумма и амплитуда ХЛ плазмы крови и концентрация первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов высших ненасыщенных жирных кислот пациентов зрелого возраста и пациентов пожилого и старческого возраста №1, получавших озонотерапию в «интенсивном коротком» режиме после пятого сеанса достоверно не изменялись (Табл.1). Этот факт может свидетельствовать о достаточно быстрой компенсации реакций свободнорадикального окисления у пациентов этих возрастных групп при «интенсивном коротком» режиме и, на наш взгляд, говорит в пользу безопасности изучаемого нами метода лечения.

Тем не менее, мы обратили внимание на тенденцию к увеличению в группе №1 пожилых и старых пациентов после пятого сеанса светосуммы и амплитуды ХЛ на 4,8 и 0,4 % (p > 0,05). Мы предположили, что такие изменения в группе пожилых и старых пациентов могут быть связаны с замедленной, по сравнению с группой пациентов зрелого возраста, способностью антиоксидантной системы защиты организма компенсировать прооксидантное действие АФК [6, 13, 14].

Из таблицы №1 видны также возрастные различия в системе ПОЛ – АОА плазмы крови пациентов двух групп при «интенсивном коротком» режиме. Так, в группе пожилых и старых пациентов исходные показатели светосуммы ХЛ и амплитуды ХЛ значительно ниже, чем в группе зрелых пациентов. Известно, что при старении наблюдается снижение содержания в крови легкоокисляемых ненасыщенных липидов и накопление трудноокисляемых высоконасыщенных липидов, которые труднее вступают в реакции ПОЛ [6,14]. Это находит отражение в исходно сниженной амплитуде ХЛ у этой группы пациентов. Этим же можно объяснить и снижение с возрастом содержания диеновых конъюгатов высших ненасыщенных жирных кислот. Снижение светосуммы ХЛ в группе пожилых и старых пациентов отражает в целом дисбаланс в системе про- и антиоксидантных систем, связанный со снижением АОА, запасов витаминов-антиоксидантов, повышением концентрации холестерина, повышением коэффициента холестерин/фосфолипиды. Полученные нами данные совпадают с данными литературы, полученными на других моделях, подтверждают эти возрастные физиологические различия и показывают необходимость учитывать воз-

раст пациента при назначении ему лечения с использованием АФК [6,13,14].

Изученные нами показатели антиоксидантной системы крови при «интенсивном коротком» режиме представлены в таблице № 2. Активность каталазы и пероксидазы крови у пациентов зрелого возраста и в группе № 1 после пятого сеанса озонотерапии незначительно уменьшалась соответственно на 4,5 % и 7,2 %, эти изменения не достигли статистической достоверности. Это расценивается нами как доказательство безопасности выбранного режима озонотерапии для зрелых пациентов, поскольку в противном случае в ответ на избыток введения АФК происходило бы увеличение активности антиоксидантных ферментов. В группе пожилых и старых пациентов №1 активность вышеуказанных ферментов достоверно увеличивалась на 0,6 % и 4,4 % ($p > 0,05$). Учитывая указанные выше изменения ПОЛ в этой группе пациентов (увеличение светосуммы и амплитуды ХЛ), одинаково незначительную степень изменений показателей ПОЛ и АОС защиты пожилых и старых пациентов, некоторую активацию антиоксидантных ферментов мы расценили как закономерный ответ организма на введение АФК, которая и была нами зафиксирована после пятого сеанса.

Показатели перекисной и осмотической резистентности эритроцитов при «интенсивном коротком» режиме представлены в таблице № 3. Эти показатели изменились после лечения достоверно в обеих возрастных группах, но изменения носили разнонаправленный характер: в группе пациентов зрелого возраста перекисная резистентность уменьшалась после пятого сеанса озонотерапии на 27,6 % по сравнению с исходной ($p < 0,05$); в группе пожилых и старых №1 - наоборот увеличивалась на 65,3 % ($p < 0,05$). Аналогично изменялись показатели осмотической резистентности эритроцитов: в группе зрелых – незначительно уменьшалась на 1,0 % по сравнению с исходной; в группе пожилых и старых – увеличивалась на 26,6 %, но эти изменения не были достоверны ($p > 0,05$).

Из полученных нами результатов оценки резистентности эритроцитарных мембран следует, что мембраны эритроцитов более чувствительны к воздействию перекиси водорода, чем к гипоосмолярной среде, и что в группе пожилых и старых пациентов применяемый режим терапии АФК приводит после пятого сеанса к значительному и достоверному уменьшению прочности клеточной мембраны, что может расцениваться, с одной стороны, как неблагоприятный эффект воздействия АФК и согласуется с тенденцией к активации ПОЛ и АОС крови пациентов группы №1, а с другой стороны в исследованиях ученых показан эффект повышения лекарственной чувствительности организма человека при воздействии озона, в основе которого лежит повышение проницаемости клеточных мембран [2]. АФК обладают не только цитотоксическими свойствами, но и могут выступать в качестве вторичных мессенджеров, участвуя в поддержании физико-химических свойств биологических мембран, регуляции состояния внутриклеточных редокс-систем, активности протеинкиназ и регуляции таких клеточных реакций как пролиферация, дифференцировка и апоптоз [8]. По-видимому, это касается и клеток кроветворения. Стимул к регенерации кроветворные клетки получают с периферии вследствие своей гибели, но первым индуктором к вводу стволовой кроветворной клетки в митоз, очевидно, являются цитокины, которые вырабатывают элементы соединительной ткани органов кроветворения (костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы). Отдельным исследованием на пациентах пожилого и старческого возраста нами подтверждено отсутствие гемолиза при проведении озонотерапии в обоих примененных нами лечебных режимах.

В случае применения в лечении пожилых и старых пациентов «щадящего длительного» режима озонотерапии достоверных изменений ПОЛ, АОС и резистентности клеточных мембран в нашем исследовании не было выявлено (Табл. 4). При таком режиме в организме пожилых и старых пациентов в ответ на введение им АФК успели произойти компенсаторные изменения в системе АО защиты, что исключило значительное уменьшение резистентности мембран эритроцитов. Это доказывает тот факт, что с возрастом компенсаторные возможности, в том числе и возможности АОС организма, уменьшаются и это необходимо учитывать при использовании в лечении активных форм кислорода.

«Щадящий длительный» режим явился по показателям ПОЛ/АОС более физиологичным для пациентов пожилого и старческого возраста.

В обеих исследованных группах пациентов пожилого и старческого возраста, равно как и в группе пациентов зрелого возраста, в ходе лечения не отмечалось никаких нежелательных эффектов от озонотерапии, не было зафиксировано ни одного случая ухуд-

шения состояния, все пациенты имели положительный настрой на лечение и подавляющее большинство отмечали улучшение общего самочувствия, повышение работоспособности после проведения им курса озонотерапии.

Эти субъективные данные подтверждаются нашими исследованиями в области биовозраста. Биологический возраст (БВ) – это биологическое состояние человека, определяемое совокупностью его обменных, структурных, функциональных, регуляторных особенностей и адаптационных возможностей. БВ наиболее полно отражает степень системной дезинтеграции организма, меру возрастных изменений его биологических возможностей, возможностей предстоящей жизни и вероятность смерти. Современная геронтология считает принципиально возможным повлиять на ход старения организма человека и достичь снижения биовозраста [4].

В нашей работе определение биовозраста проводилось во всех исследованных группах до и после курса озонотерапии (табл. 5). В результате мы получили уменьшение БВ в группе пациентов зрелого возраста по нескольким тестам на 4,3 – 4,7 лет ($p < 0,05$); в обеих группах пожилых и старых пациентов достоверного изменения БВ нами получено не было, но прослеживалась значительная положительная тенденция уменьшения биовозраста, особенно по кардиопульмональному показателю, что, на наш взгляд, обусловлено стимулирующим эффектом озонотерапии в отношении красного роста кроветворения за счет повышения склонности к гемолизу старых эритроцитов, увеличения содержания продуктов их разрушения и создания гемопоэзистимулирующей ситуации за счет их убыли, ускорения воспроизводства. Щадящий длительный режим озонотерапии не приводил к существенным изменениям биовозраста у пациентов пожилого и старческого возраста.

Выводы

1. Интенсивный короткий режим озонотерапии не приводит к существенным изменениям в системе ПОЛ-АОС у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста, снижая при этом перекисную и осмотическую резистентность эритроцитов в группе пациентов пожилого и старческого возраста. Биологический возраст при этом снижается достоверно в группе пациентов зрелого возраста, что позволяет рекомендовать этот режим озонотерапии в данной группе в качестве геропротективного средства. Это свидетельствует о безопасности и эффективности интенсивного короткого режима воздействия озонотерапией у лиц зрелого возраста, при этом в группе лиц пожилого и старческого возраста эффективность была несущественной, а безопасность осталась сомнительной.

2. Щадящий длительный режим озонотерапии не приводил к существенным изменениям в системе ПОЛ-АОС и биовозраста у пациентов пожилого и старческого возраста. Полученные данные по влиянию щадящего длительного режима озонотерапии говорят о безопасности для лиц пожилого и старческого возраста, но при этом недостаточно эффективны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безрукова И.В. Озонотерапия в пародонтологической практике [Текст] / И.В. Безрукова, Н.Б. Петрухина. - Москва - 2008. - 387 с.
2. Борисов Ю.А. Резистентность эритроцитарных мембран: механизмы, тесты, оценка (обзор литературы) [Текст] / Ю.А. Борисов, В.Н. Спиридонов, Е.Д. Суглобова // Клини. лаб. диагностика. - 2007. - №12. - С.36-40.
3. Воейков В.Л. Активные формы кислорода – патогенны или цели? [Текст] // Клинич. геронтология. - 2003. - Т.9, №3. - С.27-40.
4. Галкин В.В. Биологический возраст и болевой синдром при диабетической полиневропатии [Текст] / В.В. Галкин, М.В. Нестерова, В.В. Емельянов // Успехи геронтологии. - 2011. - №2. С.303-307.
5. Густов А.В. Озонотерапия в неврологии [Текст] / А.В. Густов, С.А. Котов, К.Н. Конторщикова, Ю.П. Потехина - Н. Новгород - 2001. - 245с.
6. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции [Текст] // А.А. Кишкун. - «ГЭОТАР-Медиа». - Москва. - 2008. - 973с.
7. Кольцов В.К. Исторические предпосылки и эволюция свободнорадикальной теории старения / В.К. Кольцов // Проблемы старения и долголетия [Текст]. - 2000. - Т.9, №1. - С.78-90.
8. Куликов В.Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) [Текст] / В.Ю. Куликов // Медицина и образование в Сибири. - 2009. - №4.
9. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Руководство по озонотерапии [Текст] / О.В. Масленников, К.Н. Конторщикова - Н. Нов-

город-2005.-356с.

10. Морозова В.Т. Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значение (лекция) [Текст]/В.Т. Морозова, С.А. Луговская, М.Е. Почтарь //Клин. лаб. диагностика.-2007.-№10.С.21-35.

11. Писаржевский С.А. Стволовые клетки и старение. <http://www.medlinks.ru/article.php?sid=23757>

12. Северин Ф.Ф. Запрограммированная клеточная смерть как мишень борьбы со старением организма [Текст]/Ф.Ф. Северин, В.П. Скулачев // Успехи геронтологии.- 2009.-Т.22.№1.С.37-48.

13. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение [Текст]/В.Х. Хавинсон, В.А. Баринин, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин.-С.-Пб.: Наука, 2003.-327с.

14. Ястребов А.П. с соавт. /Старение, перекисное окисление липидов и биовозраст[Текст] А.П. Ястребов, В.Н.Мещанинов.-Екатеринбург.-2005.-217с.

15. Rokitansky O./ Ozonotherapie.-1982.-№5.-P.643-711.

Gerasimenko E.N., Katireva Y.E., Meshchaninov V.N., Gavrillov I.V.

ESTIMATION OF EFFICIENCY AND SAFETY OF THE OZONOTHERAPY IN ANTIAGING FOR PATIENTS

Abstracts. In the article it was considered age particularities of the lipid peroxidation in peripheral blood and bioage of different age patients before and after correction by the ozonotherapy. The intensive short mode ozonotherapy does not considerable change in the system of the lipid peroxidation and the antioxidant defense for mature, elderly and senile age patients. But one decreases the peroxide and osmotic resistance of erythrocytes in the elderly and senile age patients group. In the group of mature age patients the ozonotherapy decreases the biological age thus one is recommended for usage as antiaging therapy.

Keywords: ozonotherapy, antiaging, erythrocyte, peroxide oxidation

Авторская справка

Мещанинов Виктор Николаевич

ГУЗ СО Института медицинских клеточных технологий, Зав. лаб. антивозрастных технологий д.м.н., профессор, гл. науч. сотр.; ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития, зав. каф. биохимии, г. Екатеринбург
e-mail: mv-02@yandex.ru

Герасименко Елена Николаевна

ГУЗ СО Института медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург
e-mail: egeras25@gmail.com

Катирева Юлия Евгеньевна

ГУЗ СО Института медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург
e-mail: y.katireva@mail.ru

Гаврилов Илья Валерьевич

ГУЗ СО Института медицинских клеточных технологий; ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург
e-mail: given18@yandex.ru

РФ, 620000, Екатеринбург, ул. Соболева 25, (Новая поликлиника СОКП ГВВ, 7 этаж, ИМКТ, оф.742).

Authors

Meshchaninov Viktor N.

Institute of medical cell technologies, Ural state medicine academy

Gerasimenko Elena N.

Institute of medical cell technologies

Katireva Yuliy E.

Institute of medical cell technologies

Gavrillov Iliy Valerevith

Institute of medical cell technologies, Ural state medicine academy

620000, Yekaterinburg, Russia, Soboleva 25, Institute of medical cell technologies

УДК 616.379 – 008.64

Какуля Е.Н., Попов О.А., Гирш А.О.

ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ БАЛАНС У ПАЦИЕНТОК ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ИНФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ

МУЗ Родильный дом № 2, Россия, г. Омск, Россия; ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия, г. Омск, Россия

Резюме. Целью данного исследования явилась оценка параметров электролитного баланса пациенток после операции кесарева сечения при проведении сбалансированного и несбалансированного вариантов инфузионной терапии. В работе представлены результаты простого слепого, проспективного, когортного, рандомизированного исследования, выполненного у 54 родильниц после родоразрешения путём операции кесарева сечения в плановом порядке. Выявлено, что использование несбалансированного варианта инфузионной терапии оказывает позитивное влияние на системную гемодинамику, но вызывает статистически значимые изменения электролитного баланса по сравнению с данными контроля и пациенток, получавших сбалансированную инфузионную терапию. Установлено, что применение сбалансированного варианта инфузионной терапии положительно воздействует на системную гемодинамику и не вызывает изменений электролитного баланса по сравнению с данными контроля.

Ключевые слова: инфузионная терапия, электролитный баланс, кесарево сечение.

Введение.

В акушерской практике инфузионной терапии принадлежит значимая роль. Эффективность инфузионной терапии во многом зависит от фармакологических свойств используемых растворов и обоснованности программы инфузионной терапии [1]. Поэтому разработка и совершенствование программ инфузионной терапии уже длительное время остается центром внимания исследователей и клиницистов [2].

В этой связи целью данного исследования явилась оценка параметров электролитного баланса пациенток после операции кесарева сечения при проведении сбалансированного и несбалансированного вариантов инфузионной терапии.

Материал и методы исследования.

В работе представлены результаты простого слепого, проспективного, когортного, рандомизированного (методом конвертов) исследования, выполненного у 54 пациенток (средний возраст 25,2±1,2 лет) после родоразрешения путём операции кесарева сечения в плановом порядке. Показаниями для оперативного родоразрешения служили: рубец на матке после кесарева сечения, рубец на матке после консервативной миомэктомии, узкий таз (1-2 степени), наличие крупного плода, чисто ягодичное предлежание плода, миопия высокой степени, диагностическая дихориальная двойня с тазовым предлежанием одного из плодов, ножное предлежание плода, гепатоз беременных, периферическая дегенерация сетчатки с разрывом. Все пациентки были распределены на две группы в зависимости от варианта инфузионной терапии, проводимой интраоперационно и в первые сутки после оперативного лечения. Инфузионная терапия у пациенток I и II групп проводилась через катетер (диаметром 16-18 G), установленный в периферической (кубитальной или локтевой) вене. Инфузионная терапия у пациенток I группы (27 женщин) проводилась солевым кристаллоидным несбалансированным раствором 0,9% натрия хлорида и коллоидным раствором 6% гидроксизетилкрахмала 130/0,42 венофундин (В. Вауп, Германия). Инфузионная терапия у пациенток II группы (27 женщин) проводилась солевым кристаллоидным сбалансированным (по своему составу идентичным электролитному составу плазмы крови человека) раствором стерофундин изотонический (В. Вауп, Германия) и сбалансированным коллоидным раствором 6% гидроксизетилкрахмала 130/0,42 тетраспан (В. Вауп, Германия). Инфузионная терапия начинала проводиться перед выполнением пункции спинномозгового канала кристаллоидным раствором в объёме 500 мл с целью профилактики возможной артериальной гипотонии вследствие анестезии. Методом

Динамика гемодинамических параметров и сатурации больных I и II групп (M±m)

Показатели	Контроль	Перед началом операции		Через 20 минут после начала операции		После завершения операции		При поступлении в ОРИТ		Через 12 часов после поступления в ОРИТ		Через 24 часа после поступления в ОРИТ	
		I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа
АД сист., мм рт. ст.	121,4±5,2	121,5±2,4	124,1±2,0	113,1±2,1	112,5±2,0	117,2±1,4	118,1±1,2	120,2±1,7	120,8±1,4	120,7±1,8	120,2±1,2	120,6±1,2	120,4±1,4
АД диаст., мм рт. ст.	84,0±8,0	73,8±2,0	74,6±2,0	69,3±1,5	68,5±2,4	70,1±1,1	70,6±1,2	71,7±1,5	70,9±1,3	72,6±1,8	71,9±1,1	72,8±1,4	72,1±1,3
САД, мм рт. ст.	90,4±2,3	89,7±2,1	91,1±1,5	83,9±1,6	82,8±2,1	88,7±1,3	89,6±1,1	91,6±1,3	91,0±1,1	92,4±1,7	92,1±1,4	92,8±1,2	91,8±1,1
ЧСС, мин ⁻¹	78,4±2,3	72,8±1,9	74,1±1,9	73,5±2,3	73,8±1,2	76,3±2,2	79,1±1,2	76,3±2,2	77,4±1,4	77,2±2,0	76,1±1,7	76,7±1,8	75,9±1,8
SaO ₂	99,2±0,2	98,8±0,1	99,1±0,1	98,7±0,1	99,2±0,2	98,9±0,2	98,3±0,1	98,7±0,3	98,6±0,2	98,9±0,1	99,3±0,2	98,7±0,2	99,1±0,1

Примечание. Здесь и в следующей таблице - * ! - P<0,05; + - достоверные различия с группой контроля, * - достоверные различия между исследуемыми группами, ! - достоверные различия в исследуемой группе в динамике.

Таблица 2

Динамика гемоглобина, гематокрита, осмолярности и параметров электролитного баланса больных I и II групп (M±m)

Показатели	Контроль	При поступлении в операционную		При поступлении в ОРИТ		Через 12 часов после поступления в ОРИТ		Через 24 часа после поступления в ОРИТ	
		I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа	I группа	II группа
Гемоглобин, г/л	123,6±5,7	118,8±4,5	119,6±5,1	114,3±3,8	115,1±3,3	112,8±4,1	113,9±5,7	112,3±3,6	113,7±4,2
Гематокрит, %	37,8±2,3	35,6±1,3	35,3±1,1	34,6±1,0	34,9±1,2	33,9±1,1	34,1±1,2	33,7±1,2	34,4±1,1
Калий, ммоль/л	4,4±0,3	4,2±0,1	4,1±0,2	4,0±0,1	4,2±0,1	3,8±0,2	4,3±0,2	3,6±0,2	4,3±0,2
Натрий, ммоль/л	137,0±2,1	138,3±1,1	138,6±1,2	140,3±0,5	139,1±0,4	142,1±0,3	138,4±0,2	144,4±0,2 +!	138,0±0,2 *
Хлор, ммоль/л	97,6±2,3	97,5±1,4	97,2±1,2	101,3±0,6	97,9±0,6	103,7±0,6	98,1±0,7	105,5±0,4 !	97,6±0,8 *
Осмолярность, мосм/л	278,4±1,3	278,5±1,4	279,1±1,1	281,5±1,2	279,1±1,1	287,3±1,1	280,1±0,9 *	291,2±0,9 +!	278,3±0,8 *

обезболивания у всех пациенток служила спинномозговая анестезия, которая выполнялась в положении лёжа на боку или сидя, путем пункции спинномозгового пространства во втором или третьем поясничном межостистом промежутке из срединного доступа иглой калибра 25-26 G. В качестве анестетика использовали 0,5% бупивакаин (маркаин спинал, Astra Zeneca) в дозе от 10 до 12 мг. После выполнения пункции пациентку укладывали в положение на спину с наклоном влево на 30° для профилактики синдрома аортокавальной компрессии. После наступления анестезии проводили оперативное лечение. Оценка выраженности болевого синдрома оценивали по вербальной рейтинговой шкале (0 баллов) и визуальной аналоговой шкале (боли не было). Длительность оперативного лечения в I группе составила - 41,3±1,6 минут, а во II - 40,9±2,1 минут. В послеоперационном периоде все пациентки получали инфузионную и симптоматическую терапию. Объем кровопотери определялся прямым (гравиметрическим) и косвенным (на основании данных системной гемодинамики, клинических симптомов, оценки объема наружной кровопотери) методами и составил у пациенток I группы - 633,3±56,4 мл, а у пациенток II группы - 613,3±43,4 мл. Интраоперационный объем переливаемых сред у пациенток I группы составил - 1220,8 ± 131,8 мл, а у пациенток II группы - 1196,6±181,4 мл. Объем инфузионной терапии в первые сутки послеоперационного периода в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) у пациенток I группы составил - 1413,5±107,4 мл, а у пациенток II группы - 1506,2±112,1 мл. Соотношение кристаллоидных и коллоидных растворов в программе инфузионной терапии у всех пациенток составляло - 4:1. Инфузионная терапия пациенткам до оперативного лечения не проводилась. Перед оперативным лечением, в течение его, при поступлении в ОРИТ, а также через 12 и 24 часа после поступления в ОРИТ у всех пациенток осуществляли регистрацию параметров системной гемодинамики: частоты сердечных сокращений (ЧСС), систолического артериального давления (АД сист.), диастолического артериального давления (АД диаст.) и среднего артериального давления (САД), а также насыщение (Sa) кислородом (O₂) капиллярной крови с помощью полифункционального монитора МПР6-03 (Тритон, Россия). Электролитный состав (калий, натрий и хлор) венозной крови определяли перед началом оперативного лечения, при поступлении в ОРИТ, а также через 12 и 24 часа после поступления в ОРИТ. Стандартизированными методами определяли показатели гематокрита, количество гемоглобина и осмолярность сыворотки. Контрольные инструментальные, гематологические и биохимические исследования были проведены на 20 беременных без сопутствующей патологии. Статистическая обработка проводилась с помощью t-критерия Стьюдента, дисперсионного и корреляционного анализа с использованием программы «Statistica-6» [3] с обязательным определением достоверности установленной связи по величине «р». Наличие связи документировалось только при p<0,05. Оценки достоверности различий в исследуемых груп-

пах больных, где был зарегистрирован интересующий нас эффект, оценивались по методу углового преобразования Фишера. Достоверными считались различия при P<0,05. Также оценивали клиническую значимость изучаемого эффекта (влияния сбалансированной и несбалансированной инфузионной терапии на параметры электролитного баланса) с помощью показателя снижения относительного риска (COP = частота исходов в группе контроля - частота исходов в группе вмешательств/частота исходов в группе контроля • 100%). Значения COP более 50% всегда соответствуют клинически значимому эффекту, от 25 до 50% - очень часто соответствуют клинически значимому эффекту [3].

Результаты и обсуждение.

Проводимая в интраоперационном и послеоперационном периодах несбалансированная и сбалансированная инфузионная терапия у пациенток I и II групп обуславливала стабильность системной гемодинамики в течение всего периода наблюдения (табл. 1). Проведенный дисперсионный анализ между показателями системной гемодинамики больных I и II групп не выявил статистически значимых различий (p>0,05), что свидетельствовало об одинаковой эффективности используемых вариантов инфузионной терапии в отношении параметров системной гемодинамики.

Совершенно иная ситуация регистрировалась у пациенток I и II групп в отношении электролитного баланса при проведении несбалансированного и сбалансированного вариантов инфузионной терапии (табл. 2). В конце первых суток у пациенток I группы регистрировалось статистически значимое увеличение концентрации в сыворотке венозной крови ионов хлора и натрия по сравнению с аналогичными показателями контроля и пациенток II группы (табл. 2). Более того, у пациенток I группы в течение всего периода наблюдения регистрировалась статистически значимая динамика увеличения в сыворотке венозной крови концентрации ионов хлора и натрия (табл. 2). Проведенный корреляционный анализ, который позволил выявить прямую статистически значимую связь между концентрацией ионов натрия и хлора (r=0,679; p=0,001) у пациенток I группы.

Увеличение концентрации ионов натрия обуславливало увеличение осмолярности сыворотки крови у пациенток I группы по сравнению с аналогичными показателями контроля и пациенток II группы (табл. 2). Кроме того, у пациенток I группы в течение суток отмечалась статистически значимая динамика увеличения осмолярности сыворотки крови (табл. 2). Это подтверждал и проведенный корреляционный анализ, который позволил выявить прямую статистически значимую связь между концентрацией ионов натрия и осмолярностью сыворотки крови (r=0,426; p=0,05).

Применение сбалансированного варианта инфузионной терапии у пациенток II группы не способствовало изменению электролитного баланса и осмолярности сыворотки крови в течение всего периода наблюдения, которые статистически значимо не отли-

чались от аналогичных показателей контроля (табл. 2)

Повышение содержания натрия и хлора у пациенток I группы было связано с тем, что введенный в сосудистое русло пациенток 0,9% раствор натрия хлорида имеет в своем составе только два электролита – натрий и хлор. Более того, концентрация ионов натрия (154 ммоль/л) и ионов хлора (154 ммоль/л) в растворе 0,9% натрия хлорида превышает содержание аналогичных электролитов в сыворотке крови [4]. Поэтому при введении в сосудистое русло большого количества 0,9% раствор натрия хлорида развивается гипернатриемия и гиперхлоремия [4, 5].

Позитивное влияние сбалансированной инфузионной терапии на параметры электролитного баланса пациенток II группы было связано с тем, что применяемый в ее составе кристаллоидный раствор стерофундин изотонический и коллоидный раствор тетраспан имеют в своем составе физиологическую электролитную модель плазмы крови в отношении ионов натрия, калия, хлора, магния и кальция, а также физиологический кислотно-основной баланс, достигаемый легко метаболизируемыми в организме носителями резервной щелочности (анионы малата и ацетата) для замещения бикарбоната сыворотки [7, 8, 9].

Именно вышеперечисленные фармакологические эффекты дают значительные преимущества сбалансированным растворам перед несбалансированными растворами [2, 7, 8].

Более того, при инфузии сбалансированных растворов отсутствует риск развития гиперхлоремии внеклеточного пространства и возникновения почечного ангиоспазма, следствием которого является уменьшения диуреза и избыточная гидратация организма [5, 6].

Также в исследуемых группах было проведено точное вычисление значимости различных долей пациенток по показателям электролитного баланса организма с помощью метода углового преобразования Фишера для одно- и двустороннего критериев. Статистически достоверными по одностороннему критерию являлись различия между концентрацией натрия (Pj односторонний – <0,05) и хлора (Pj односторонний – <0,05), среди пациенток I и II групп. Это позволяло говорить о том, что проведение сбалансированной инфузионной терапии позволяет избежать влияния на электролитный баланс плазмы крови.

Показатель СОР по концентрации ионов хлора в сыворотке крови у пациенток I и II групп был равен 26%, а по концентрации ионов натрия – 25%, что часто соответствует клинически значимому эффекту. Эти показатели также свидетельствовали о позитивном влиянии сбалансированной инфузионной терапии на параметры электролитного баланса.

Выводы.

1. Использование сбалансированного и несбалансированного вариантов инфузионной терапии оказывает одинаково позитивное влияние на системную гемодинамику.

2. Применение несбалансированного варианта инфузионной терапии, в отличие от сбалансированного, вызывает изменения электролитного баланса сыворотки крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликов А.В., Казаков Д.П., Егоров В.М., Кузнецов Н.Н. Анестезия и интенсивная терапия в акушерстве и неонатологии. – М.: Медицина, 2001. – 264 с.

2. Лукач В.Н., Стуканов М.М., Гирш А.О. и др. Оценка эффективности сбалансированных и несбалансированных кристаллоидных растворов, применяемых в программе инфузионной терапии у больных с кровопотерей. // Вестник хирургии имени И.И. Грекова, 2009. - № 6 т. 168. – С. 62-66.

3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. - М.: Медицина, 2002. - 305с.

4. Kellum J.A. Saline-induced hypercloraemia metabolic acidosis. // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30. - P. 259-261.

5. Zander R. Base Excess und Laktatkonzentration von infusions und Blutprodukten. // Anesthesiol intensivmed Notfallmed Schmerzther. - 2002. – Vol. 37. – P. 359-363.

6. Zander R., Adams H.A., Boldt J. et al. Forderungen und Erwartungen an einen optimalen volumentransport. // Anesthesiol intensivmed Notfallmed Schmerzther. – 2005. - Vol. 40. - P. 321-326.

7. Lang W., Zander R. Prediction of dilutional acidosis based on the revised classical dilution concept for bicarbonate. // J. Appl. Physiol. – 2005. - Vol. 98. – P. 62-71.

8. Zander R. Base Excess und Laktatkonzentration von Infusionslösungen und Blutprodukten. // Anesthesiol intensivmed Notfallmed Schmerzther. - 2002. - Vol. 37. - P. 359-363.

9. Boldt J., Schollhorn. T., Schulte G. et al. Volume replacement with a new balanced hydroxyethylstarch preparation (HES 130/0.42) in patients undergoing abdominal surgery. // European Journal of Anaesthesiology. – 2006. - Vol. 4. - P. 1-9.

Cacula E.N., Popov O.A., Girsh A.O. **WOMEN'S IN CHILDBIRTH BY OPERATION OF CESAREAN SECTION ELECTROLYTE BALANCE AFTER CARRYING OUT OF DIFFERENT VARIANTS OF INFUSION THERAPY**

Abstract. The research objective was the estimation women's in childbirth parameters of electrolyte balance after carrying out of balanced and not balanced variants of infusion therapy. In work the results of simple blind, prospective, randomized research of 54 women in childbirth after childbirth by operation of Cesarean section in a planned order are presented. It is revealed that using unbalanced variant of infusion therapy makes positive impact on system haemodynamics, but causes statistically significant changes electrolyte balance in comparison with control and the patients who received balanced infusion therapy. It is established that using balanced variant of infusion therapy positively influences on system haemodynamics and doesn't cause changes of electrolyte balance in comparison with the control data.

Key words: infusion therapy, electrolyte balance, cesarean section.

Авторская справка

Какуля Евгений Николаевич

МУЗ Родильный дом № 2, Россия, г. Омск; заведующий отделением анестезиологии и реанимации

Попов Олег Александрович

МУЗ Родильный дом № 2, Россия, г. Омск; кандидат медицинских наук, главный врач

Гирш Андрей Оттович

Омская государственная медицинская академия; доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии и реанимации

Россия, г. Омск, 644052. ул. 24 Северная, д. 204, корпус 1. кв. 143, Гирш А.О.

e-mail: agirsh@mail.ru.

Authors

Cacula Evgeniy N.,

MUZ Delivery Hospital №2, Russia, Omsk ; Head of branch anesthesiology and resuscitation

Popov Oleg A.

MUZ Delivery Hospital №2, Russia, Omsk; Head physician

Girsh Andrey O.,

Omsk state medical academy, Russia, Omsk; Doctor of medicine, professor chair of anesthesiology and resuscitation,

Russia, Omsk, 644052. Street 24 Northern, д. 204, the case 1. Sq. 143, Girsh A.O.

e-mail: agirsh@mail.ru.

Кирилловских О.Н., Мякотных В.С., Боровкова Т.А., Мякотных К.В.
**ПОСТИНСУЛЬТНАЯ ЭПИЛЕПСИЯ У ПОЖИЛЫХ: ФАКТОРЫ РИСКА, КЛИНИКА,
 НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ, ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ**

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. На основе наблюдения 29 больных в статье всесторонне рассматривается проблема эпилепсии, возникшей после перенесенного ишемического инсульта в пожилом и старческом возрасте. Выделены факторы риска развития постинсультной эпилепсии - корковая и корково-подкорковая локализация очагов ишемии малой и средней величины в лобных и височных отделах головного мозга. Определен период манифестации эпилептических припадков в промежутке между 6 месяцами и 2 годами после перенесенного инсульта. Выделены преобладающие клинические варианты припадков - сложные парциальные припадки, часто сопровождающиеся постиктальным моторным дефицитом. Представлены основные патологические изменения биоэлектрической активности головного мозга - латерализованные эпилептиформные разряды, региональные замедления на фоне высокоамплитудного варианта ЭЭГ при наличии выраженной межполушарной асимметрии. Рекомендованы частичная депривация сна и ЭЭГ мониторинг сна для выявления латентной эпилептиформной активности в диагностически сложных случаях. Показана возможность результативной фармакотерапии антиконвульсантами с нейропротективными свойствами и линейной фармакокинетикой, действующих преимущественно на парциальные приступы.

Ключевые слова: постинсультная эпилепсия, факторы риска, биоэлектрическая активность мозга, противоэпилептическое лечение.

Актуальность проблемы. В последние годы все большее внимание приобретает проблема эпилепсии пожилого и старческого возраста, дифференциального диагноза эпилептических припадков и неэпилептических пароксизмальных состояний иного генеза, а также возможностей лечения эпилепсии у пожилых, страдающих множественной патологией [1, 2, 3, 19]. Среди всей совокупности пациентов, больных эпилепсией в возрасте старше 60 лет выделяются эпилепсия у пожилого пациента, которая существует в течение многих лет – «старенная эпилепсия», и эпилепсию с дебютом заболевания в пожилом возрасте – «поздняя эпилепсия» или «epilepsia tarda». Основным этиологическим фактором для развития поздней эпилепсии является цереброваскулярная патология, в частности, перенесенный ишемический инсульт [3, 12, 13]. Частота развития постинсультной эпилепсии в популяции, по данным различных авторов, составляет от 2,5% до 9% [3, 15]. Возможно ли спрогнозировать развитие данного осложнения, какие факторы способствуют клинической манифестации постинсультной эпилепсии, варианты клинического течения, нейрофизиологические особенности, принципы фармакотерапии – эти и другие вопросы, несмотря на интерес к ним отечественных и зарубежных исследователей, остаются до конца не выясненными.

Цель исследования – определение факторов риска, клинических и нейрофизиологических особенностей эпилепсии и возможностей ее лечения у лиц пожилого и старческого возраста, перенесших ишемический инсульт.

Материал и методы исследования.

В течение 5 лет проводилось всестороннее проспективное исследование 29 пациентов в возрасте старше 60 лет ($m=75,5 \pm 6,87$ лет), перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, после которого впервые возникли эпилептические припадки. Диагноз эпилепсии устанавливался на основании наблюдения не менее двух неспровоцированных припадков, произошедших не ранее 2 недель после перенесенного инсульта. Группа сравнения - 30 пациентов в среднем возрасте $75 \pm 5,66$ лет с давностью перенесенного инсульта 3-5 лет, но не страдавших эпилепсией. Отбор больных в группу сравнения проводился методом случайной выборки среди больных, поступающих на стационарное лечение, при этом критерием отбора были возраст 60 лет и старше и перенесенное острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе.

Исследование включало анализ клинических данных, в том числе сопутствующей патологии, оценку степени когнитивных нарушений по шкале Mini-Mental State Examination (MMSE) и тесту рисования часов, широкий спектр лабораторных анализов, ЭКГ, консультации специалистов. Исследование состояния церебральной гемодинамики проводилось методом транскраниальной ультразвуковой доплерографии (ТК УЗДГ) аппаратом Companion III (Siemens, Германия) и с помощью дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий на аппарате Acuson Asper (Siemens, Германия). Магниторезонансная то-

мография (МРТ) проводилась на аппарате «Образ 2» (Россия) с напряженностью магнитного поля 0,14 Тесла и величиной магнитной индукции 0,5 Тесла в сагиттальной, фронтальной и аксиальной плоскостях при толщине среза 5 мм. Электроэнцефалография (ЭЭГ) проводилась с использованием компьютерного электроэнцефалографа «Энцефалан-131-01» (Россия, Таганрог) с визуальной оценкой и вычислением индексов для стандартных частотных диапазонов и амплитуды основных ритмов. В случае отсутствия на рутинной ЭЭГ эпилептиформной активности или при сомнительных результатах больным проводили дополнительные исследования – ЭЭГ с депривацией сна, дневной амбулаторный ЭЭГ - мониторинг, ЭЭГ-мониторинг сна на аппарате «Nicolet-one». При проведении ЭЭГ с депривацией сна больные будили в день исследования в 4 часа утра и в 9 часов проводили запись ЭЭГ. Частичная депривация сна, на наш взгляд [8], не менее информативна чем полная, но легче переносится пожилыми пациентами. При оценке изменений на ЭЭГ использовалась Классификация Американской Ассоциации нейрофизиологов [9].

Результаты и их обсуждение.

У всех пациентов основной исследуемой группы, согласно классификации, эпилептические припадки относились к категории поздних, к так называемой «рубцовой эпилепсии» [12]. В течение первого года после инсульта эпилептический приступ был отмечен у 17 (58,6%) пациентов, в течение второго года – у 11 (37,9%) и у одного больного первый приступ произошел на 3-й год после перенесенного инсульта. Всего у 2 (6,9%) больных первые эпилептические припадки манифестировали в сроки до 6 месяцев после инсульта.

Так как эпилепсия при ишемической болезни головного мозга относится к симптоматической, локально обусловленной, и ее клинические проявления связаны с патологическими процессами в определенной структуре головного мозга, нами был проведен всесторонний анализ локализации и размеров постинсультных ишемических очагов, выявленных при проведении МРТ (табл. 1).

Из приведенных данных очевидно, что среди пациентов с постинсультной эпилепсией значительно чаще ($p < 0,01$) встречались небольшие и средней величины очаги постинсультных рубцовых изменений. Очаги размягчения большой величины оказались, наоборот, совершенно нехарактерными для данной группы больных. Кроме того, для больных с постинсультной эпилепсией отчетливо характерной оказалась преимущественно корковая и корково-подкорковая локализация очагов размягчения ($n=25$; 86,2%), тогда как среди больных, перенесших инсульт, но не страдавших постинсультной эпилепсией, таковых оказалось всего 2 (6,7%); $p < 0,001$. Локализация постинсультных структурных изменений в основной группе больных представлена на рис. 1.

Среди больных, страдавших постинсультной эпилепсией, преобладали кистозно-глиозные изменения корково-подкорковой локализации преимущественно в лобных и височных областях головного мозга ($n=25$; 86,2%). При этом локализация ишемического очага оказывала влияние на клиническую картину эпилептических припадков

Таблица 1

Результаты нейровизуализации у пациентов с постинсультной эпилепсией

Варианты изменений на МРТ	Постинсультная эпилепсия (n=29)	Группа сравнения (n=30)
Варианты постинсультных очагов		
Ишемический	29 (100%)	26 (86,7%)
Постгеморрагический	0	4 (13,3%)
Размер очага		
Малый (<20 мм)	10 (34,5%)	0
Средний (20-35 мм)	18 (62,1%)	14 (46,7%)
Большой (>35 мм)	1 (3,4%)	16 (53,3%)
Преимущественная локализация очаговых изменений		
Корковая	11 (37,9%)	0
Корково-подкорковая	14 (48,3%)	2 (6,7%)
Подкорковая	4 (13,9%)	28 (93,3%)

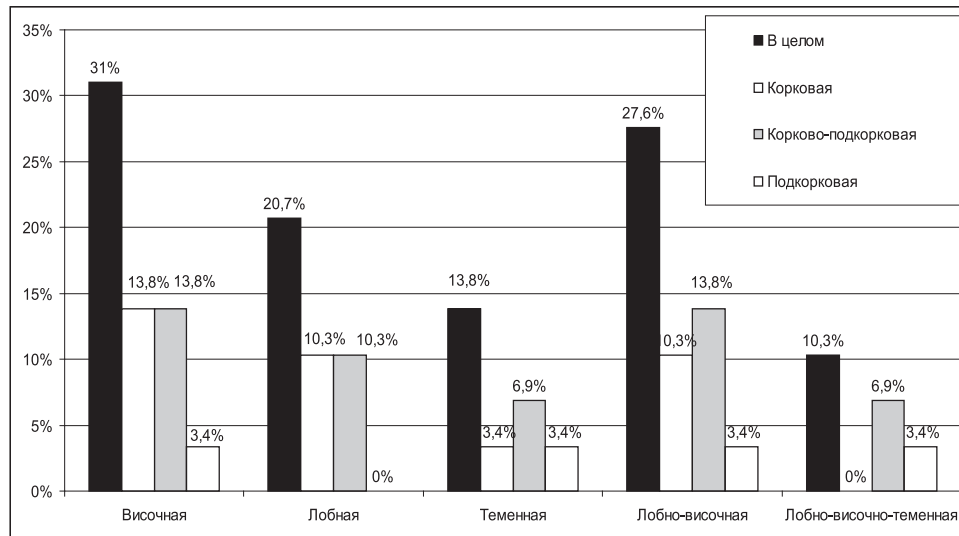


Рис. 1. Локализация очага ишемического размягчения у больных постинсультной эпилепсией (n=29)

и в некоторой степени определяла прогноз течения эпилепсии. Постинсультные изменения в височных отделах головного мозга коррелировали с манифестацией эпилепсии со сложных парциальных приступов (n=9; 31%), у трети больных (n=3; 33,3%) эти приступы протекали с вторичной генерализацией. При локализации постинсультных кистозно-глиозных изменений в лобной доле с вовлечением сенсомоторной коры эпилепсия дебютировала простыми парциальными приступами (n=8; 27,6%), из них у 3 (37,5%) - с вторичной генерализацией. В 5 (17,2%) случаях обширные очаги ишемического размягчения размером свыше 35 мм в диаметре вовлекали в патологический процесс две и три доли коры головного мозга, что также отражалось на клинических характеристиках первых эпилептических приступов. В целом у наблюдавшихся нами больных преобладали сложные парциальные эпилептические приступы, второе место по частоте встречаемости занимали простые парциальные приступы, возникающие преимущественно при локализации ишемического очага в корковых отделах головного мозга. При локализации постинсультных кистозно-глиозных изменений в области моторных отделов коры головного мозга (n=2; 6,9%) первые приступы имели характер джексоновских.

При исследовании церебрального кровотока с помощью ТК УЗДГ (табл. 2) не выявлено достоверных различий в показателях средней линейной скорости кровотока (Vm) и индекса периферического сосудистого сопротивления (Pi) по средней мозговой артерии, хотя паттерн стеноза несколько чаще выявлялся у пациентов группы сравнения (p>0,05). Степень атеросклеротического поражения экстрацеребральных сосудов, определяемая при дуплексном сканировании по значению толщины комплекса интима-медиа на уровне общей сонной артерии, была сопоставима в обеих сравниваемых группах. Среднее значение медианы стеноза, выраженное в процентах, в группе больных с постинсультной эпилепсией составило 48,5% (40,25-54,25%), в группе сравнения - 51,1% (42,8-56,7%); p>0,05.

Таким образом, степень окклюзирующего атеросклеротического поражения экстра- и интрацеребральных сосудов была сопоставима в обеих исследуемых группах и, следовательно, не могла являться фактором риска для развития постинсультной эпилепсии.

При исследовании ЭЭГ выявлены некоторые общие черты, которые отличают биоэлектрическую активность головного мозга пациентов с постинсультной эпилепсией от таковой у лиц аналогичного возраста, перенесших инсульт, но не страдающих эпилептическими приступами (табл. 3). Это, прежде всего, более высокий амплитудный уровень основных ритмов ЭЭГ: если в группе сравнения амплитуда ЭЭГ, как правило, не превышала 60 мкВ, то у больных эпилепсией средний амплитудный уровень оказался вдвое выше - 116±4,8 мкВ. Для больных эпилепсией оказалась также характерной заметная тенденция к синхронизации основной биоэлектрической активности за счет дисфункции срединно-стволовых структур головного мозга. Так, при исследовании рутинной ЭЭГ у 12 (41,4%) пациентов, страдавших постинсультной эпилепсией, наблюдался высокоамплитудный для данного возраста вариант ЭЭГ с тенденцией к синхронизации основных корковых ритмов; в группе сравнения аналогичный показатель - 2 (6,7%); p<0,001.

Отчетливо реже (P<0,001), чем в группе сравнения, среди пациентов основной группы, страдавших постинсультной эпилепсией, определялось повышение индекса бета-активности. Это, с одной сторо-

ны, подтверждает известное положение о том, что для пожилых людей в популяции характерно увеличение индекса бета-активности [4,5,6,7,10], с другой, свидетельствует об определенной редкости данного феномена среди больных эпилепсией того же возраста. Полученные различия согласуются с фактом того, что, несмотря на увеличение индекса бета-активности преимущественно у представителей группы сравнения, вспышки высокоамплитудных бета-волн, считающиеся условно-эпилептиформным феноменом [7,9], чаще наблюдались среди больных эпилепсией (табл. 3).

Значительно чаще (p<0,01) среди больных с постинсультной эпилепсией отмечалось замедление основной активности. При этом за-

Таблица 2

Результаты исследования церебрального кровотока

Показатели	Постинсультная эпилепсия	Группа сравнения
Vm (см/сек)	61 (53-65)*	63 (57-69)*
Pi	0,77 (0,75-0,8)*	0,76 (0,74-0,79)*
Коэффициент асимметрии Vm (%)	30,0 (26-32)*	31 (27-33)*
Паттерн стеноза (n)	12 (41,4%)	17(56,7%)
Толщина комплекса интима-медиа (мм)	1,68 (1,22-1,94)*	1,71 (1,28-1,91)*
Стенозы брахиоцефальных артерий (%)	48,5 (40,25-54,25)*	51,1 (42,8-56,7)*

Примечание: * - медиана и интерквартильный размах

Таблица 3

Сравнительная характеристика результатов ЭЭГ

Основные характеристики ЭЭГ	Основная группа (n=29)	Группа сравнения (n=30)	
Гиперсинхронный высокоамплитудный вариант (sharp-looking)	12 (41,4%)	2 (6,7%)	
Десинхронный низкоамплитудный вариант	0	14 (46,7%)	
Дезорганизованный гиперсинхронный вариант	16 (55,2%)	2 (6,7%)	
Дезорганизованный десинхронный вариант	1 (3,4%)	12 (40%)	
Средний амплитудный уровень ЭЭГ (мкВ)	116±4,8	60,4±5,3	
Межполушарная асимметрия	19 (65,5%)	11 (36,7%)	
Увеличение индекса бета-активности > 40%	3 (10,3%)	18 (60%)	
Вспышки бета-активности (excessive fast)	5 (17,2%),	3 (10%)	
Замедление основной фоновой активности	I степени	8 (27,6%)	4 (13,3%)
	II степени	3 (10,3%)	0
	III степени	1 (3,4%)	0
Периодическое региональное замедление	в лобных отведениях	7 (24,1%)	5 (16,7%)
	в височных отведениях	13 (44,8%)	0
Фокальная эпилептиформная активность	в состоянии бодрствования	12 (41,4%)	0
	в состоянии сна	5 (17,2%)	0
Диффузная эпилептиформная активность	0	0	
Индекс медленноволновой активности (%)	39,5±6,5	29,9±3,1	



Рис. 2. ЭЭГ больного К., 69 лет. Очаг регионарной эпилептиформной активности «острая-медленная волна», «спайк-медленная волна» в проекции очага постинсультного размягчения в правой височной области.



Рис. 3. ЭЭГ больной В., 72 лет, Региональная эпилептиформная активность «острая-медленная волна» в правой височно-теменной области на фоне выраженной межполушарной асимметрии и относительной сохранности фоновой ЭЭГ в интактном левом полушарии. Запись на фоне депривации сна.

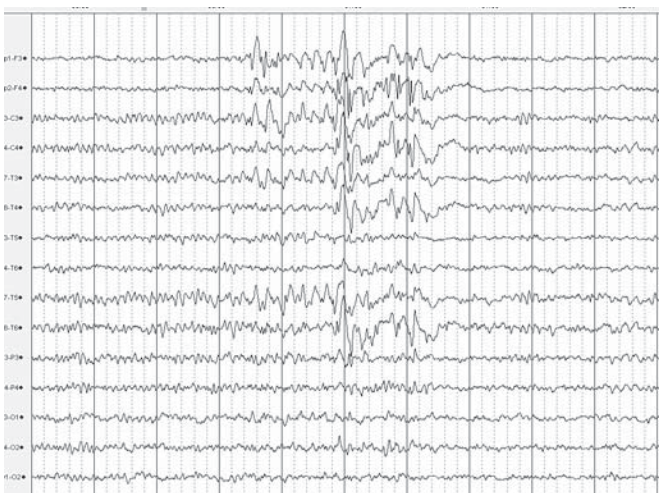


Рис. 4. ЭЭГ больной П., 85 лет. Диагноз: последствия ишемического инсульта в бассейне левой передней мозговой артерии с очагом размягчения в левой лобной области, 13 мм в диаметре; симптоматическая эпилепсия, сложные парциальные эпилептические припадки с вторичной генерализацией. После депривации сна регистрируется эпилептиформная активность в виде комплексов «спайк-медленная волна» в левой лобно-височной области с тенденцией к распространению на одноименные области контралатерального полушария.



Рис. 5. ЭЭГ больного А., 74 лет., Диагноз: последствия ишемического инсульта в бассейне левой внутренней сонной артерии; симптоматическая эпилепсия, простые парциальные приступы с вторичной генерализацией. В I - II стадии медленноволнового сна регистрируются эпилептиформные комплексы типа «острая-медленная волна» в левой лобно-височной области.

медление основной активности II и III степени вообще не регистрировалось у представителей группы сравнения. Это согласуется с тем, что замедление основной активности по сравнению с возрастной нормой всегда является признаком серьезной патологии головного мозга [7,9], хотя, с другой стороны, у пожилых больных замедление основной активности I степени может считаться условно-нормальным феноменом, так как после 60 лет происходит постепенное физиологическое уменьшение частоты альфа-ритма приблизительно на 1 Гц за каждые прожитые 10 лет [14,18]. Тем не менее, замедление основной активности II-III степени у пожилых пациентов чаще всего является маркером выраженной корковой атрофии мозга [9,17].

Характерной чертой ЭЭГ больных, страдавших постинсультной эпилепсией, при достаточно больших очагах размягчения головного мозга явилась выраженная межполушарная асимметрия – относительно интактная ЭЭГ над неповрежденным полушарием и выраженная медленноволновая активность с эпилептиформными элементами типа «острая-медленная волна», «спайк-медленная волна» в проекции очага постинсультного размягчения (рис 2, 3).

У пациентов группы сравнения межполушарная асимметрия наблюдалась вдвое реже, чем среди больных, страдавших постинсультной эпилепсией (табл. 3). При этом у представителей группы сравнения на стороне очага ишемии чаще наблюдалась низкоамплитудная медленноволновая активность тета-диапазона без спайкового и/или островкового компонента.

В целом информативность рутинной ЭЭГ у пациентов с постинсультной эпилепсией оказалась достаточно высокой: у 12 (41,4%) на ЭЭГ бодрствования выявлена фокальная и латерализованная эпилептиформная активность «острая-медленная волна», «спайк-медленная волна»; условно-эпилептиформная активность в виде регионально-периодического замедления и всплеск высокоамплитудных заостренных тета-дельта волн зарегистрирована у 20 (69,0%) пациентов. Тем не менее, у 9 (31,0%) пациентов не выявлялось очага эпилептиформной и/или условно-эпилептиформной активности на рутинной ЭЭГ; это в основном были пациенты с небольшими, менее 15 мм в диаметре, очагами размягчения, выявленными при проведении им МРТ. У 11 (37,9%) больных основной группы наблюдений не выявлено также отчетливой межполушарной асимметрии. Для уточнения диагноза проводилась регистрация ЭЭГ на фоне частичной депривации сна и в состоянии физиологического сна. У 5 (17,2%) больных на фоне депривации сна на рутинной ЭЭГ была зарегистрирована региональная условно-эпилептиформная активность в виде высокоамплитудных острых волн тета-диапазона, полиморфных по форме и амплитуде острых волн и полиморфных эпилептиформных комплексов «острая-медленная волна» (рис 4).

С учетом часто встречающейся в пожилом и старческом возрасте инсомнии удалось получить полноценную запись ЭЭГ во сне только у 5 (17,2%) пациентов с постинсультной эпилепсией. Картина ЭЭГ медленноволнового сна характеризовалась дезорганизованностью:

удлиненая первая фаза медленноволнового сна, сон поверхностный с частыми пробуждениями на 8-12 секунд и артефактами движения, специфические паттерны сна – К-комплексы, вертекс-потенциалы и сонные веретена – были выражены недостаточно отчетливо, дельта-сон укорочен, амплитуда дельта-активности снижена. У 3 (60%) из 5 пациентов стадии дельта-сна достигнуть вообще не удалось, вероятно, вследствие недостаточно комфортных условий регистрации. Также ни у одного пациента не была зарегистрирована стадия «быстрого сна». Тем не менее, на в целом дезорганизованном фоне у всех обследованных 5 пациентов, преимущественно во второй стадии медленноволнового сна, регистрировалась фокальная эпилептиформная активность типа «острая-медленная волна», локализованная преимущественно в лобно-височных отведениях, на стороне постинсультного очага размягчения (рис. 5).

Фармакотерапия постинсультной эпилепсии с использованием индивидуально подобранных противосудорожных препаратов в подавляющем большинстве (n=26; 89,7%) случаев позволяла достигнуть полной ремиссии приступов в течение года и более на фоне в основном монотерапии; у 3 (10,3%) больных частота приступов уменьшилась более, чем на 50%. С учетом того, что постинсультная эпилепсия является локально обусловленной, симптоматической с отчетливым парциальным компонентом приступов предпочтение отдавалось карбамазепину и/или окскарбазепину (триленталу) в качестве препарата первого выбора [16,20]. Обычно использовалась пролонгированная форма карбамазепина (финлепсин-ретард) в суточной дозе 5-10 мг/кг. Основным недостатком препарата является индукция микросомальных ферментов печени (повышение трансаминаз) и отчетливое седативное действие, сопровождавшееся сонливостью и головокружением. Поскольку у пожилых пациентов эти симптомы достаточно часто встречаются и без назначения антиконвульсантов, предпочтение нередко отдавалось более современному препарату – окскарбазепину, который, не уступая карбамазепину по эффективности, обладает лучшей переносимостью. Однако как карбамазепин, так и окскарбазепин не использовались в случаях выявления на ЭЭГ феномена вторичной билатеральной синхронизации из-за опасности аггравации приступов [11]. В нашем исследовании финлепсин-ретард получали 12 (41,4%) пациентов, трилентал 16 (55,1%). Только 2 (6,9%) больным пришлось назначить вальпроаты (депакин-хроно).

Выводы.

1. Основными факторами риска для развития постинсультной эпилепсии у представителей пожилого и старческого возраста являются корковая и корково-подкорковая локализация очагов постинсультных рубцовых изменений малой и средней величины, локализующихся преимущественно в лобных и височных отделах головного мозга, при наличии высокоамплитудной синхронизации основных корковых ритмов на ЭЭГ.

2. Подавляющее большинство случаев постинсультной эпилепсии в пожилом и старческом возрасте дебютирует в промежутке между 6 месяцами и 2 годами после перенесенного ишемического инсульта.

3. В клинической картине постинсультной эпилепсии преобладают сложные парциальные приступы, часто сопровождающиеся постиктальным моторным дефицитом, имитирующим повторный инсульт, что создает определенные диагностические трудности.

4. Наличие выраженных нарушений церебрального кровотока на макроциркуляторном уровне с образованием гемодинамически значимых стенозов не оказывает непосредственного влияния на клинические варианты и частоту эпилептических приступов при постинсультной эпилепсии пожилых.

5. Основными патологическими изменениями биоэлектрической активности головного мозга у пожилых пациентов с постинсультной эпилепсией являются периодические латерализованные эпилептиформные разряды и/или периодическое региональное замедление, регистрируемые в той же гемисфере, что и очаг постинсультных рубцовых изменений, на фоне высокоамплитудного для пожилого возраста варианта ЭЭГ при наличии выраженной межполушарной асимметрии

6. В диагностически сложных случаях проведение частичной депривации сна и ЭЭГ мониторинга сна у больных пожилого и старческого возраста позволяет выявить латентную эпилептиформную активность и подтвердить эпилептический генез пароксизмов.

7. Фармакотерапия постинсультной эпилепсии в пожилом и старческом возрасте в большинстве случаев позволяет добиться полной ремиссии эпилептических приступов при использовании в качестве монотерапии антиконвульсантов с нейропротективными свойствами и линейной фармакокинетикой, действующих преимущественно на парциальные приступы, таких как карбамазепин и окскарбазепин (трилентал).

ЛИТЕРАТУРА

1. Власов, П.Н. Алгоритмы диагностики и терапии эпилепсии у взрослых в поликлинических условиях // Фарматека. – 2006. – № 7. – С. 96 – 104
2. Власов, П.Н. Некоторые практические аспекты терапии эпилепсии у взрослых // Consilium Medicum. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 116–124
3. Гехт, А.Б., Гусев Е.И. Эпилепсия у пожилых больных и особенности ее лечения // Фарматека. – 2001. – № 1. – С. 65 – 70
4. Жирмунская Е.А. В поисках объяснения феноменов ЭЭГ. – М.: НФП Биола, 1996. – 117 с.
5. Зенков, Л.Р. Клиническая эпилептология : 2-е изд., испр. и доп. - М.: Медицинское информационное агентство, 2010. - 405 с.
6. Зенков, Л.Р., Елкин М.Н., Медведев Г.А. Клиническая нейрофизиология нейрогерiatricких расстройств // Достижения в нейрогерiatricрии. – М., 1995. – С. 167–173
7. Зенков, Л.Р., Притыко А.Г. Фармакорезистентные эпилепсии. – М.: Медпресс-информ, 2003. – 207 с.
8. Кирилловских О.Н., Шершевер А.С. Комплексный подход к лечению эпилепсии у пациентов пожилого и старческого возраста с учетом этиологии, патогенеза и особенностей клинической картины // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 3(68). – С. 136–140
9. Мухин, К.Ю., Петрухин А.С., Глухова Л.Ю. Эпилепсия. Атлас электроклинической диагностики. – М.: Альварес Публишинг, 2004. – 440 с.
10. Мякотных, В.С., Гальперина Е.Э. Электроэнцефалографические особенности у лиц пожилого и старческого возраста с различной церебральной патологией. – Екатеринбург: УГМА, 1996. – 30 с.
11. Рациональная антиэпилептическая фармакотерапия / К.В. Воронкова, А.С. Петрухин, О.А. Пылаева, А.А. Холин. – М.: БИНОМ, 2008. – 192 с.
12. Barolin, G.S., Sherzer E. Epileptische Anfälle bei Apoplektikern // Wein Nerven. – 1962. - Vol. 20. – S. 35–47
13. Brodie, M.J., Kwan P. Epilepsy in elderly people // BMJ. – 2005. - Vol. 3, № 331 (7528). - P. 1317–1322
14. Drury, L., Beydown A., Drury L. Pitfalls of EEG interpretation in epilepsy // Neurol. Clin. – 1993. – Vol. 11. – P. 857–881
15. Epileptic seizures after fist stroke: the Oxfordshire community stroke project / Burn M., Dennis J., Bamford J., Sandercock P., Wade D., Warlow C. // BMJ. – 1997. – P. 1582–1587.
16. Ettinger, A.B. Diagnosing and treating Epilepsy in elderly // US Neurological disease. – 2007. – Vol.6. – P. 65–69
17. Holschneider D.P., Leuchter A.F. Clinical neurophysiology using electroencephalography in geriatric psychiatry: neurobiological implications and clinical utility // Geriatr. Psychiat. and Neurol. Fall. – 1999. – Vol. 12. – P. 150–164
18. Klass D.W., Brenner R. Electroencephalography of the elderly // J. Clin. Neurophysiol. – 1995. –Vol. 12. – P. 116–131
19. Olsen, T.S. Post-stroke epilepsy // Curr. Atheroscl. Rep. – 2001. – Vol. 3, N 4. – P. 340–344
20. Psychiatric and behavioral side effects of the newer antiepileptic drugs in adults with epilepsy / D. Weintraub, R. Buchsbaum, S.R. Resor et al. // Epilepsy Behav. – 2007. – Vol. 10, N 1. – P. 105–110

Kirillovskikh O.N., Myakotnykh V.S., Borovkova T.A., Myakotnykh K.V. **POST-STROKE EPILEPSY OLDER: RISK FACTORS, CLINIC, NEUROPHYSIOLOGY, OPPORTUNITIES PHARMACOTHERAPY**

Abstract. Based on observations of 29 patients in a comprehensive article deals with the problem of epilepsy, which arose after ischemic stroke in elderly and senile age. Identified risk factors for post-stroke epilepsy - cortical and subcortical localization of cortical-lesions ischemia of small and medium size in the frontal and temporal lobes of the brain. Defined period of manifestation of epileptic seizures in the interval between 6 months and 2 years after stroke. Identified the predominant clinical variants of seizures - complex partial seizures, often accompanied by motor post-seizures deficits. The basic pathological changes of bioelectrical activity of the brain - lateralization epileptic discharges, the regional slowdown in the background of high-amplitude EEG variants in the presence of severe hemispheric asymmetry. Recommended by partial sleep deprivation and sleep EEG monitoring for detection of latent epileptic activity in diagnostically difficult cases. The possibility of effective pharmacotherapy with anticonvulsants of neuroprotective properties and linear pharmacokinetics, acting mainly on the partial seizures.

Keywords: Post-stroke epilepsy, risk factors, electrical activity of the brain, anti-epileptic medication.

Авторская справка.
Кирилловских Ольга Николаевна
Мякотных Виктор Степанович
Боровкова Татьяна Анатольевна
Мякотных Ксения Викторовна

ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, кафедра гериатрии
Россия, 620905 Екатеринбург, ул. Соболева, 25, Свердловский областной клинический психоневрологический госпиталь для ветеранов войн, кафедра герии-

атрии.
E-mail: vmaykotnykh@yandex.ru

Authors
Kirillovskiykh Olga N.
Myakotnykh Viktor S.
Borovkova Tatyana A.
Myakotnykh Kseniya V.

Ural state medical academy, Department of geriatric.
Russia, 620905 Ekaterinburg, Soboleva Street, 25, Sverdlovsk regional clinical psychoneurological hospital for veterans of wars, Department of geriatric.
E-mail: vmaykotnykh@yandex.ru

УДК 616.832-004.2:616-08-039.71

Корелина А.А., Мякотных В.С., Боровкова Т.А.

ВОЗМОЖНОСТИ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ И ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОНТРОЛЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. У 204 больных рассеянным склерозом проводились курсы восстановительного лечения с использованием 4 вариантов комплексных реабилитационных мероприятий под контролем как клинической динамики, так и повторных инструментальных и лабораторных исследований с определением показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты в системе крови. Показана эффективность восстановительной терапии, включающей лечебную гимнастику, балансотерапию и, в особенности, программируемую электромиостимуляцию. Результативность лечения зависит от степени тяжести заболевания, и наибольший эффект наблюдается у больных с тяжестью заболевания, не превышающей 4 баллов по шкале EDSS. Позитивная динамика показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты может использоваться в качестве критерия эффективности и безопасности проводимого восстановительного лечения.

Ключевые слова: рассеянный склероз, восстановительное лечение, электромиостимуляция, перекисное окисление липидов.

Проблема восстановительного лечения больных рассеянным склерозом (РС) становится все более и более актуальной, хотя до последнего времени отсутствовали убедительные доказательства эффективности и безопасности некоторых физических методов нейрореабилитации при РС, в особенности электромиостимуляции [11,14]. Нашими исследованиями в этой области показана эффективность и безопасность метода программируемой электромиостимуляции в восстановительном лечении больных РС [8,9,10]. Однако контролируемых сравнительных исследований результативности целого ряда методов восстановительной терапии до сего времени не проводилось, и мы решили восполнить этот пробел, учитывая то, что РС относится к категории демиелинизирующих заболеваний и, как известно, около 70-80% сухой массы миелина центральной нервной системы (ЦНС) составляют липиды, в особенности фосфолипиды [5], которые способны к быстрому обновлению. Одним из вероятных механизмов быстрой модификации липидного слоя миелина является процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), основным субстратом которого являются ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов. Более того, процесс ПОЛ осуществляется преимущественно в зонах перехвата Ранвье, и прохождения импульса по нерву сопровождается усилением этого процесса и появлением свободных радикалов, причем между их количеством и электрической активностью нерва имеется прямая зависимость. Поступающие из глубины миелиновой оболочки антиоксиданты, тормозя реакции ПОЛ, быстро восстанавливают стационарное состояние нервного волокна. Кроме того, в очагах демиелинизации при РС появляются эмбриональные липиды, которых почти нет в зрелом миелине. Эти липиды легко окисляются и также могут становиться субстратом для ПОЛ. Прямым подтверждением активации свободнорадикальных процессов при РС является повышение уровня нитратов/нитритов и малонового диальдегида в цереброспинальной жид-

кости больных РС [7]. Дополнительным фактором риска развития окислительного стресса при РС является большое количество аскорбата, который при определённых концентрациях из антиоксиданта превращается в прооксидант и активирует неферментативные процессы ПОЛ. Риск развития окислительного стресса повышается также за счет того, что активность ферментативных антиоксидантных систем в мозге - каталазы и глутатионпероксидазы - значительно ниже, чем в других тканях [6]. Таким образом, резкое усиление процессов перекисного окисления приводит к дезорганизации механизмов антиоксидантной защиты клетки и формированию оксидантного стресса, который в настоящее время рассматривается как один из общих механизмов повреждения тканей организма [13]. Появление свободных радикалов может являться одним из важных путей образования аутоантигенов и развития аутоиммунного процесса. Гиперлипидемия, в свою очередь, увеличивая количество субстратов ПОЛ, подавляет иммунную систему, а через связь «лизоцитин-комплемент» способствует формированию иммунных комплексов с аутоантигенами. Таким образом, создаётся порочный круг демиелинизации, поддерживающий аутоиммунный процесс, характерный для РС [20]. Вместе с тем, имеющиеся сведения о состоянии антиоксидантных систем при РС немногочисленны и противоречивы: при одних и тех же обстоятельствах выявлялись как повышение активности антиоксидантной системы, так и её снижение [12]. В связи с этим нам показалось интересным проследить не только изменения в состоянии больного РС за период восстановительного лечения, но и оценить динамику состояния ПОЛ и антиокислительной защиты (АОЗ), что может помочь при определении эффективности лечебных мероприятий и в прогнозе.

Цель исследования – изучить возможности восстановительного лечения больных РС с помощью разных реабилитационных методов при разной их эффективности и динамику состояния процессов ПОЛ и АОЗ системы крови у больных с разной степенью тяжести заболевания.

Материал и методы исследования.

Наблюдалось 204 пациента с диагнозом РС, подтвержденным в соответствии с международными критериями. Пациенты были разделены на две группы – 1-ю, основную (n=154) и 2-ю, сравнительную (n=50)) в зависимости от применяемого комплекса восстановительного лечения. Основная группа была подразделена еще на 3 подгруппы: Подгруппа 1А (n=44) посещала занятия лечебной гимнастики (ЛГ) и балансотерапии. Подгруппа 1Б (n=84) посещала занятия ЛГ, балансотерапии и программируемой электромиостимуляции (ПЭМС). Подгруппа 1В (n=26) посещала занятия ЛГ и ПЭМС. Физическая реабилитация представителей 2-й группы ограничивалась только занятиями ЛГ. Пациенты всех выделенных групп и подгрупп были сопоставимы по возрасту, полу, продолжительности заболевания РС. В обеих выделенных группах преобладали пациенты с рецидивирующим вариантом течения заболевания, в 1-й группе таковых было 120 (76,9%), во 2-й

Динамика объективных показателей на фоне проведенного лечения

Исследования	Группа 1А (n=44)	Группа 1Б (n=84)	Группа 1В (n=26)	Группа 2 (n=50)
Кистевая динамометрия справа (кг)	29,2±4,4 31,5±4,2 p=0,22	31,63±2,87 33,37±2,87 p=0,197	35,61±3,7 37,85±4,4 p=0,2	22,75±6,07 23,13±5,7 p=0,46
Кистевая динамометрия слева (кг)	26,9±3,6 28,8±3,5 p=0,22	29,23±2,6 30,41±2,4 p=0,25	32,54±5,68 33,23±5,27 p=0,42	19,13±5,5 20,28±5,3 p=0,38
Степень пареза мышц нижних конечностей (баллы)	4,34±0,2 4,64±0,18 p=0,024*	3,63±0,2 4,13±0,18 p=0,0001*	3,46±0,4 3,96±0,42 p=0,035*	4,0±0,31 4,35±0,26 p=0,04*
Индекс Хаузера (баллы)	2,77±0,33 2,0±0,39 p=0,0015*	3,17±0,23 2,5±0,3 p=0,0002*	3,38±0,58 2,6±0,72 p=0,04*	2,63±0,3 2,04±0,46 p=0,016*
Тест Тиннетти (баллы)	33,68±1,46 35,68±1,34 p=0,02*	32,38±0,95 34,67±0,94 p=0,0004*	32,23±2,65 33,92±2,65 p=0,16	34,04±1,05 35,54±1,36 p=0,038*
Устойчивость в положении стоя (баллы)	2,73±2,8 3,0±0,27 p=0,077	2,55±0,17 3,02±0,18 p=0,0001*	2,38±0,3 2,85±0,34 p=0,018*	2,7±0,26 2,58±0,33 p=0,27
EDSS (баллы)	3,29±0,4 2,93±0,4 p=0,095	3,93±0,34 3,66±0,37 p=0,14	4,27±0,82 3,92±0,89 p=0,27	0,55±0,06 0,53±0,06 p=0,29

Примечания: а) в первой строке каждой ячейки обозначены показатели, полученные до лечения, во второй – по окончании лечения; б) * - достоверные изменения

Таблица 2

Динамика стабилметрических показателей на фоне лечения

Показатели	Группа 1А (n=44)	Группа 1Б (n=84)	Группа 1В (n=26)	Группа 2 (n=50)
Площадь эллипса (мм ²)				
С открытыми глазами	252,46±186,52 187,44±218,95 p=0,32	194,79±55,82 160,79±43,51 p=0,17	160,56±74,1 245,81±113,7 p=0,08	165,42±95,56 294,39±238,96 p=0,15
С закрытыми глазами	612,32±577,97 457,75±388,56 p=0,32	444,2±153,21 489,83±198,85 p=0,35	279,77±244,21 219,22±106,72 p=0,3	318,79±197,83 518,85±345,43 p=0,084
Качество функции равновесия (%)				
С открытыми глазами	74,95±11,13 73,9±13,74 p=0,45	77,14±9,43 80,03±3,63 p=0,25	77,14±9,4 80,03±3,6 p=0,26	74,5±12,43 70,68±12,25 p=0,32
С закрытыми глазами	59,77±14,57 59,72±14,34 p=0,49	54,65±7,7 53,87±7,3 p=0,29	60,84±18,47 63,54±10,9 p=0,39	59,1±16,6 52,31±17 p=0,27
Скорость перемещения центра давления (мм/сек.)				
С открытыми глазами	14,44±7,98 10,9±4,9 p=0,21	11,32±2,92 9,7±1,56 p=0,16	10,16±2,46 9,78±1,2 p=0,38	11,37±3,7 13,45±4,84 p=0,23
С закрытыми глазами	22,49±10,31 21,93±10,65 p=0,46	21,68±6,2 20,67±4,3 p=0,39	18,64±13,12 14,79±3,26 p=0,26	18,49±7,32 21,72±8,02 p=0,26
Усилие мышц нижних конечностей (кг)				
Справа	83,23±14,83 89,37±12,82 p=0,26	76,87±7,78 88,35±7,79 p=0,019	78,71±17,36 97,96±26,74 p=0,09	73,01±13,22 74,64±18,16 p=0,44
Слева	70,32±10,68 80,83±11,5 p=0,09	64,22±9 82,73±10,2 p=0,0037	70,53±18,29 81,78±29,57 p=0,23	71,98±14,98 74,68±13,63 p=0,39
Площадь зоны перемещения (мм ²)				
	15950,6±3136,48 20687,4±2650,64 p=0,01	17961,7±2221,88 20387,8±1528,83 p=0,036	17435,6±5492,13 17616,8±4419,87 p=0,47	17389,6±3435,56 17820,3±3615,13 p=0,43

Примечания: а) в первой строке каждой ячейки обозначены показатели, полученные до лечения, во второй – по окончании лечения; б) * - достоверные изменения

– 38 (76%). В качестве регулярно проводимой базовой медикаментозной терапии использовался бетаферон (у 90 пациентов; 44,1%), копаксон (44 пациента; 21,6%), кладрибин (1 пациент; 0,5%). 69 (33,8%) пациентов регулярной медикаментозной терапии по разным причинам не получали. Одной пациентке с лечебной целью была проведена аутологичная трансплантация костного мозга. При отборе пациентов в группы наблюдений, критериями исключения являлись: стадия обострения заболевания; оценка тяжести по шкале EDSS [17] свыше 6 баллов; наличие грубых психических, когнитивных нарушений; отсутствие мотивации к лечению; выраженные тазовые расстройства; дорсопатии с компрессионными симптомами, последствия травм позвоночника. Продолжительность курса восстановительного лечения составляла 14 дней, ежедневно проводилось до 8 занятий с очень постепенным наращиванием нагрузки, что считается наиболее оптимальным [8,9,10]. В процессе восстановительного лечения оценивалась степень двигательных нарушений - по 6-балльной шкале оценки мышечной силы [1] и по формализованной шкале оценки двигательной активности [18]. Мобильность пациентов и их потребности во вспомогательных средствах передвижения определялись с помощью индекса Хаузера, разработанного специально для больных РС. Способность больных удерживать вертикальное положение оценивалась с помощью шкалы устойчивости стояния [15,16,19]. Для оценки интенсивности болевых ощущений, нередко присутствующих у больных РС, использовалась визуальная аналоговая шкала (ВАШ) [1]. Для балльной оценки степени инвалидизации применялась расширенная шкала инвалидизации Куртцке [17]. Исследование психологического статуса пациен-

тов проводилось с использованием шкалы Цунга для самооценки тревоги и депрессии [21]. Основным методом контроля динамики изменения двигательных и координаторных нарушений было стабилметрическое исследование на компьютерном стабиланализаторе «Стабилан-01» (ЗАО ОКБ «Ритм», г. Таганрог). Всем пациентам были выполнены стабилметрические тесты Ромберга, тест на устойчивость, тест изометрического сокращения мышц нижних конечностей.

Лабораторные исследования состояния ПОЛ/АОЗ всем больным проводились на второй и 12-й день восстановительного лечения, т.е. в начале и в конце курсов реабилитации. Исследовали кровь, взятую из локтевой вены натощак. Для получения плазмы кровь центрифугировали при скорости 3000 оборотов в минуту в течение 15 минут. ПОЛ в системе крови оценивали по нескольким методам, отражающим различные стадии этого процесса. Исследовались показатели суммарной хемилюминесценции (ХЛ), диеновой конъюгации (ДК) высших ненасыщенных жирных кислот с одновременным определением общих липидов (ОЛ) сыворотки крови, содержание общего белка (ОБ) и среднемолекулярных пептидов (СМП), а также перекисная и осмотическая резистентность эритроцитов (соответственно ПРЭ и ОРЭ).

ХЛ исследовалась на приборе хемилюминометре 1420.1 с ФЭУ-140 с помощью индуцированной перекисью водорода ХЛ по стандартным методикам. Результаты исследования получали в форме графика зависимости интенсивности свечения от времени (3 минуты) в виде показателей суммарной ХЛ, складывающейся из светосуммы ХЛ и амплитуды ХЛ. Определение ДК проводилось по модифицированному методу [13] путем спектрофотометрической

регистрации максимума поглощения ДК, отражающей содержание ОЛ в гептановых экстрактах. Именно ДК являются непосредственным маркером степени ПОЛ в организме и обратно коррелируют с уровнем ферментов АОЗ.

Учитывая способность эритроцита подвергаться гемолизу при активации ПОЛ и ослаблении АОЗ, изучались ПРЭ и ОРЭ, косвенно подтверждающие активность ПОЛ. Резистентность эритроцитов оценивали в процентах как величину, обратную степени гемолиза эритроцитов [3].

Для углубленной оценки активности АОЗ определяли содержание легкодоступных для свободнорадикального окисления соединений и соотношение в пробе про- и антиоксидантов [2]. Изучалась активность ферментов АОЗ - каталазы и пероксидазы [13].

Определение содержания ОБ по биуретовому методу в сыворотке крови проводили с помощью стандартных наборов реактивов «Реакомплекс», «ДИА - М». Отдельно определялось содержание СМП как продукта распада белков в условиях изменения системы ПОЛ/АОЗ в сыворотке крови, что является ориентировочным показателем степени эндогенной интоксикации. Метод основан на изменении оптической плотности сыворотки, оцениваемой на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО) [4].

Результаты и их обсуждение.

Наиболее частыми жалобами пациентов с РС были болевые ощущения в позвоночнике и конечностях, головные боли, головокружение, неуверенность при ходьбе, утомляемость.

При поступлении болевые синдромы в виде краниалгий, дорсалгий, болезненных дизестезий отмечались у 110 (53,9%) человек. После курса проведенного лечения уменьшение выраженности болевых симптомов отметили пациенты всех групп и подгрупп, в особенности получавшие в комплексе восстановительного лечения ЛГ и балансотерапию, ЛГ, балансотерапию и ЭМС (подгруппы 1А и 1Б); $p < 0,001$. В 1А группе полное или почти полное исчезновение дорсалгий, болезненных ощущений в конечностях, значительное уменьшение частоты и интенсивности головных болей отметили 12,5% пациентов, умеренный регресс вышеописанных жалоб - 87,5% пациентов; в 1Б группе аналогичные показатели - 38,7% и 61,3%, в 1В группе - 33,3% и 67,7%, во 2-й группе - 50% и 50%.

Головокружения, неуверенность и неустойчивость при ходьбе, повышенную утомляемость отмечали при поступлении все пациенты. После проведенного курса лечения отмечена положительная субъективная динамика в виде улучшения общего самочувствия, появления уверенности при ходьбе, увеличения проходимого расстояния. Уменьшение выраженности головокружений отметили 68,2% пациентов из 1А группы, 46,4% из 1Б группы, 30,8% из 1В группы; 33,3% из 2-й группы. Аналогичные показатели в плане уверенности при ходьбе - 77,3%; 71,4%; 53,8%; 37,5%. Также повысилась переносимость повседневных физических нагрузок, улучшилось выполнение координаторных проб, пациенты стали более устойчивыми в позе Ромберга. Наиболее значительное улучшение двигательных, координаторных функций определялось, таким образом, у пациентов 1А группы, посещавших занятия балансотерапии и ЛГ.

При объективной оценке степени пареза мышц нижних конечностей в проксимальном и дистальном отделах учитывался наименьший показатель. У пациентов всех групп после проведенного комплекса восстановительного лечения отмечено увеличение силы мышц, уменьшение степени пареза. Во всех группах выявлена достоверная положительная динамика ($p < 0,05$), в 1Б группе (ЛГ в сочетании с балансотерапией) - наиболее отчетливая ($p = 0,0001$). После проведенного курса лечения пациенты отмечали улучшение способности стоять в положении «ноги вместе», увеличение времени нахождения в этой стойке, увеличение не только проходимого расстояния, но и скорости ходьбы, уменьшение потребности во вспомогательных средствах - тростях и ходунках. Объективно по функциональной шкале «устойчивости стояния» выявлена достоверная ($p < 0,05$) положительная динамика у представителей всех подгрупп 1-й группы наблюдений, причем наиболее отчетливая - в 1Б группе ($p = 0,0001$). По показателю мобильности, индексу Хаузера выявлена также достоверная ($p < 0,05$) позитивная динамика у пациентов всех групп, но в 1Б группе она оказалась также наиболее выраженной ($p < 0,001$).

Отмечено также улучшение статического и динамического равновесия у пациентов всех групп и подгрупп. Больные отмечали повышение уверенности движений, устойчивости в положении сидя, стоя, при вставании, в положении стоя с закрытыми глазами, при наклонах, улучшение устойчивости при ходьбе, уменьшение степени покачивания туловища. По тесту оценки двигатель-

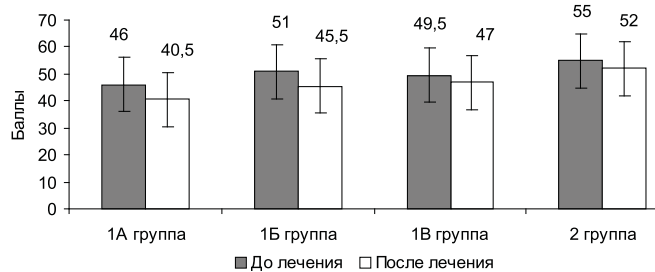


Рис. 1. Динамика показателей депрессии у пациентов исследуемых групп

ной активности [18] на фоне лечения средние показатели достигли уровня более 34 баллов, что обозначает уже только легкую степень нарушения общей двигательной активности. Наиболее отчетливая положительная динамика выявлена также у представителей 1Б группы ($p < 0,001$).

Учитывая положительную динамику показателей функциональных шкал, логично было ожидать также уменьшения показателей шкалы инвалидизации EDSS, учитывающей изменения в функциональных системах - состоянии пирамидного тракта, нарушении координации, чувствительности и т.д. Действительно, у представителей всех групп и подгрупп наблюдения наметилась положительная динамика по данному показателю, хотя вследствие короткого курса лечения не достигают критериев достоверности.

В табл. 1 представлена динамика большинства исследуемых показателей, а в табл. 2 - динамика стабилметрических показателей.

Конечно, тест Ромберга является наиболее чувствительным методом диагностики стаго-координаторных нарушений у пациентов с РС. И в наших исследованиях между показателями проб с открытыми и закрытыми глазами отмечается разница - показатели площади эллипса больше в пробе со зрительной депривацией, также увеличиваются показатели скорости перемещения центра давления и уменьшаются показатели качества функции равновесия, что свидетельствует об ухудшении баланса при снижении контроля с помощью зрения. Но, с другой стороны, уменьшение площади эллипса на фоне лечения, уменьшение скорости перемещения центра давления свидетельствует о позитивной динамике активных процессов поддержания вертикальной позы. Увеличение показателя площади зоны перемещения и показателя качества функции равновесия говорит об улучшении устойчивости. Более выраженные отклонения от нормальных исходных значений выявлены у пациентов 1А группы, занимавшихся ЛГ и балансотерапией, и в этой же группе отмечена более выраженная положительная динамика. У пациентов 2-й группы, получавших только курс ЛГ, выявлена преимущественно отрицательная динамика по данным параметрам. Также у пациентов 1А группы, занимавшихся ЛГ и балансотерапией, на фоне проводимого восстановительного лечения отмечено недостоверное уменьшение стабилметрических показателей площади эллипса, скорости перемещения центра давления, достоверно увеличилась площадь зоны перемещения, практически без динамики сохранялись показатели качества функции равновесия. Отрицательной динамики среди наблюдений данной группы не отмечено.

У пациентов 1Б группы, получавших сеансы ПЭМС и ЛГ, отмечена положительная динамика в виде недостоверного уменьшения площади эллипса в пробе с открытыми глазами, уменьшения скорости перемещения центра давления в пробах с открытыми и закрытыми глазами, увеличения качества функции равновесия в пробе со зрительной стимуляцией. У этих же пациентов наблюдалась достоверная положительная динамика в виде увеличения площади зоны перемещения; но практически без изменения сохранилось качество функции равновесия в пробе с закрытыми глазами. Некоторая отрицательная динамика отмечена в виде уменьшения площади эллипса в пробе со зрительной депривацией.

У пациентов 1В группы, одновременно занимавшихся ЛГ, балансотерапией и получавших сеансы ПЭМС, отмечена положительная динамика в виде недостоверного увеличения площади эллипса в пробе с закрытыми глазами, увеличения скорости перемещения центра давления и качества функции равновесия в пробах с открытыми и закрытыми глазами. Отмечено также увеличение площади зоны перемещения, но определяется некоторая отрицательная динамика в виде недостоверного увеличения площади эллипса в пробе со зрительной стимуляцией.

Динамика показателей ПОЛ/АОЗ у пациентов с РС на фоне лечения

показатели	Группа 1А (n=44)	Группа 1Б (n=84)	Группа 1В (n=26)	Группа 2 (n=50)
ДК (мкмоль/мл сыв) *1,5 – 3,0	1,23±0,3 1,43±0,36 p=0,19	1,52±0,22 1,46±0,18 p=0,34	1,43±0,48 1,91±0,45 p=0,059	1,64±0,42 1,69±0,4 p=0,44
ПРЭ (% гемолиза) *2,0 – 4,0	3,86±1,83 5,49±3,18 p=0,18	2,67±0,76 2,14±0,47 p=0,12	2,21±0,87 1,78±0,9 p=0,22	2,94±0,89 3,82±2,24 p=0,22
Каталаза (мккат/г Hb) *1,5 – 3,5	2,88±0,25 3,09±0,34 p=0,14	2,84±0,19 2,98±0,22 p=0,17	2,9±0,44 3,01±0,4 p=0,34	2,92±0,27 2,86±0,43 p=0,6
Пероксидаза (мккат/г Hb) *20,0 – 35,0	31,33±4,24 32,5±4,17 p=0,34	32,36±2,5 33,24±3,02 p=0,32	31,51±6,04 30,7±9 p=0,43	29,49±4,32 26,41±4,04 p=0,14

Примечание: а) в первой строке каждой ячейки обозначены показатели, полученные до лечения, во второй – по окончании лечения б) * - границы референтных значений представленных показателей

Таблица 4

Динамика клинических и биохимических и показателей в зависимости от степени тяжести РС по шкале EDSS

Показатели	Подгруппа 1В «а» До лечения / После лечения	Подгруппа 1В «б» До лечения / После лечения
EDSS (баллы)	3,2±0,16 / 2,88±0,15 p=0,002	5,75±0,34 / 5,6±0,36 p=0,34
Площадь эллипса с открытыми глазами (мм ²)	180,87±57,16 / 149,18±53,26 p=0,21	277,81±159,63 / 197,98±89,66 p=0,18
Площадь эллипса с закрытыми глазами (мм ²)	374,04±115,97 / 349,86±191,56 p=0,41	1056,99±1065,92 / 848,525±560,07 p=0,36
Качество функции равновесия с открытыми глазами (%)	77,06±7,04 / 80,82±5,53 p=0,2	70,23±11,5 / 81,11±5,59 p=0,046
Качество функции равновесия с закрытыми глазами (%)	57,38±9,08 / 57,59±8,11 p=0,48	52,44±18,5 / 45,28±18,11 p=0,27
Скорость перемещения центра давления с открытыми глазами (мм/сек.)	9,88±1,99 / 9,69±2,16 p=0,45	15,98±9,06 / 9,79±1,3 p=0,09
Скорость перемещения центра давления с закрытыми глазами (мм/сек.)	19,56±5,84 / 17,86±4,04 p=0,31	29,45±17,36 / 27,86±12,67 p=0,44
Площадь зоны перемещения (мм ²)	20179,6±2207,92 / 21405,9±1737,12 p=0,18	11965,5±3595,43 / 17615,1±2611,17 p=0,0065
Усилие мышц нижних конечностей справа (кг)	84,81±8,5 / 96,21±8,54 p=0,029	56,19±15,59 / 68,29±15,55 p=0,12
Усилие мышц нижних конечностей слева (кг)	73,06±10,85 / 88,81±12,7 p=0,029	42,71±12,56 / 70,35±19,43 p=0,007
Степень пареза мышц (баллы)	3,92±0,19 / 4,42±0,15 p=0,00003	2,9±0,38 / 3,44±0,32 p=0,02
Шкала Цунга (баллы)	0,51±0,03 / 0,43±0,0 p=0,0002	0,51±0,04 / 0,49±0,04 p=0,18
ДК (мкмоль/мл сыв)	1,59±0,29 / 1,32±0,21 p=0,06	1,33±0,29 / 1,74±0,38 p=0,037
ПРЭ (% гемолиза)	2,6±0,93 / 2,33±0,63 p=0,31	2,89±1,57 / 1,64±0,67 p=0,065
Каталаза (мккат/г Hb)	2,73±0,17 / 3,0±0,29 p=0,054	3,11±0,52 / 2,89±0,33 p=0,22
Пероксидаза (мккат/г Hb)	32,1±2,79 / 33,36±3,9 p=0,29	32,51±5,88 / 31,5±4,22 p=0,38

У пациентов 2-й группы, занимавшихся только ЛГ, выявлена лишь недостоверная положительная динамика увеличения площади зоны перемещения и недостоверная же отрицательная динамика по всем остальным показателям.

Тест изометрического сокращения мышц ног (усилия мышц нижних конечностей) характеризует степень мышечной силы нижних конечностей. Достоверная положительная динамика выявлена только у пациентов 1В группы, получавших занятия ЛГ и ПЭМС; у всех остальных также выявлена положительная тенденция, менее выраженная у пациентов 2-й группы. Это свидетельствует об эффективности метода ПЭМС в реабилитации больных с двигательными нарушениями.

Показатель тревоги и депрессии по шкале Цунга [21] при поступлении больных РС для проведения им курсов восстановительного лечения находился на уровне 46-55 баллов, что можно расценивать как границу нормального состояния и легкой депрессии. Пациенты отмечали снижение жизненного тонуса, способности испытывать удовольствие, вялость, подавленность, тревогу и беспокойство за свое здоровье. На фоне уменьшения утомляемости, повышения переносимости физических нагрузок отмечалось и уменьшение признаков тревоги и депрессии. Наиболее позитивные изменения выявлены у пациентов 1В группы, получавших в комплексном лечении ЛГ, балансотерапию и ПЭМС (рис. 1).

Таким образом, изменения эмоционального настроения пациентов, а, следовательно, и уровень мотивации к проведению лечебно-восстановительных мероприятий отчетливо коррелировали по группам наблюдений с позитивной динамикой в отношении двигательных, координаторных и иных нарушений, свойственных больным, страдающим РС.

Также по выделенным группам наблюдений нам удалось проследить изменения в состоянии ПОЛ/АОЗ системы крови, т.е., связать, с одной стороны, происшедшие изменения состояния ПОЛ/АОЗ с уровнем позитивной динамики в состоянии больных РС, с другой стороны, показать не только эффективность использованных методов восстановительного лечения, но и их безопасность.

В табл. 3 представлена динамика показателей ПОЛ/АОЗ.

У пациентов 1Б и 1В групп, получавших в комплексном лечении сеансы ПЭМС, выявлена тенденция к снижению показателей ПОЛ, хотя среди наблюдений 1В группы отмечено некоторое уве-

личение ДК. Изначально у пациентов этих групп выявлены самые низкие уровни ПРЭ и средние показатели ДК. Исходные показатели АОЗ у пациентов всех групп наблюдений отличались очень незначительно, но некоторое их повышение наметилось в 1А и 1Б группе, стабилизация – в 1В группе, и снижение, особенно уровня пероксидазы – во 2-й группе. Интересно также отметить, что увеличение показателей ПОЛ произошло в процессе восстановительного лечения у пациентов 1А и 2-й групп, не получавших электролечения с помощью ПЭМС. Изначально у этих пациентов выявлены также более высокие показатели ПРЭ. Таким образом, динамика состояния ПОЛ/АОЗ у больных, страдающих РС, при условии изначально сопоставимой тяжести заболевания в определенной степени зависит от динамики клинического статуса. С другой стороны, более отчетливая позитивная динамика клинического статуса произошла именно у тех пациентов, у которых показатели ПОЛ/АОЗ изначально были более близки к нижним границам референтных значений. Это может послужить не только критерием безопасности того или иного метода проводимого восстановительного лечения, что было нами показано, но и критерием отбора для проведения наиболее интенсивных методов такого лечения и прогноза их результатов.

В этом плане нам показалось интересным проследить динамику как клинических, так и биохимических показателей у пациентов 1В группы, получавших наиболее массивное лечение с использованием большого комплекса методик, в зависимости от степени клинической тяжести заболевания. С этой целью мы подразделили 1В группу на 2 подгруппы – «а» и «б». Подгруппу 1В «а» составили пациенты с уровнем тяжести заболевания по шкале EDSS менее 4-х баллов, подгруппу 1В «б» - пациенты с уровнем по шкале EDSS более 4-х баллов. Полученные данные представлены в табл. 4.

Разумеется, у пациентов с более легкой степенью тяжести заболевания (подгруппа 1В «а») по сравнению с пациентами с более выраженной тяжестью заболевания (подгруппа 1В «б») изначально отмечены менее выраженные нарушения устойчивости, меньшие показатели площади эллипса и скорости перемещения центра давления в пробах с открытыми и закрытыми глазами, выше показатели коэффициента функции равновесия, лучше показатели площади зоны перемещения. Вполне ожидаемой оказалась более отчетливая положительная динамика функциональных нару-

шений у пациентов с менее выраженной общей тяжестью заболевания, тем не менее, степень выраженности пареза мышц достоверно уменьшилась у представителей обеих сравниваемых подгрупп наблюдений; однако динамика психологического статуса и комплексной оценки степени тяжести заболевания достоверно изменились только у пациентов подгруппы 1В «а» - с менее выраженными функциональными расстройствами. Кроме того, у пациентов подгруппы 1В «б», с более тяжелым вариантом течения РС, на фоне лечения выявлена отрицательная динамика показателей ПОЛ и снижение показателей АОЗ. Таким образом, более эффективными и безопасными представляются современные комплексные методы нейрореабилитации у пациентов с умеренной степенью тяжести РС при уровне по шкале EDSS, не превышающем 4-х баллов, что подтверждается клиническими, нейрофизиологическими и биохимическими исследованиями. В то же время и при более выраженной тяжести заболевания, при уровнях шкалы EDSS, превышающих 4 балла, также возможно достижение позитивного эффекта лечебно-восстановительных мероприятий по целому ряду показателей, в особенности в плане уменьшения степени выраженности двигательных нарушений.

Выводы.

1. Восстановительное лечение больных РС может быть эффективным при использовании современных комбинированных методов реабилитации, включающих ЛГ, балансо-терапию и ПЭМС.
2. Наилучшие результаты восстановительного лечения больных РС достигаются при использовании ПЭМС, в особенности при умеренно выраженной степени тяжести заболевания, не превышающей 4-х баллов по шкале EDSS.
3. Позитивная динамика показателей ПОЛ/АОЗ в процессе лечения может служить как критерием эффективности проводимой восстановительной терапии, так и ее безопасности.
4. Возможно проведение комбинированной восстановительной терапии больных РС также при более тяжелой форме заболевания, при значении по шкале EDSS от 4- до 6-ти баллов, но эффективность лечебно-восстановительных мероприятий при этом более заметна в плане уменьшения выраженности двигательного дефицита, но не стато-координаторных расстройств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белова А.Н., Щепетова О.Н. Шкалы, тесты и опросники в медицинской реабилитации: Руководство для врачей и научных работников.- М.: Антитор, 2002.- 440 с.
2. Воейков В.Л. Активные формы кислорода: патогенны или целители? // Клиническая геронтология.- 2003.- №9.- С. 54-56.
3. Войтенко В.П. Эритроцит: старение клетки и старение организма // Цитология и генетика.- 1984.- Т.18, №6.- С. 442-447.
4. Гипотеза средних молекул в практике клинического нефролога / Н.И. Габриелян, Э.Р. Левицкий, О.И. Щербанева, Н.Ф. Порядин, О.А. Севостьянова // Тер. архив.- 1983.- №6.- С. 76-78.
5. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н. Рассеянный склероз.- М.: Медицина, 1997.- 523 с.
6. Завалишин И.А., Захарова М.Н. Рассеянный склероз: современные аспекты этиологии и патогенеза // Журн. неврологии и психиатрии; Спецвыпуск «Рассеянный склероз».- 2003.- №2.- С. 10-18.
7. Захарова М.Н. Боковой амиотрофический склероз и оксидантный стресс: Автореф. дисс....д-ра мед. наук.- М., 2001.- 48 с.
8. Корелина А.А. Оценка эффективности и безопасности программируемой электромиостимуляции в восстановительном лечении больных рассеянным склерозом в стадии ремиссии // Вестник уральской медицинской академической науки.- 2010.- №2(30).- С.98-100.
9. Корелина А.А., Мякотных В.С. Применение методов балансо-терапии и электромиостимуляции в комплексном лечении пациентов с рассеянным склерозом в период клинко-лабораторной ремиссии // Вестник Российской Военно-медицинской академии.- 2009.- №1(25): Приложение, часть II.- С. 529-530.
10. Корелина А.А., Мякотных В.С., Аретинский В.Б. Методы двигательной реабилитации больных рассеянным склерозом в стадии ремиссии // Вестник восстановительной медицины.- 2010.- №3.- С. 66-69.
11. Рассеянный склероз: клинические аспекты и спорные вопросы / Под ред. А. Дж. Томпсона, К. Полмана, Р. Холфелда; Пер. с англ. Н.А. Тополян под ред. А.А. Скоромца.- С.Пб.: Политехника, 2001.- 421 с.
12. Ширалиева Р.Д. Диагностика и патогенетические механизмы рассеянного склероза (клиническое, компьютерно-томографическое, иммуногенетическое, иммунологическое и био-

химическое исследование): Автореф. дисс....д-ра мед. наук.- Баку, 1995.- 50 с.

13. Ястребов А.П., Мещанинов В.Н. Старение, перекисное окисление липидов и биовозраст.- Екатеринбург: ООО «Уральский следопыт», 2005.- 220 с.
14. Abbate A.D., Cook A.W., Atallah M. Effect of electrical stimulation of the thoracic spinal cord on the function of the bladder in multiple sclerosis // J. Urol.- 1977.- №117.- P. 285-288.
15. Bohannon R.W. Comfortable and maximum walking speed of adults aged 20 to 79 years: reference values and determinants // Age ageing.- 1997.- №26.- P. 15-19.
16. Bohannon R.W. Variability and reliability of the pendulum test for spasticity using a Cybex II isokinetic dynamometer // Physical Therapy.- 1987.- №67.- P. 659-661.
17. Kurtske J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS) // Neurology.- 1983.- №33.- P. 1444-1452.
18. Tinetti M.E. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients // J. of American Geriatrics Society.- 1986.- №34.- P. 119-126.
19. Wade D.T. Measurement in neurological rehabilitation // Oxford: Oxford University press, 1992.- 128 p.
20. Wener N.L., Paty D.M. Diagnostics and therapeutic trials in multiple sclerosis // Neurology.- 1989.- V.39, №7.- P. 972-976.
21. Zung W.W. K., Durham N.C. A self-rating depression scale // Arch. Gen. Psychiatr.- 1965.- V. 12.- P. 63-70.

Korelina A.A., Myakotnykh V.S., Borovkova T.A. **POSSIBILITIES OF REHABILITATION TREATMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS AND VALUE OF PEROXIDE OXIDATION OF LIPIDS IN MONITORING THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF REHABILITATION MEASURES**

Abstract. In 204 patients with multiple sclerosis held a course of rehabilitation treatment with the use of 4 variants of comprehensive rehabilitation under the control of the clinical dynamics, and repeated instrumental and laboratory studies to determine the indicators lipid peroxidation and antioxidant protection in the system of blood. The effectiveness of restorative therapy, including medical gymnastics, balancing therapy and in particular programmable elektromiostimulation. Efficiency of treatment depends on the severity of the disease, and the maximum effect is observed at patients with the severity of the disease, not exceeding 4 points on a scale of EDSS. Positive dynamics of indexes of lipid peroxidation and antioxidant defense can be used as a criterion of efficiency and safety of the rehabilitation treatment.

Key words: multiple sclerosis, rehabilitation treatment, electrical myostimulation, lipid peroxidation .

Авторская справка

Корелина Анна Александровна
Мякотных Виктор Степанович
Боровкова Татьяна Анатольевна
ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, кафедра гериатрии
Россия, 620905 Екатеринбург, ул. Соболева, 25, Свердловский областной клинический психоневрологический госпиталь для ветеранов войн, кафедра гериатрии.
E-mail: vmyakotnykh@yandex.ru

Authors

Korelina Anna A.
Myakotnykh Viktor S.
Borovkova Tatyana A.
Ural state medical academy, Department of geriatric
Russia, 620905 Ekaterinburg, Soboleva Street, 25, Sverdlovsk regional clinical psychoneurological hospital for veterans of wars, Department of geriatric

ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА НА ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ, КИСЛОРОДНОГО И НУТРИТИВНОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ ДО ОПЕРАЦИИ И В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

ГОУ ВПО «Сургутский государственный университет», г. Сургут, Россия; БУЗ «Омский областной клинический онкологический диспансер», г. Омск, Россия; ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия, Россия, г. Омск, Россия

Резюме. В работе представлена сравнительная оценка показателей центральной гемодинамики, кислородного и нутритивного статуса у больных колоректальным раком с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа по отношению к больным без данной сопутствующей патологии. В исследовании участвовал 201 больной со злокачественными новообразованиями толстого кишечника 2-3-й стадии после оперативного лечения. Больные были разделены на две группы: в I группу вошло 100 больных, во II – 101 больной. Пациенты II группы имели сопутствующую патологию – сахарный диабет 2 типа. Сравнительный анализ основных показателей центральной гемодинамики, кислородного и нутритивного статуса больных колоректальным раком с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа с одноименными параметрами больных без сахарного диабета позволяет заключить, что наличие у пациента сахарного диабета 2 типа обуславливает более выраженные метаболические нарушения, как в предоперационном, так и в послеоперационном периодах.

Ключевые слова: колоректальный рак, сахарный диабет, кислородный статус, нутритивный статус.

Введение.

Исследования последних лет свидетельствует о неуклонном повышении заболеваемости колоректальным раком во всем мире. Согласно прогнозам, в первые десятилетия наступившего тысячелетия рак данной локализации возникнет у каждого 16–17-го жителя планеты [9]. Сахарный диабет является одним из факторов риска развития злокачественных новообразований толстого кишечника. Несмотря на определенные расхождения в отношении конкретных данных, характеризующих величину относительного риска возникновения колоректального рака у больных сахарным диабетом 2 типа, практически ни в одном из проведенных проспективных исследований упомянутый показатель не был ниже 1,4–2,0, свидетельствуя о значительном приросте заболеваемости. Хроническая гипергликемия, присущая сахарному диабету, характеризуется высоким риском развития патологических изменений в органах и тканях [1, 4]. Частота поражения жизненно важных структур настолько велика, что рассматривается как неотъемлемое следствие сахарного диабета [2, 3]. Совокупность этих факторов обуславливает возникновение недостаточности питания у больных колоректальным раком и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа [7, 11]. Частота недостаточности питания колеблется от 8 до 88% в зависимости от локализации опухоли и стадии опухолевого процесса [7, 11]. Сопутствующие заболевания, такие как сахарный диабет, значительно усугубляют возникающие нарушения.

Цель исследования: сравнительная оценка показателей центральной гемодинамики, кислородного и нутритивного статуса у больных колоректальным раком с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа по отношению к больным без сахарного диабета.

Материалы и методы.

В исследовании участвовал 201 больной со злокачественными новообразованиями толстого кишечника 2-3-й стадии после оперативного лечения. Всем больным были проведены плановые оперативные вмешательства (гемиколонэктомия 26%, операция Гартмана 24%, резекция сигмовидной кишки 32%, передняя резекция прямой кишки 18%). Состояние больных, соответствовало анестезиологическому риску по ASA II–III функционального класса. Критерием включения в исследование являлся исходный индекс массы тела в пределах 19–25 условных единиц. Больные были разделены на две группы: в I группу вошло 100 больных, во II – 101 больной. Пациенты II группы имели сопутствующую патологию – сахарный диабет 2 типа. Все пациенты II группы были компенсированы по уровню гликемии до операции приемом сахароснижающих препаратов, за сутки до операции и в раннем послеоперационном, до перевода в профильное отделение, простым инсулином. Средний возраст больных составил $64,0 \pm 4,5$ лет. При

этом у больных I и II групп различий по возрасту выявлено не было ($p > 0,1$). Длительность заболевания сахарным диабетом 2 типа составляла $12,5 \pm 1,5$ лет. Больных обследовали до операции и в первые сутки после оперативного лечения. Определяли следующие показатели: количество эритроцитов, лейкоцитов и показатель гематокрита определяли на аппарате Digicell (Швейцария), содержание общего белка, альбумина, глюкозы – на автоматическом биохимическом анализаторе Express Plus (Ciba Korning, Великобритания). Содержание мочевины в крови и моче определяли в реакции с диацетилмонооксидом, а экскрецию азота с мочой рассчитывали по формуле, умножая содержание мочевины мочи (в ммоль/л) на коэффициент 0,033. Концентрацию трансферрина в сыворотке крови исследовали иммунотурбидиметрическим методом реактивами фирмы Sentinel (Италия). Содержание лактата и pH венозной крови определяли на аппаратах Radiometer (Дания), AVL-900 (Австрия). Осуществляли оценку параметров сердечно-сосудистой системы методом интегральной реографии по М.И. Тищенко – ударного объема сердца (УОС), минутного объема кровообращения (МОК), сердечного индекса (СИ) и показателей кислородтранспортной функции крови на аппаратах Radiometer (Дания), AVL-900 (Австрия): насыщение (S) артериальной (a) и венозной (v) крови кислородом (O_2), содержание (C) кислорода в артериальной и венозной крови, артериовенозная разница по кислороду ($AVPO_2$), транспорта (TO_2) и потребления (PO_2) кислорода тканями. Определяли парциальное давление кислорода (pO_2) в артериальной и венозной крови. Степень нутритивной недостаточности (СНН) и определение энергопотребности осуществляли с помощью компьютерной программы «Клиническое питание», в основе которой заложено модифицированное уравнение Харрис-Бенедикта [8, 9]. Различия между независимыми выборками определяли с помощью t-критерия для независимых выборок и дисперсионного анализа, различия между зависимыми выборками – с помощью t-критерия для зависимых выборок и дисперсионного анализа (ANOVA/MANOVA). Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы «STATISTICA-6» [8].

Результаты исследования.

Наличие сахарного диабета 2 типа у больных колоректальным раком вызывает значительные изменения метаболизма. В проведенном исследовании выявлено достоверное изменение показателей гемодинамики у данной категории больных (табл. 1). Частота сердечных сокращений у них оказалась выше, чем у больных I группы. Характерно, что ударный объем сердца достоверно не отличался в сравниваемых группах, однако МОК и СИ во II группе оказались выше, чем в I.

Показатели кислородного статуса в сравниваемых группах различались и по транспорту, и по потреблению кислорода (табл. 2). Так, транспорт и потребление кислорода во II группе были существенно выше, чем у пациентов I группы.

Сравнение показателей нутритивного статуса обеих групп (табл. 3) позволило выявить следующие различия. Потери азота в группе больных с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа были выше, чем в группе без сахарного диабета. Содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови больных сравниваемых групп достоверно не отличалось, однако значения трансферрина и абсолютного количества лимфоцитов в I группе оказалось достоверно выше. В итоге, интегральная оценка нутритивного статуса больных I группы достоверно превышала аналогичный показатель больных II группы.

Сравнительный анализ основных показателей больных колоректальным раком с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа с одноименными параметрами больных без сахарного диабета позволяет заключить, что наличие у пациента сахарного диабета 2 типа обуславливает более выраженные метаболические нарушения. Гемодинамическая компенсация повышенной потреб-

Таблица 1
Предоперационные показатели центральной гемодинамики ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
ЧСС, мин ⁻¹	70,4±0,99	78,3±1,04	0,01
УОС, мл	78,3±0,8	78,1±0,7	0,6
МОК, л	5,48±0,06	6,11±0,09	0,01
СИ, л/мин × м ²	3,01±0,04	3,30±0,05	0,01

Таблица 2
Предоперационные показатели кислородного статуса ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
SaO ₂ , %	97,1±0,1	97,3±0,3	0,26
SvO ₂ , %	72,4±0,2	72,2±0,5	0,55
CaO ₂ , мл/л	188,2±0,6	188,3±0,7	0,89
CvO ₂ , мл/л	140,2±0,5	139,7±0,6	0,43
ABPO ₂ , мл/л	47,9±0,5	48,6±0,4	0,34
TO ₂ , мл/(мин×м ²)	565,5±5,7	620,3±10,3	0,01
ПО ₂ , мл/(мин×м ²)	143,9±1,8	159,5±2,4	0,01
КТЭО ₂ , %	25,5±0,2	25,8±0,4	0,29
pH(v)	7,35±0,003	7,31±0,001	0,01
Лактат, ммоль/л	0,85±0,01	1,01±0,02	0,01

Таблица 3
Предоперационные показатели нутритивного статуса ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
Потери азота, г/сут	16,6±0,25	17,3±0,22	0,04
Индекс «масса тела/рост»	23,0±0,3	23,9±0,9	0,02
Альбумин, г/л	35,1±0,1	35,2±0,2	0,58
Общий белок, г/л	63,8±0,2	63,4±0,4	0,17
Трансферрин, г/л	1,90±0,01	1,81±0,04	0,01
Лимфоциты, 10 ⁶ /л	1600±8,7	1398±9,0	0,01
СНН, баллы	12,3±0,1	11,9±0,3	0,01

ности в кислороде обеспечивает увеличение доставки кислорода тканям, при этом потребление кислорода увеличивается в меньшей степени, что, по нашему мнению, связано с нарушением утилизации кислорода вследствие диабетической микроангиопатии. Использование отдельных критериев оценки степени нутритивной недостаточности, таких как индекс «масса тела/рост», общий белок, уровень сывороточного альбумина, не позволяет выявить белково-энергетическую недостаточность.

Вместе с тем интегральная оценка нутритивного статуса позволяет говорить о более выраженной степени недостаточности питания в группе больных с сахарным диабетом 2 типа, так как при оценке степени нарушения нутритивного статуса учитываются такие более чувствительные показатели, как содержание трансферрина и абсолютное количество лимфоцитов.

Оперативное вмешательство вызывает функциональную перестройку всех систем организма, что и обуславливает формирование постагрессивной реакции, являющейся важнейшей приспособительной реакцией, направленной, в первую очередь, на изменение метаболизма с целью достаточного обеспечения возрастных потребностей органов и тканей в кислороде и питательных веществах. В экстремальных случаях, на фоне ограниченных резервов организма, эти изменения могут быть критическими [10]. Сравнительная оценка влияния сопутствующего сахарного диабета 2 типа на формирование системной постагрессивной реакции после хирургического вмешательства у больных со злокачественными новообразованиями толстого кишечника позволила выявить следующие особенности. В первые сутки после операции изменения гемодинамики у больных II группы оказались более выраженными, чем у больных I группы (табл. 4). Поскольку частота сердечных сокращений и ударный объем больных II группы превышали одноименные параметры больных I группы, то минутный объем кровообращения и сердечный индекс также достоверно превышали одноименные показатели больных I группы.

Сравнительный анализ кислородного статуса (табл. 5) позво-

Таблица 4
Послеоперационные показатели центральной гемодинамики ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
ЧСС, мин ⁻¹	101±0,8	107±0,9	0,01
УОС, мл	82,2±0,8	85,6±0,9	0,01
МОК, л	8,3±0,1	9,1±0,3	0,01
СИ, л/мин×м ²	4,56±0,06	4,95±0,08	0,01

Таблица 5
Послеоперационные показатели кислородного статуса ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
SaO ₂ , %	96,8±0,1	96,9±0,2	0,75
SvO ₂ , %	75,9±0,2	76,4±0,1	0,52
CaO ₂ , мл/л	170,6±0,5	180,3±1,4	0,01
CvO ₂ , мл/л	133,8±0,5	142,2±0,9	0,01
ABPO ₂ , мл/л	36,8±0,4	38,1±0,6	0,01
TO ₂ , мл/(мин×м ²)	777,4 ±9,1	887,6±18,1	0,01
ПО ₂ , мл/(мин×м ²)	166,5 ±0,6	186,8 ±1,3	0,01
КТЭО ₂ , %	21,5 ±0,2	21,1±0,3	0,84
pH(v)	7,34±0,001	7,28±0,002	0,01
Лактат, ммоль/л	1,88±0,02	2,20±0,01	0,01

Таблица 6
Послеоперационные показатели нутритивного статуса ($M \pm m$)

Показатели	Значения показателей		p
	I группа	II группа	
Потери азота, г/сут	17,6±0,3	17,2±0,2	0,54
Индекс «масса тела/рост»	22,8±0,3	23,8±0,4	0,01
Альбумин, г/л	29,3±0,1	31,6±0,3	0,01
Общий белок, г/л	60,7±0,2	56,5±0,4	0,01
Трансферрин, г/л	1,81±0,01	1,72±0,02	0,01
Лимфоциты, 10 ⁶ /л	1523±8,3	1343±9,2	0,01
ИОНС, баллы	9,4±0,1	9,2±0,3	0,83

лил выявить более высокую кислородную емкость артериальной и венозной крови у больных II группы. Несмотря на то, что при этом не было выявлено различий по сатурации артериальной и венозной крови. Сочетание этих факторов с изменениями гемодинамики обусловили возрастание транспорта и потребление кислорода у больных с сопутствующим сахарным диабетом, но при этом коэффициент тканевой экстракции кислорода не отличался в сравниваемых группах.

Таким образом, выше приведенные показатели позволяют заключить, что проблема адекватного обеспечения метаболических потребностей в кислороде в послеоперационном периоде более выражена в группе больных колоректальным раком с сопутствующим сахарным диабетом. Дополнительным косвенным свидетельством неудовлетворительного снабжения тканей кислородом могут служить pH венозной крови и уровень лактата.

При сравнении показателей нутритивного статуса исследуемых групп (табл. 6) удалось выявить разнонаправленные изменения. Потери азота в сравниваемых группах были примерно равны. Оценка показателей белкового статуса выявила достоверно более высокое содержание альбумина в сыворотке больных II группы, но количество общего белка у больных этой группы оказалось ниже, чем в I группе. Уровень трансферрина и абсолютное количество лимфоцитов также были ниже у больных II группы, при этом интегральная оценка нарушения нутритивного статуса в сравниваемых группах в первые сутки послеоперационного периода достоверно не различалась.

Следовательно, оперативное вмешательство вызывало у больных с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа более глубокие метаболические нарушения, что связано с более выраженными предоперационными изменениями у данной категории больных. Это проявлялось возрастающим транспортом и потреблением кислорода, в основном за счет возрастания показателей центральной гемодинамики, при этом резервные возможности организма больных с сахарным диабетом 2 типа более ограничены, чем у больных без данной патологии.

Выводы.

1. Сопутствующий сахарный диабет 2 типа существенно влияет на предоперационные параметры центральной гемодинамики, кислородного и нутритивного статуса больных колоректальным раком.

2. У пациентов с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа достоверно более высокие потери азота и значительно большие потребности в белке и энергии.

3. Сопутствующий сахарный диабет 2 типа у больных колоректальным раком отрицательно влияет на все показатели нутритивного статуса. Комплексная оценка основных метаболических параметров у исходно компенсированных хирургических больных с колоректальным раком и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа позволяет констатировать, что данное сопутствующее заболевание сопровождается значительными метаболическими нарушениями.

4. Сочетание онкопатологии и сахарного диабета 2 типа требует от организма более высокой гемодинамической поддержки с целью обеспечения более высоких метаболических потребностей в кислороде, энергии, пластических материалах и других нутриентах.

5. Улучшение результатов лечения онкологических больных с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа возможно только при условии предоперационного выявления пациентов с угрозой развития белково-энергетической недостаточности, послеоперационного мониторинга и коррекции метаболических нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аминова Н. В., Сальцева М. Т., Занозина О. В. Коагуляционные признаки эндотелиального стресса у больных сахарным диабетом типа 2 в сочетании с артериальной гипертензией // Проблемы эндокринологии. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 27–30.

2. Балаболкин, М. И. Диабетология – М. : Медицина, 2000. – 672 с.

3. Дедов, И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет : руководство для врачей. – М. : Универсум Паблишинг, 2003. – 455 с.

4. Дибиров М. Д. Консервативное лечение диабетических макроангиопатий: взгляд хирурга // Consilium medicum. – 2004. – Т. 6, № 9. – С. 646–648.

5. Лейдерман И.Н. Основы парентерального питания в отделениях интенсивной терапии и реанимации хирургической клиники. Реальные взаимоотношения теории и практики // Вестн. интенс. терапии. – 2000. - № 4. – С. 23–27.

6. Лейдерман И. Н. Нутритивная поддержка – важнейший компонент терапии сопровождения при лечении онкологических больных. – Екатеринбург, 2004. – 32 с.

7. Основы клинического питания: материалы лекций для курсов Европейской ассоциации парентерального и энтерального питания : пер. с англ. / гл. ред. Л. Сobotка. – Петрозаводск : ИнтелТек, 2004. – 416 с.

8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Медиа Сфера, 2006. – 312 с.

9. Чиссов В. И. Стратегия и тактика онкологической службы России на современном этапе // Российский онкологический журнал. – 2006. - № 3. – С. 4–7.

10. Cartwright M.M. The metabolic response to stress: a case of complex nutrition support management // Crit. Care Nurs. Clin. North Am. – 2004. – Vol. 16. – P. 467–487.

11. Duguet A., P. Bachmann, Lallemand Y. Summary report of the Standards, Options and Recommendations for malnutrition and nutritional assessment in patients with cancer // Br J Cancer. – 2003. – Vol. 89, S. 1. – P. 92–97.

*Malkov O.A., Horova E.U., Kurakin V.I.,
Girsh A.O.*

INFLUENCE OF THE DIABETES 2 TYPES ON THE BASIC INDICATORS OF THE CENTRAL HEMODYNAMIC, OXYGEN AND NUTRITIONAL THE STATUS AT PATIENTS WITH THE COLORECTAL CANCER BEFORE OPERATION AND IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD

Abstract. In work the comparative estimation of indicators of the central hemodynamic, oxygen and nutritional the status at sick of a colorectal cancer with an accompanying diabetes 2 types in relation to patients without the given accompanying pathology is presented. In research participated 201 patients with malignant neoplasms of a thick intestine of 2-3rd stage after operative treatment. Patients have been parted on two groups: I group included 100 patients, in II – 101 patients. Patients of II group had an accompanying pathology – a diabetes 2 types. The comparative analysis of the basic indicators of the central hemodynamic, oxygen and nutritional the status sick of a colorectal cancer with an accompanying diabetes with the parameters of patients with the same name without a diabetes allows to conclude 2 types that presence at the patient of a diabetes 2 types causes more expressed metabolic disturbances, both in preoperative, and in postoperative the periods.

Key words: colorectal cancer, diabetes 2 types, oxygen and nutritional the status

Авторская справка.

Мальков Олег Алексеевич

Медицинский институт Сургутского государственного университета, профессор кафедры факультетской хирургии, доктор медицинских наук.

Хорова Екатерина Юрьевна

БУЗ «Омский областной клинический онкологический диспансер», клинический фармаколог

Куракин Вячеслав Игоревич

БУЗ «Омский областной клинический онкологический диспансер», заведующий отделением паллиативной химиотерапии

Гирш Андрей Оттович

Омская государственная медицинская академия, доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии.

Россия, 628412, Тюменская обл., г. Сургут, пр. Ленина, 1, Сургутский государственный университет, медицинский институт.

E-mail: docom@mail.ru

Authors

Malkov Oleg A.

Medical institute of the Surgut state university, The professor of chair of faculty surgery of the doctor of medical sciences, Russia, Surgut.

Horova Ekaterina U

Budgetary establishment of public health services the Omsk regional clinical oncological clinic, The clinical pharmacologist

Kurakin Vyacheslav I.

Omsk regional clinical oncological clinic, Managing branch of palliative chemotherapy budgetary establishment of public health services the, Russia, Omsk.

Girsh Andrey O.

Omsk state medical academy, Omsk.

Doctor of medicine, professor chair of anesthesiology, resuscitation and intensive therapy of

Russia, 628412, the Tyumen region, Surgut, Lenin's avenue, 1, the Surgut state university, medical institute.

E-mail: docom@mail.ru

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ МОКСОНИДИНА И ГИДРОХЛОРТИАЗИДА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Московский государственный медико-стоматологический университет, г. Москва, Россия; Главный военный клинический госпиталь внутренних войск МВД РФ, г. Москва, Россия

Резюме: Обследовано 65 больных гипертонической болезнью (ГБ) 2-3 степени, которые в течение 6 месяцев принимали моксонидин перорально в суточной дозе 0,2-0,4 мг (в сочетании с гидрохлортиазидом 12,5 мг в сутки). До и после лечения оценивали показатели суточного профиля артериального давления (АД) с помощью мониторинга АД в течение суток и церебральный кровоток (ЦК) методом доплерографии. В результате лечения целевого уровня АД достигли 65% больных. Корригированы исходно нарушенные показатели суточного профиля АД и ауторегуляция церебрального кровотока. Исследование подтвердило клиническую эффективность моксонидина и наличие у препарата церебропротективных свойств.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, суточный профиль артериального давления, церебральный кровоток, моксонидин, гидрохлортиазид

Гипертоническая болезнь (ГБ) по-прежнему остаётся самым распространённым и социально значимым сердечно-сосудистым заболеванием. Социальная значимость этого заболевания определяется не столько большой распространённостью, сколько высоким риском развития осложнений ГБ, ведущими из которых являются инсульт, инфаркт миокарда [2]. В настоящее время является абсолютно доказанным, что адекватное лечение ГБ способно значительно снизить вероятность этих осложнений. Проведение эффективной антигипертензивной терапии ассоциируется со снижением частоты инсультов на 35%-40% [3,6].

У подавляющего числа больных гипертоническая болезнь сопровождается симпатической гиперактивацией, которая предшествует повышению артериального давления (АД) [4,10]. Гиперсимпатикотония вызывает ремоделирование сосудов головного мозга, сердца, что повышает риск сердечно – сосудистых осложнений (ССО) и смерти от них [12]. Воздействие на данное патогенетическое звено ГБ стало возможным не только с помощью бета-адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, блокаторов ангиотензиновых рецепторов, но и при использовании препаратов с центральный механизм действия. Первые антигипертензивные препараты (АП), применявшиеся с этой целью (клонидин, альфа-метилдопа и гуанфацин) в настоящее время для длительной терапии не применяются, так как обладают массой побочных эффектов, обусловленных действием на альфа - адренорецепторы в зонах ствола мозга [1,4]. Установлено, что клонидин и другие вещества похожего строения взаимодействуют со специфическими норадренергическими рецепторами, которые получили название имидазолиновых. Они располагаются в вентролатеральных зонах продолговатого мозга, которые являются ключевым центром регуляции потока симпатических импульсов из ЦНС [12]. Имидазолиновые и адренергические рецепторы тесно взаимодействуют друг с другом. Активация имидазолиновых рецепторов приводит к активности центральных альфа₂-адренергических рецепторов [8,10]. С созданием новых АП, получивших название агонистов имидазолиновых рецепторов (АИР), появилась возможность избирательно влиять на центры регуляции симпатической нервной системы (СНС). Селективный агонизм I₁-имидазолиновых рецепторов обеспечивает выраженный антигипертензивный эффект и снижает частоту нежелательных эффектов, свойственных клонидину. АИР тормозят высвобождение катехоламинов, снижают содержание их в крови, одновременно снижая активность ренина, ангиотензина II и альдостерона в плазме крови. В результате происходит снижение общего периферического сопротивления (ОПСС) и, соответственно, АД [9, 12].

Одним из представителей АИР является моксонидин. Это длительнодействующий селективный АП. Антигипертензивная активность моксонидина активно изучалась в ряде многоцентровых исследований, в том числе, в двойных слепых плацебо - контролируемых [1,13,14]. Сравнительные исследования показали, что моксонидин является эффективным АП, действующим на гемодинамический и метаболический профиль больного, который позволяет рассматривать его не только в числе препаратов первой линии для лечения больных ГБ, но и требующих дальнейшего изучения их органопротективных свойств.

В качестве препарата, который может применяться в комбинации практически со всеми АП, широко используется тиазидный диуретик гидрохлортиазид (гипотиазид), точка приложения которого – дистальный уровень почечных канальцев [2]. Достоинством гидрохлортиазида, по сравнению с другими классами антигипертензивных средств, является его способность предупреждать развитие ССО и, в особенности, мозговой инсульт у больных ГБ, что было доказано в многочисленных рандомизированных исследованиях (SHEP, 1991; HAPPY, 2000; MAPHY, 1991; TOMS, 1995; ALLHAT, 2002; SHELL, 2000).

Целью исследования явилось изучение влияния моксонидина (Физиотенз, фирма “Solvey Pharma” – Германия) в сочетании с гидрохлортиазидом на суточный профиль АД и церебральный кровоток (ЦК) у больных гипертонической болезнью.

Материалы и методы

В исследование были включены 65 амбулаторных больных от 32 до 65 лет (средний возраст 52,3±3,8 года; из них 27 женщин и 23 мужчины), страдающих ГБ со 2-3 степенью артериальной гипертензии [2], с диагнозом верифицированным в условиях поликлиники и/или кардиологического стационара. Средняя длительность ГБ составила 15,3±2,5 года. Критериями включения больных в исследование были значения АД более 160/100 мм рт. ст. (при неоднократном измерении на приём у врача), нарушенный суточный профиль АД, снижение линейной скорости кровотока в экстракраниальных сосудах по данным доплерографии сосудов головного мозга. Не включались в исследование больные с застойной сердечной недостаточностью, почечной, печеночной недостаточностью, сахарным диабетом, бронхиальной астмой, перенесенным в последние 6-8 месяцев острым или переходящим нарушением мозгового кровообращения, острым инфарктом миокарда.

Уровень систолического АД (САД) исходно равнялся 176,00 ± 19,00 мм рт. ст., диастолического (ДАД) – 90,50 ± 15,00 мм рт. ст.; ЧСС – 76,92±6,55 ударов в минуту.

Исследование было открытым, рандомизированным. За 10 дней до исследования отменялись все принимаемые ранее препараты, кроме гидрохлортиазида в дозе 12,5 мг в сутки однократно, который больные принимали на протяжении 5-6 месяцев до включения в исследование. В качестве основного препарата для лечения в течение 6 месяцев назначался однократно моксонидин в начальной суточной дозе 0,2 мг перорально. Подбор дозы производился методом медленного титрования индивидуально для каждого пациента. При отсутствии снижения систолического АД (САД) на 10% и диастолического (ДАД) на 5% от исходного уровня дозу препарата через 2 недели увеличивали до 0,4 мг. Увеличение дозы потребовалось 52 больным.

Измерение АД проводилось ежемесячно ручным сфигмоманометром методом Н.С. Короткова трёхкратно в положении сидя с интервалом 5 минут после 10 минутного отдыха. Все инструментальные методы исследования проводились на начальном этапе лечения и через 6 месяцев. Достижение целевого уровня АД (менее 140/90 мм рт. ст.) и снижение САД на 10% и ДАД на 5% от исходного уровня являлись критериями эффективности проводимого лечения. Ежемесячно учитывалась динамика АД и самочувствия пациентов за истекший период, выраженность головной боли, головокружения и т.д. После завершения исследования продолжался приём препарата в тех дозах, на которых были достигнуты целевые значения АД.

Суточное мониторирование АД (СМАД) проводилось с помощью прибора Cardio Tens O1 (фирма “Mediteck”, Венгрия). Анализировались следующие показатели: среднесуточное САД и ДАД в мм рт. ст. (Ср. САД сут., Ср. ДАД сут.); среднедневные и средненочные показатели САД и ДАД в мм рт. ст. (Ср. САД дн., Ср. ДАД дн., Ср. САД н., Ср. ДАД н.); временной гипертонический индекс (ВГИ) для САД и ДАД; суточный, среднедневной, средненочной (ВГИ САД сут. %, ВГИ ДАД сут. %, ВГИ САД дн. %, ВГИ ДАД дн. %, ВГИ САД н. %, ВГИ ДАД н. %); суточный индекс (СИ) САД и ДАД; вариабельность суточного, дневного, ночного САД и ДАД в мм рт. ст. (ВСАД сут., ВДАД сут., ВСАД дн., ВДАД дн., ВСАД н., ВДАД н.) [11].

Изучение церебрального кровотока (ЦК) проводилось с помо-

Показатели СМАД у больных ГБ на фоне терапии моксонидином с гидрохлортиазидом ($M \pm m$)

Параметры	Исходно n=65	После лечения n=60	Δ (%)
Ср. САД сут., мм рт. ст.	162.4 \pm 3.4	137.2 \pm 2.1 *	-15.4 *
Ср. ДАД сут., мм рт. ст.	99.3 \pm 1.9	79.8 \pm 2.3 *	-19.2 *
Ср. САД дн., мм рт. ст.	176.3 \pm 8.5	138 \pm 9.9 *	-21.6 *
Ср. ДАД дн., мм рт. ст.	105 \pm 5.3	88.6 \pm 7.2 *	-15.2 *
Ср. САД н., мм рт. ст.	152.8 \pm 6.2	122.2 \pm 4.8 *	-20.4 *
Ср. ДАД н., мм рт. ст.	95.8 \pm 4.9	77.8 \pm 4.1 *	-18.8 *
ВГИ САД, сут. %	58.1 \pm 4.3	35.7 \pm 1.9 *	-37.9 *
ВГИ ДАД, сут. %	46.3 \pm 3.8	32.1 \pm 2.2 *	-30.4 *
ВГИ САД дн. %	69.6 \pm 4.2	26.8 \pm 2.1 *	-57.0 **
ВГИ ДАД дн. %	48.3 \pm 3.7	32.3 \pm 2.9 *	-33.3 *
ВГИ САД н. %	49.9 \pm 1.8	29.3 \pm 2.3 *	-42.0**
ВГИ ДАД н. %	34.1 \pm 2.6	27.9 \pm 2.5 *	-17.6 *
СИ САД, %	9.2 \pm 1.2	14.9 \pm 2.4 *	+40.3 **
СИ ДАД, %	9.4 \pm 1.8	15.7 \pm 2.1 *	+43.8 **
ВСАД сут., мм рт. ст.	17.5 \pm 2.1	11.9 \pm 1.2 *	-32.0 *
ВДАД сут., мм рт. ст.	14.2 \pm 1.7	10.2 \pm 1.1 *	-28.2 *
ВСАД дн., мм рт. ст.	26.2 \pm 1.9	13.2 \pm 2.8 *	-50.0**
ВДАД дн., мм рт. ст.	17.2 \pm 1.2	12.4 \pm 1.8 *	-27.9 *
ВСАД н., мм рт. ст.	17.7 \pm 1.1	11.4 \pm 1.8 *	-35.6 **
ВДАД н., мм рт. ст.	12.5 \pm 0.6	10.1 \pm 0.8 *	-19.2 *

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ - достоверность изменений относительно исходных значений; Δ % - изменение показателей по сравнению с исходным уровнем.

щью доплерографии в экстракраниальном отделе внутренних сонных артерий (ВСА), позвоночных артерий (ПА), общих сонных артерий (ОСА). Определяли: Vps, см/сек – пиковую систолическую скорость кровотока; Ved, см/сек – максимальную диастолическую скорость; TAMX, см/сек – усредненную по времени максимальную скорость кровотока за 5 сердечных циклов; RI – индекс периферического сопротивления; PI – индекс пульсации [5].

Результаты исследования оценивались с помощью стандартных методов вариационной статистики с использованием пакета программ «STATISTICA 6,0». Применялись стандартные методы описательной статистики (вычисление средних, стандартных отклонений, стандартных ошибок) и критерии значимости. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Завершили исследование 60 пациентов (25 мужчин, 40 женщин). Переносимость препарата у подавляющего числа больных была хорошей. Отмечено улучшение клинического статуса всех обследованных больных. Выбыли из исследования 5 человек: 2 пациента – по причине развития головной боли продолжительностью более недели, боли в ногах при ходьбе; 2 больным потребовался дополнительный приём нестероидных противовоспалительных препаратов; 1 больной не соблюдал протокол обследования. У 4 пациентов, появившееся при урежении ритма сердца до 64-68 ударов в минуту головокружение (на электрокардиограмме остро возникших нарушений проводимости не отмечалось), головная боль исчезли через неделю лечения, что не потребовало отмены препарата. Для достижения целевых значений АД увеличение суточной дозы до 0,4 мг потребовалось 52 пациентам. В целом по группе у больных отмечалось улучшение состояния уже на второй неделе приема препарата: уменьшилась выраженная головная боль, головокружения, шаткость походки, улучшилось общее самочувствие.

Уровень АД и ЧСС

У включённых в исследование больных исходный уровень систолического АД (САД) равнялся 176,00 \pm 19,00 мм рт. ст., диастолического (ДАД) – 90,50 \pm 15,00 мм рт. ст. Через 6 месяцев лечения отмечено достоверное снижение клинического САД и ДАД на 20,81 и 18,12%, соответственно. Целевого уровня САД и ДАД достигли 65% больных (39 чел). Остальные (21 чел.) снизили САД и ДАД в среднем более чем на 10 мм рт. ст., что рассматривается, как положительный результат лечения. ЧСС исходно составляла 76,92 \pm 6,55 уд./мин. К концу исследования наметилась тенденция к снижению ЧСС. Нарушений проводимости на фоне терапии на ЭКГ не отмечалось. Таким образом, проводимая терапия в целом была успешной.

Суточный профиль АД

При анализе исходных результатов СМАД (таблица 1) в целом было выявлено повышение всех показателей, отражающих прессорную нагрузку АД за сутки, день и ночь. Был отмечен высокий уровень вариабельности АД, показателей «нагрузки давлением» в дневное и ночное время суток, что рассматривается как фактор риска развития ассоциированных клинических состояний [11].

Все пациенты относились к группе повышенной вариабельности АД (критический показатель вариабельности ср. АД дн. был более 15 мм рт.ст.). У всех пациентов были увеличены значения среднесуточного ВГИ. За 6 месяцев по данным СМАД выявлено достоверное снижение среднесуточных, среднедневных, средненочных показателей САД и ДАД (таблица 1). Как следствие этого, к концу исследуемого периода отмечалось достоверно значимое снижение показателей ВГИ как для САД, так и для ДАД, более выраженное для САД дн. и САД н. на 57% и 42% соответственно. Зарегистрировано также достоверное снижение вариабельности САД и ДАД в дневные и ночные часы, также более выраженное для САД дн. и САД н. ($p < 0.05$). СИ САД и СИ ДАД достоверно увеличился на 40.3% и 43.8% ($p < 0.01$) соответственно, в связи с чем в группе обследуемых больных не оказалось пациентов с чрезмерным ночным снижением АД.

Результаты проведенного исследования демонстрируют высокую антигипертензивную эффективность моксонидина, которая, как было показано в ряде работ, не уступает представителям основных классов антигипертензивных средств, рекомендуемых ВНОК в 2010 году [1,4]. Антигипертензивная эффективность моксонидина определяется его патогенетическим механизмом действия. Связывание с имидазолиновыми рецепторами приводит к уменьшению центральной и периферической симпатической активности, что объясняется подавлением прессорной активности симпатической части вегетативной нервной системы и проявляется уменьшением концентрации норадреналина, ведущей к снижению общего периферического сопротивления [8,12], в результате чего отмечается положительная динамика показателей САД и ДАД в дневные и ночные часы.

Одним из важных свойств моксонидина является влияние на ВАД в течение суток. Высокая ВАД, имеющая место у больных АГ - один из факторов риска развития мозговых инсультов [6,11]. Коррекция моксонидином нарушенной вариабельности САД и ДАД как в дневное, так и в ночное время суток свидетельствует в пользу его органопроективного действия, что подтверждается положительной динамикой результатов исследования церебрального кровотока.

Анализ результатов суточного профиля АД продемонстрировал высокую эффективность моксонидина в сочетании с гидрохлортиазидом в отношении изучаемых показателей. В ходе исследования установлено корректирующее действие проводимой терапии на ВГИ, вариабельность АД в дневные и ночные часы, что связано с подавлением симпатической активации. Полученные результаты согласуются с данными других исследований [4,10].

Влияние на церебральный кровоток

У всех включённых в исследование больных перед лечением в 95% случаев было отмечено снижение линейной скорости кровотока в экстракраниальных сосудах (табл. 2), что подтверждено исходным повышением сосудистого сопротивления (RI), снижением индекса пульсации (PI) и пиковой систолической скорости кровотока (Vps) в среднем на 40-45% по сравнению с нормативными показателями. Все исследуемые показатели представлены в усреднённом варианте. У включённых в исследование больных не отмечалось гемодинамически значимых окклюзионных поражений сосудов. Выявленное снижение церебрального кровотока, вероятно обусловлено нарушением ауторегуляции сосудистого тонуса в сторону его повышения на фоне хронической артериальной гипертензии. Снижение скоростных показателей кровотока, повышение индекса периферического сопротивления (RI) отражают снижение эластических и тонических свойств сосудистой стенки, нарастание ригидности, что характерно для хронической ишемии головного мозга и затруднения его перфузии при ГБ. Структурную основу этих нарушений составляет сосудистое ремоделирование и развитие гипертонической ангиопатии [3,7].

Длительная терапия способствовала значимым позитивным изменениям показателей ЦК: RI снизился сопоставимо в ОСА, ВСА, ПА на 6,49%, 6,85%, 6,41%, соответственно ($p < 0.05$), что свидетельствует об уменьшении сосудистого сопротивления в экстракраниальных сосудах. Показатель Vps, отражающий органические изменения в церебральных сосудах и являющийся наиболее чувствительным и информативным показателем исследования ЦК, не достиг степени достоверности к 6-му месяцу, что свидетельствует о необходимости более длительной терапии препаратами. Вместе с тем, отмечено достоверное увеличение конечной диастолической скорости в ОСА, ВСА, ПА на 7,52%, 6,55%, 6,86%, соответственно ($p < 0.05$), что связано с уменьшением сопротивления кровотоку, так как данный показатель имеет обратно пропорциональную зависимость от индекса циркуля-

торного сопротивления. Длительная терапия моксонидином в сочетании с гидрохлортиазидом не сопровождалась симптоматикой гипоперфузии головного мозга.

Отмеченное достоверное увеличение показателей притока крови по магистральным артериям к головному мозгу связано с ослаблением центральной симпатической активности, что сопровождается последующей вазодилатацией резистивных сосудов головного мозга и, по всей видимости, способствует улучшению оттока крови по внутренним яремным венам. Таким образом происходит восстановление нарушенных процессов церебральной ауторегуляции.

Таблица 2.

Церебральный кровоток у больных ГБ II-III степени на фоне терапии моксонидином и гидрохлортиазидом ($M \pm m$)

Показатели	Исходные данные n=65	Через 6 месяцев n=60	$\Delta\%$ через 6 месяцев
Vps см/с			
ОСА	40.17 ± 1.70	42.10 ± 1.60	4.58
ВСА	42.55 ± 1.45	44.70 ± 1.35	4.81
ПА	30.00 ± 5.04	30.80 ± 4.90	3.85
Ved см/с			
ОСА	9.10 ± 2.15	9.84 ± 2.11	7.52*
ВСА	11.41 ± 1.65	12.21 ± 1.62	6.55*
ПА	8.15 ± 2.10	8.75 ± 2.00	6.86*
PI			
ОСА	1.60 ± 0.04	1.75 ± 0.03	8.57*
ВСА	1.69 ± 0.07	1.81 ± 0.04	6.68*
ПА	1.26 ± 0.05	1.40 ± 0.04	7.14*
RI			
ОСА	0.77 ± 0.08	0.72 ± 0.07	-6.49*
ВСА	0.73 ± 0.06	0.68 ± 0.08	-6.85*
ПА	0.73 ± 0.09	0.78 ± 0.08	-6.41*
TAMXcm/c			
ОСА	19.40 ± 1.04	20.45 ± 1.02	5.13*
ВСА	18.37 ± 1.02	19.45 ± 1.01	5.54*
ПА	17.40 ± 5.20	18.50 ± 5.00	5.95*

* $p < 0.05$ относительно исходного уровня, $\Delta\%$ - изменение показателя в % относительно исходного значения.

Таким образом, моксонидин в сочетании с гидрохлортиазидом при однократном приеме в суточной дозе 0,2 - 0,4 мг корректировал исходно нарушенные показатели церебрального кровотока, что подтверждает его органопротективное действие в отношении поражения такого органа - мишени, как головной мозг.

ВЫВОДЫ

1. Терапия моксонидином (в сочетании с гидрохлортиазидом) нормализует нарушенный суточный профиль артериального давления у больных гипертонической болезнью и позволяет достигнуть целевых значений артериального давления у 65% больных.

2. Моксонидин (в сочетании с гидрохлортиазидом) у больных гипертонической болезнью корректирует нарушенный церебральный кровоток, не вызывает симптомов гипоперфузии головного мозга, оказывает церепротективное действие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гапонова Н.И., Абдрахманов В.Р., Бараташвили В.Л., Терещенко С.Н. Анализ эффективности и безопасности применения моксонидина у пациентов с артериальной гипертензией и гипертоническими кризами. Кардиология 2011; 6: 91-96

2. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертензии и Всероссийского научного общества кардиологов. Системные гипертензии 2010; 3: 5-29

3. Кадыков А.С., Манвелов Л.С., Шахпаронова Н.В. Хронические сосудистые заболевания головного мозга. Руководство для врачей. Гэотар-Медиа 2006: 10-42

4. Кулешова Э.В. Агонисты имидазолиновых рецепторов в лечении артериальной гипертензии. Санкт - Петербург ООО "Компания Ди-нал" 2003.

5. Лелюк В.Г., Лелюк С.Э. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике. М: "Видар" 1997; 4: 185-220.

6. Преображенский Д.В., Маренич А.В., Шатунова И.М., Сидоренко Б.А. Профилактика мозгового инсульта с помощью антигипертензивных препаратов: возможности и ограничения. Кардиология 2002; 6: 79-85.

7. Суслина З.А., Фоякин А.В., Гераскина Л.А. Ишемический инсульт и сердце: от патогенеза к профилактике. Клиническая фармакология и терапия 2003; 12: 47-51.

8. Чазова И.Е., Мычка В.Б., Ратова Л.Г. Место агонистов имидазоли-

новых рецепторов в лечении артериальной гипертензии. Результаты исследования MERSY в России. Системные гипертензии. 2009;1:52-56.

9. Чубенко Е.А., Беляева О.Д., Баженова Е.А. и др. Плейотропные свойства моксонидина. Артериальная гипертензия 2010; 4 (16): 351-355

10. Abellan J, Leal M, Hernandez-Menarguez F, et al. Efficacy of moxonidine in the treatment of hypertension in obese, noncontrolled hypertensive patients. Kidney Int Suppl 2005; 67 Suppl. 93: S20-40.

11. O' Brein E., Coats A., Owens P. et al. Use and interpretation of ambulatory blood pressure monitoring: recommendations of British Hypertension Society. BMJ 2000: 1128-1134.

12. Sanjuliani A.E., Genelhu de Abreu V., Ueleres Braga J., Francischetti E.A. Effects of moxonidine on sympathetic nervous system, blood pressure, plasma renin activity, plasma aldosterone, leptin and metabolic profile in obese hypertensive patients. J Clin Basic Cardiol 2004; 7: 19-25

13. Schafers RF, Holzgreve H, Distler A, et al. Double blind, multicentre comparison of moxonidine and enalapril and their effects on blood pressure and left ventricular mass: results of the MOXENA study [abstract no. P1051]. J Hypertens 2002; 20 Suppl. 4: 249

14. Waters J, Ashford J, J_ger B, et al. Use of moxonidine as initial therapy and in combination in the treatment of essential hypertension: results of the TOPIC (Trial Of Physiotens In Combination) study. J Clin Basic Cardiol 1999; 2 (2): 219-224.

Markova L.I., Hamandjak S.V., Radzevich A.E. CLINICAL EFFICIENCY OF JOINT APPLICATION MOXONIDINE AND HYDROCHLORTHIAZIDUM AT SICK OF THE IDIOPATHIC HYPERTENSIA

Abstract. 65 patients with grade 2-3 hypertensive disease (HD) in this condition were given moxonidine (0,2-0,4 mg/d) and hydrochlorothiazide (12,5 mg/d) for 6 months. Daily AP profile and cerebral blood flow were evaluated before and after therapy by ambulatory blood pressure monitoring, cerebral dopplerography. The target AP level and normalization of AP daily profile were achieved in 65% of the patients. The treatment is corrected autoregulation of cerebral circulation. The study confirmed benefits of its application to the treatment of HD.

Key words: hypertensive disease, daily AP profile, cerebral blood flow, moxonidine, hydrochlorothiazide

Авторская справка

Маркова Людмила Ивановна

Московский государственный медико-стоматологический университет, д.м.н., проф. кафедры терапии №1

Россия, 103473, Москва, ул. Делегатская, 20/1

e-mail: Markova-LI@mail.ru

Хаманджак Сергей Васильевич

Главный Военный клинический госпиталь ВВ МВД России, начальник общетерапевтического отделения, г. Москва

Russia, 103473, Moscow, street Delegate 20/1 e-mail: hsv-71@mail.ru

Радзевич Александр Эдуардович

МГМСУ, д.м.н., проф. заведующий кафедрой терапии №1

Россия, 103473, Москва, ул. Делегатская, 20/1

Authors

Markova Ludmila I.

Moscow State medical and stomatological University, dr. med., professor of therapeutic department

Russia, 103473, Moscow, street Delegate 20/1

Chamondyak Sergey V.

Main Russian Military hospital of Internal troops of the Ministry of Internal Affairs, Moscow

Therapeutic department chief

Russia, 103473, Moscow, street Delegate 20/1

Radzevich Alexandr E.

Moscow State medical and stomatological University, dr. med., professor, Therapy

department chief

Russia, 103473, Moscow, street Delegate 20/1

Плюснина Н.Н., Захарова С.Ю., Павличенко М.В.
**АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, РОЖДЕННЫХ
 С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РОСТА ПЛОДА**

ФГУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздравсоцразвития,
 г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Проведено клиничко-лабораторное обследование 56 детей в возрасте 3х лет, родившихся с синдромом задержки внутриутробного роста. Дана комплексная оценка состояния здоровья детей данной категории в зависимости от варианта СЗРП в сравнении с детьми, имеющими средние показатели физического развития при рождении.

Ключевые слова: синдром задержки внутриутробного роста, состояние здоровья, дети раннего возраста.

Введение:

Синдром задержки внутриутробного роста плода (СЗРП) – одна из универсальных реакций плода в ответ на неблагоприятные в периоде внутриутробного развития, связанное с факторами риска у матери, патологией плаценты или патологией самого плода (64,7 на 1000 детей, родившихся живыми в срок). Это состояние определяет перинатальную заболеваемость, смертность, а в последующем приводит к отклонениям в нервно-психическом и физическом развитии, обуславливает значительный вклад в показатели инвалидности, рост которых отмечается в последние десятилетия (1, 2, 3, 4, 5, 6). Одним из важнейших факторов, входящих в комплексную оценку состояния здоровья ребенка, является физическое развитие. Низкое физическое развитие отражает имеющиеся трофические расстройства у ребенка и является фактором риска возникновения частой заболеваемости, фоновой патологии, изменений в неврологическом статусе, функциональных нарушений со стороны сердечно-сосудистой и вегетативной нервной системы, а, следовательно, и отклонений в формировании адаптационно-компенсаторных реакций (7, 8, 9, 10).

Ранний детский возраст (по классификации периодов детства Н.П. Гундобина) характеризуется особым качеством жизни ребёнка: заканчивается функционирование «биологической пуповины» - грудного вскармливания матерью, постепенно уменьшается интенсивность роста и набора массы тела, психомоторное развитие характеризуется формированием грубых движений, речи, тонкой моторики, навыков общения и самостоятельного ухода, а также заканчивается схема ранней иммунизации.

Цель исследования: На основании изучения факторов, определяющих отклонения в состоянии здоровья детей, родившихся с синдромом задержки внутриутробного роста плода, оптимизировать тактику диспансерного наблюдения и оценить её эффективность.

Материалы и методы исследования:

Исследование проводилось на базе клиничко-диагностического отделения (зав. отделением Т.П. Котрехова) детской клиники ФГУ Уральского НИИ охраны материнства и младенчества Минздравсоцразвития г. Екатеринбург (директор – д.м.н., профессор В.В. Ковалёв).

Критерии включения: доношенные дети из одноплодной беременности с отставанием основных антропометрических показателей при рождении (масса тела и/или длина тела) на 1,5-2 сигмальных отклонения от должностующих при конкретном сроке гестации, наблюдение детей осуществлялось с периода новорожденности до 3х лет.

Критерии исключения: дети с органической патологией ЦНС, врожденными пороками развития, заболеваниями обмена веществ и генетическими заболеваниями, TORCH-ассоциированными инфекциями, острыми заболеваниями на момент обследования, дети из многоплодной беременности.

Проведено клиничко-лабораторное обследование 56 детей в возрасте 3 лет, родившихся с СЗРП и наблюдавшихся в амбулаторно-поликлинических условиях в соответствии с существующими стандартами (согласно приказу Минсоцразвития РФ № 307 от 28.04.2007 г «О стандарте диспансерного (профилактического) наблюдения ребенка в течение первого года жизни», а с года до трёх лет по приказу № 151 «О временных отраслевых стандартах объема медицинской помощи детям»).

Контрольную группу составили 28 практически здоровых детей в возрасте трёх лет.

Согласно Международной классификации болезней МКБ-10 наблюдаемые дети были разделены на подгруппы в зависимости от варианта синдрома внутриутробного роста плода:

P05.0 - «Маловесный» для гестационного возраста плод (гипотрофический вариант СЗРП) - 36 детей;

P05.1 – малый размер плода для гестационного возраста (гипопластический вариант СЗРП) - 20 детей.

Анализ медицинской документации (обменно-уведомительные карты беременной и родильницы, истории родов, истории развития и болезни новорожденного - форма № 097/у, индивидуальные карты развития детей - форма № 112), проводился с использованием разработанной нами электронной формализованной статистической карты.

Физическое развитие детей оценивалось по центильным таблицам региональных нормативов и регрессионным шкалам физического развития (Бабина Р.Т., Санникова Н.Е., Вахлова И.В. «Оценка развития Свердловской области от 0 до 16 лет», Екатеринбург, 2001 г.).

Оценку нервно-психического развития проводили с помощью стандартных таблиц показателей нервно-психического развития детей раннего и дошкольного возраста (Пантюхина Г.В., Печора К.Л., Фрухт Э.Л., 1983 г.).

Для определения уровня тиреоидных гормонов (тиреотропный гормон (ТТГ), свободный Т4 (СТ4)) использовали спектрофотометр «Multiscan EX» фирмы «Thermo Labsystems Oy» (Финляндия), рег. № 2001/1255 и стандартные наборы.

Гемограммы выполнялись на гематологическом анализаторе «Cell-Dyn - 3500R» фирмы «Abbott diagnostics», (США).

Определение лейкоцитарных индексов осуществлялось с использованием специально разработанной программы расчета интегральных гематологических индексов (Мустафина Ж.Г., Краморенко Ю.С., Кобцева В.Ю., 1999).

1. ЛИИ - лейкоцитарный индекс интоксикации отражает степень выраженности эндогенной интоксикации, остроту воспаления и степень активации процессов тканевого распада. При наличии воспалительных процессов ЛИИ повышается.

2. ЛГИ - лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс характеризует выраженность аутоинтоксикации.

3. ИА - индекс алергизации.

4. ЛИ - лейкоцитарный индекс, отражающий взаимоотношения гуморального и клеточного иммунитета.

5. ИСНМ - индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов отражает соотношение микрофагальной и макрофагальной систем.

6. ИСЛ - индекс сдвига лейкоцитов, повышение этого показателя свидетельствует об активном воспалительном процессе.

Согласно теории Г. Селье (1936 год) показатели гемограммы являются интегральными характеристиками гомеостатических систем, отражающих неспецифические адаптационные реакции (адаптационную резистентность). По количеству лимфоцитов в лейкоцитарной формуле (Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. А., 1977), возможно определить тип адаптационной реакции: стресс (количество лимфоцитов < 29,5%, реакция тренировки 29,5 – 37,5%, спокойной активации – 38 – 45%, повышенной активации (45,5 – 57%), переактивации, сходная со стрессом, составляющая неспецифическую основу заболеваний (количество лимфоцитов > 57%). Всем наблюдаемым нами пациентам проводилось определение типа адаптационной реакции. Нормальными вариантами адаптационных реакций для детей раннего возраста считаются реакции спокойной и повышенной активации.

Всем детям проводилось биохимическое исследование сыворотки крови с определением уровня общего белка, альбумина, холестерина, триглицеридов и глюкозы с помощью стандартных наборов реактивов фирмы «Chronolab System S.L.», Испания, рег. ФС № 2006/2511.

Ультразвуковые исследования висцеральных органов (печени, почек, поджелудочной железы) выполнялись на аппарате ультразвуковой диагностики SONOLINE фирмы производства Сименс Медикал Солюшенс Инк., Ультрасаунд Групп, Матусуишта Коммьюникейшн Индастриел Ко. ЛТД, США, Япония, МЗ РФ № 2002/751.

Статистическая обработка материалов выполнена с помощью программного пакета Microsoft Excel, Квазар, Квазар-плюс, определяли μ – среднее арифметическое, стандартное отклонение по выборке, ошибку средней арифметической. Сравнение средних значений проводилось по критерию Стьюдента для независимых выборок с поправкой на различие дисперсий. Различия средних величин считались статистически достоверными, при уровне значимости, не превышающей 0,05.

Таблица 1.

Структура жалоб, предъявляемых родителями детей трёх лет, родившихся с СЗРП

показатель	Количество детей с ЗВУР (n = 56)		
	Абс.	%	
Отставание в физическом развитии	28	50	
Рецидивирующие ОРЗ с осложнениями	38	70	
Изменение характера пищевых реакций			
	- снижение аппетита	29	52
	- избирательность аппетита	12	21,4
	- отсутствие аппетита	9	16,1
Дисфункции кишечника			
	- боли в животе	10	17,9
	- запоры	18	32,1
	- разжиженный стул	6	10,7
Эмоциональная лабильность	33	58,9	
Раздражительность	27	48,2	
Ограничение способности познавательной деятельности	23	41	
Аллергические проявления	6	10,7	
Жалоб нет	0	0	

* - общее число превышает 100% из-за выявления нескольких признаков у одного ребёнка

Таблица 2.

Антропометрические показатели детей трёхлетнего возраста, родившихся с СЗРП ($\mu \pm m$).

Параметры	Гипотрофический вариант n=36	Гипопластический вариант n=20	Контрольная группа n=28	p
Масса тела (г)	12880 ± 1230 (10290 – 14110)	12357 ± 1220 (11155 – 13595)	14372 ± 1430 (12942 – 15802)	p* p**
Длина тела (см)	93,7 ± 0,7 (90 – 97)	89,8 ± 1,7 (82 – 91)	94,2 ± 3,5 (90 – 97)	p* p** p***
Окружность головы (см)	49,0 ± 1,8 (47 – 51)	46,5 ± 1,1 (46 – 48)	49,0 ± 1,7 (48 – 53)	p** p***
Окружность груди (см)	49,7 ± 2,4 (48 – 50)	48,0 ± 1,4 (47 – 49)	51,2 ± 2,0 (49 – 53)	-

Примечание: p – достоверность различий (p < 0,05) p* – достоверность различий группы с гипотрофическим вариантом и контролем p** - достоверность различий группы с гипопластическим вариантом и контролем p*** - достоверность различий между группами с гипотрофическим вариантом и гипопластическим вариантом

Результаты и обсуждение:

Нами проанализировано состояние здоровья детей в возрасте 3х лет, родившихся с задержкой внутриутробного развития. Структура жалоб, предъявляемых родителями и самими детьми, представлена в таблице 1.

Из представленных данных видно, что наиболее часто предъявляемыми жалобами являлись рецидивирующие ОРЗ, протекающие, как правило, с осложнениями, изменение характера пищевых реакций в виде расстройства аппетита, неврологические и психоэмоциональные нарушения, отставание в физическом развитии.

Антропометрические показатели наблюдаемых детей в возрасте трёх лет в зависимости от варианта СЗРП в сравнении с детьми контрольной группы представлены в таблице 2.

Из таблицы видно, что независимо от клинического варианта СЗРП при рождении, средние показатели массы и длины тела детей в три года достоверно различались от таковых у детей контрольной группы. Эти же показатели были значительно ниже у детей, рождённых с гипопластическим вариантом СЗРП по сравнению с гипотрофическим. Окружности головы и груди имели достоверные различия с контролем только у детей с гипопластическим вариантом СЗРП. Достоверных отличий окружности груди в сравниваемых группах детей, родившихся с СЗРП, не было.

Отдельно проанализирована динамика физического развития наблюдаемых детей с рождения на протяжении 3-х лет жизни. Как оказалось, она отличалась от таковой у детей, родившихся с нормальными антропометрическими показателями (Рис.1).

В первые 6 месяцев жизни темпы нарастания массы тела у детей, родившихся с гипотрофическим типом СЗРП, превышали аналогичные показатели детей, родившихся с гипопластическим вариантом СЗРП и детей контрольной группы. В возрасте 6 месяцев масса тела у детей, родившихся с этим вариантом СЗРП, достоверно не различа-

Таблица 3.

Показатели интегральных гематологических индексов у детей трёхлетнего возраста, родившихся с СЗРП, ($\mu \pm m$)

Исследуемый показатель	Гипотрофический вариант n=36	Гипопластический вариант n=20	Контрольная группа n=28	p
ЛИИ	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,05	p* p**
ЛГИ	12,5 ± 1,2	15,3 ± 2,8	8,4 ± 1,6	p* p**
ИА	1,7 ± 0,3	2,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1	p* p**
ЛИ	1,3 ± 0,1	2,0 ± 0,4	0,9 ± 0,1	p* p**
ИСНМ	12,2 ± 1,4	9,3 ± 1,4	7,5 ± 1,0	p* p**
ИСП	1,2 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,9 ± 0,1	p* p**

Таблица 4.

Результаты биохимического анализа индивидуальных показателей сыворотки крови, (%)

Исследуемые показатели	Гипотрофический вариант n=36		Гипопластический вариант n=20		Контрольная группа n=28		p
	Нормальный	Снижен	Нормальный	Снижен	Нормальный	Снижен	
Белок (г/л)	33(92%)	3(8%)	18(90%)	2(10%)	28(100%)	0	-
Альбумин (г/л)	28(78%)	8(22)	16(80%)	4(20%)	28(100%)	0	p* p**
Сахар (моль/л)	36(100%)	0	20(100%)	0	28(100%)	0	-
Холестерин (моль/л)	36(100%)	0	20(100%)	0	28(100%)	0	-
Триглицериды (моль/л)	31(86%)	5(14%)	17(85%)	3(15%)	28(100%)	0	p* p**

Таблица 5.

Результаты анализа индивидуальных показателей уровня тиреоидных гормонов у наблюдаемых детей

Исследуемые показатели	Гипотрофический вариант n=36		Гипопластический вариант n=20		Контрольная группа n=28		p
	Нормальный	Повышен	Нормальный	Повышен	Нормальный	Повышен	
ТТГ (мМЕ/л)	33(92%)	3(8%)	15(75%)	5(25%)	28(100%)	0	p* p**
СТ4 (нг/дл)	36(100%)	0	20(100%)	0	28(100%)	0	p* p**

лась с детьми контрольной группы. Со 2 полугодия жизни до 9 месяцев темпы прироста массы снижались, а после 9 месяцев весовые кривые сравниваемых групп детей «расходятся». Это означает, что после 9 месяцев возраста, дети, родившиеся с гипотрофическим вариантом СЗРП, либо вообще не прибывают в массу, либо прибавки в массе были значительно меньше, по сравнению с соответствующей. У детей, родившихся с гипопластическим вариантом СЗРП, темпы нарастания массы оказались достоверно ниже на всём протяжении первого года жизни.

Динамика длины тела у наблюдаемых детей имела аналогичную картину (Рис. 2).

Как видно из рис. 2, темпы роста детей, родившихся с гипотрофическим вариантом СЗРП, превышали показатели практически здоровых детей. К 9 месяцам темпы роста детей у этих групп достоверно не различались с таковой у детей группы контроля. После 9 месяцев темпы нарастания длины тела замедлялись. У детей, родившихся с гипопластическим вариантом СЗРП, указанной закономерности не прослеживалось. В течение всего первого года жизни эти дети не смогли «догнать» своих сверстников.

Вероятно, именно у детей, родившихся с гипотрофическим вариантом СЗРП, в первом полугодии и начале второго полугодия жизни присутствует «феномен догоняющего роста», что соответствует литературным данным (Т.Ю. Ширяева, М.Ф. Логачев, 2004). Описаний дальнейшего снижения темпов нарастания массы и длины тела после 9 месяцев возраста в литературных источниках мы не нашли. По нашему мнению, выявленные изменения могут быть связаны со следующими факторами:

1. Со значительным снижением частоты грудного вскармливания. Зарегистрировано 50% и 30% детей, рождённых с гипотрофическим и гипопластическим вариантом СЗРП соответственно.

2. С качественно изменённым аминокислотным составом молока.

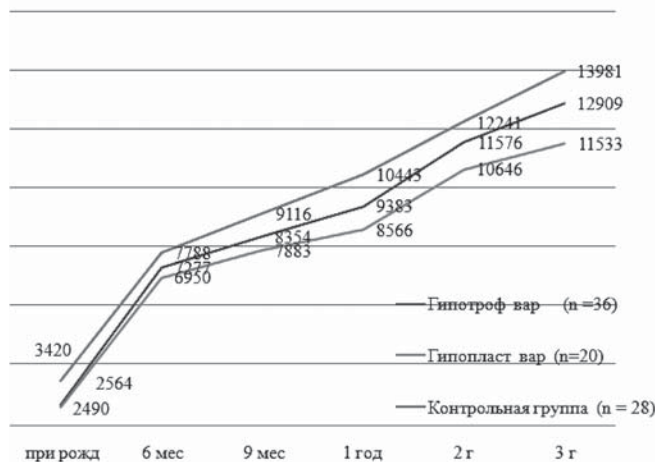


Рис. 1 Динамика нарастания массы тела с рождения до 3х лет жизни у исследуемых групп детей

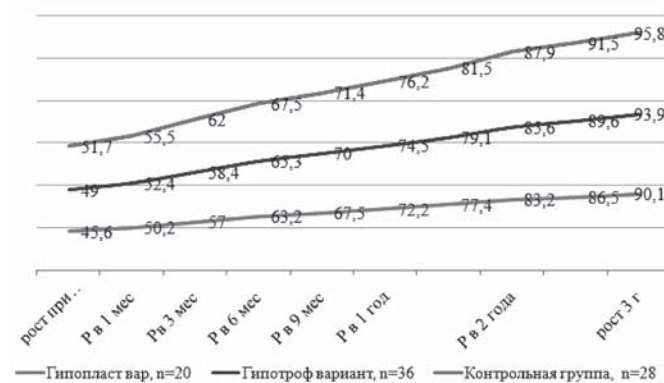


Рис. 2 Динамика длины тела на протяжении первого жизни у детей исследуемых групп

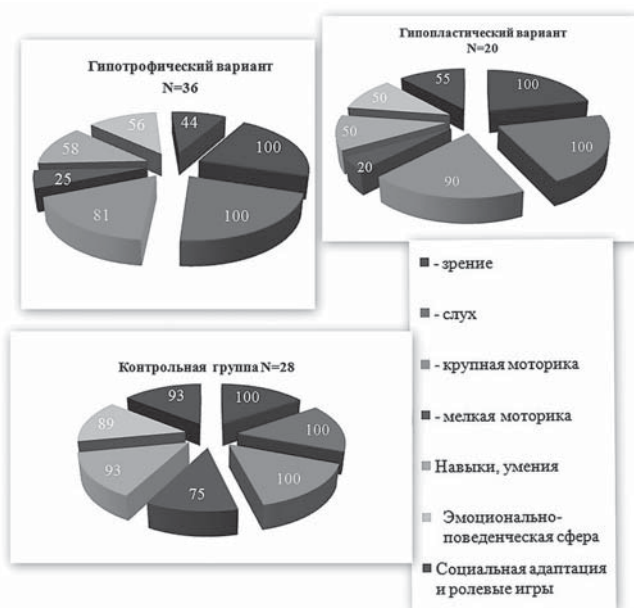


Рис. 3 Показатели нервно-психического развития детей, в возрасте трёх лет, (%)

По данным, полученным Махмудовой А.Р., Омаровой Н.С. [2005 г.] - М. - в крови матерей, родивших детей с СЗРП выявлен дефицит метионина и глутаминовой кислоты и некоторое повышение лизина и аспарагиновой кислоты. У детей в крови отмечено снижение пролина, цистина, метионина, серина, треонина.

3. С наличием у детей перинатального поражения ЦНС различной степени тяжести, на фоне которого сформировались нарушения пищевого поведения детей. В частности, со второго полугодия жизни детям начинали вводиться продукты и блюда прикорма. И очень часто

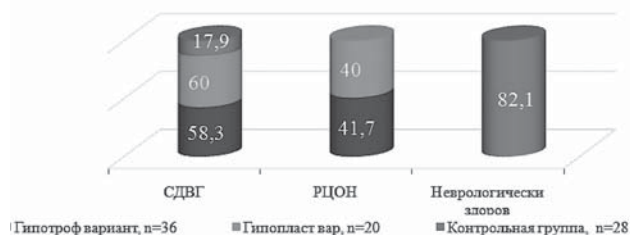


Рис. 4 Структура неврологической патологии у детей исследуемых групп

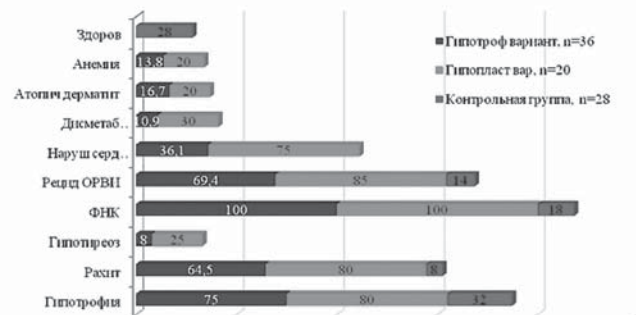


Рис. 5 Структура заболеваемости у детей исследуемых групп

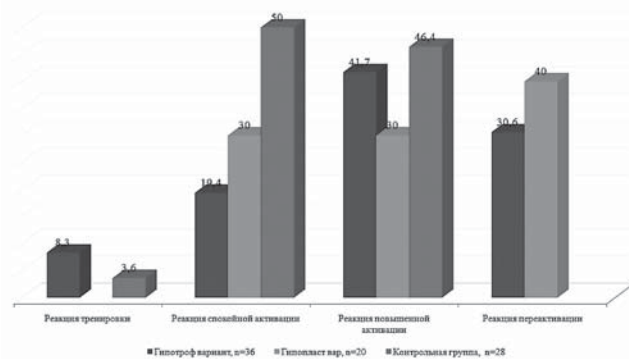


Рис. 6 Виды адаптивных реакций по Гаркави Л.Х. у исследуемых детей в возрасте трёх лет, (%)

у 77,8% (в группе детей с гипотрофическим вариантом СЗРП) и 60% (в группе детей с гипопластическим вариантом СЗРП) детей зарегистрирован феномен «неофобии», т.е. страх перед новым и неприятным ребёнком новых компонентов рациона. В связи с неадекватным поведением, невротическими реакциями у детей, матери просто отказывались или не могли изменить рацион в соответствии с возрастом ребёнка. Таким образом, дети, рождённые с СЗРП, к годовалому возрасту имели статистически значимое отставание в физическом развитии по сравнению со сверстниками, рождёнными с нормальными антропометрическими данными. И это отставание отчётливо наблюдали во втором полугодии жизни. Из указанных выше рисунков видно, что на протяжении второго и третьего года жизни темпы прироста массы и длины тела соответствовали лишь средним нормативным показателям без какого-либо опережения. На третьем году жизни темпы нарастания массы тела оказались ниже должностных показателей для детей раннего возраста. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что у детей, родившихся с СЗРП не наблюдался компенсаторный рост в первые годы жизни, «выравнивающий» условия пренатального развития и ликвидирующий последствия неблагоприятных условий внутриутробного роста.

Показатели нервно-психического развития детей в возрасте 3-х лет представлены на рис. 3.

Нервно-психическое развитие детей раннего возраста, родившихся с СЗРП, имеет достоверные отличия от показателей контрольной группы и соответствует нормативным значениям только по основным статико-моторным характеристикам (крупная моторика) и понимаемой (пассивной) речи, сенсорной активности, т.е. функциям, которые формируются на первом - втором годах жизни. Более сложная мо-

торная деятельность (мелкая моторика), формирование навыков, активные речевые функции, эмоциональная сфера и социальная адаптация детей основных групп значительно запаздывают, при этом доминируют нарушения речевого развития и тонкая двигательная активность.

Структура неврологической патологии у детей трёхлетнего возраста, родившихся с различными вариантами СЗРП, представлена на рис 4. Среди детей трёх лет, родившихся с СЗРП, неврологически здоровых не выявлено. Структура неврологической патологии не зависела от клинического варианта СЗРП при рождении.

Структура заболеваемости у детей трёхлетнего возраста, родившихся с различными вариантами СЗРП, выглядела следующим образом (рис 5).

На представленном рисунке видно, что дети с диагнозом «практически здоров» в наблюдаемой группе отсутствовали. В структуре заболеваемости ведущее место занимала патология обмена веществ в виде гипотрофии, остаточных явлений рахита, у части детей выявлен транзиторный гипотиреоз. У всех детей регистрировались дисфункции кишечника, сопровождающиеся, как правило, патологией микробной колонизации кишечника. Подавляющее большинство детей страдало рецидивирующими респираторными заболеваниями. Нередкой находкой являлись кардиоваскулярные расстройства в виде нарушения сердечного ритма. У части детей обнаруживались дисметаболическая нефропатия, анемии, атопический дерматит.

У наблюдаемых детей анализировались не только показатели гемограммы, но и рассчитывались интегральные гематологические индексы, дающие представление о состоянии гомеостатических систем организма (таблица 3).

Независимо от клинического варианта СЗРП при рождении, в трёхлетнем возрасте у детей наблюдались достоверно высокие показатели ЛИИ, ЛГИ и ИА, что свидетельствовало о наличии интоксикации эндогенного происхождения. Повышенные показатели ЛИ, ИСНМ свидетельствовали о дисбалансе в системе клеточного, гуморального иммунитета и неспецифических факторов защиты. Отсутствие достоверных различий в показателях ИСЛ свидетельствовало об отсутствии активных очагов инфекции на момент обследования у детей, рождённых с СЗРП. При анализе адаптационных реакций по Гаркави Л.Х. и соавт., 1977 г. были получены следующие результаты (рисунок 6).

Подавляющее большинство (96,4%) детей контрольной группы имели нормальные показатели адаптивных реакций (т.е. реакции спокойной и повышенной активации). У детей, родившихся с СЗРП, картина была иной. Несмотря на преобладание нормальных вариантов (61,1% при гипотрофическом варианте СЗРП и 60% при гипопластическом варианте), около 40% детей из обеих групп имели патологические варианты адаптивных реакций с преобладанием переактивации, состоянием, граничащим со стрессом, что является основой для развития различных заболеваний.

Нами проведён биохимический анализ индивидуальных показателей крови и получены следующие данные (таблица 4).

Из представленных в таблице данных видно, что обнаружены сниженные показатели концентрации альбумина и триглицеридов у части детей, родившихся с СЗРП независимо от варианта по сравнению с младенцами контрольной группы.

При анализе уровней гормонов тиреоидного комплекса у обследуемых групп детей достоверных отличий не выявлено. Однако оценка индивидуальных показателей содержания гормонов тиреоидного комплекса привела к следующим результатам (таблица 5).

Несмотря на то, что средние показатели уровней тиреоидных гормонов не отличались от контрольной группы, среди детей 3-хлетнего возраста были выявлены дети с явлениями субклинического гипотиреоза – 8% детей среди детей, родившихся с гипотрофическим вариантом СЗРП, и в четверти случаев среди детей, родившихся с гипопластическим вариантом СЗРП.

Таким образом, основными объективными критериями нарушения состояния здоровья детей раннего возраста, родившихся с СЗРП, являются: резидуальные явления ПП ЦНС, отставание в нервно-психическом развитии, рецидивирующие ОРЗ и их осложнения, функциональные расстройства кишечника, функциональные расстройства сердечно-сосудистой системы, субклинический гипотиреоз. При наблюдении за этими детьми в соответствии с общепринятыми стандартами 60% из числа обследованных детей были отнесены к группе здоровья II Б, а 40% - к III группе здоровья. По нашему мнению, во избежание раннего формирования хронических форм заболеваний у младенцев, родившихся с СЗРП, необходимо целенаправленное и систематическое наблюдение на протяжении всего периода раннего детства врача-педиатра и соответствующих «узких» специалистов с проведением необходимых реа-

билитационных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Неонатология: национальное руководство. Под редакцией проф. Володина Н.Н. «ГЭОТАР-Медиа», 2007. – 848 с.
2. Деметьева, Г.М. Клинико-патогенетическая характеристика и критерии диагностики задержки роста и развития у новорождённых детей : автореф. дис. д-ра мед. наук / Г.М.Деметьева.- М., 1984.- 41с.
3. Медведев, М.В. Задержка внутриутробного развития плода / М.В.Медведев, Е.В.Юдина.- 2-е изд., перераб.- М.: УЗДПГ, 1998.- 208с.
4. Сундетова, Р.А. Особенности ранней неонатальной адаптации доношенных и недоношенных новорождённых с задержкой внутриутробного развития : автореф. дис. канд.мед. наук / Р.А.Сундетова.- М., 2007.- 19с.
5. Робертон, Н.Р.К. Практическое руководство по неонатологии / Н.Р.К.Робертон.- М. : Медицина, 1998.- 516 с.
6. Кельмансон, И.А. Низковесный новорождённый и отсроченный риск кардиореспираторной патологии / И.А.Кельмансон.- СПб., 1999.- 156 с.
7. Рябчикова Т.В. Формирование здоровья у детей с задержкой внутриутробного развития. / Автореф. Дис. д.м.н. Иваново, 1996
8. Перфильева, Н.А. Комплексная оценка состояния здоровья детей с задержкой внутриутробного развития / Н.А.Перфильева, Е.С.Филиппов // IV Российский Конгресс современных технологий в педиатрии и детской хирургии.- М., 2005.- С. 159.
9. Невская, О.В. Отдалённые результаты развития доношенных новорождённых с внутриутробной гипотрофией в зависимости от течения раннего неонатального периода / О.В.Невская, Н.И.Фадеева, Г.В.Бабайцева //Мать и дитя : мат. VI Рос.Фор.-М., 2004.- С. 572-573
10. Алиева, Х.М. Прогноз психоневрологического развития детей с ЗВУР / Х.М.Алиева // Материалы VIII конгресса педиатров России.- М., 1998.- С. 10.
11. Гаркави, Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х.Гаркави, Е.Б.Квакина, М.А.Уколова. - Ростов-на-Дону, 1977.- 252 с.
12. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. - М., 1960 . 352.
13. Мустафина, Ж.Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных / Ж.Г.Мустафина, Ю.С.Краморенко, В.Ю.Кобцева //Клиническая лабораторная диагностика.- 1999.- № 5.- С.47-49.

Plusnina N.N., Zaharova S.U., Pavlichenko M.V. **THE HEALTH STATUS CHILDREN 3 YEARS OLD, BORN WITH THE INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION**

Abstract. Conducted clinical and laboratory examination of 56 children aged 3 years old, born with the syndrome of intrauterine growth retardation. The article consist the comprehensive assessment of health status of children in this category depending on option (Intrauterine Growth Retardation or Intrauterine Growth Restriction – IUGR) compared with children with average physical development at birth.

Keywords: Intrauterine Growth Retardation, health status, young children.

Авторская справка
Plusnina Natalya N.
Zaharova Svetlana U.
Pavlichenko Mariya Vasilievna

Федеральное государственное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России», г. Екатеринбург
Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1
e-mail: omm@k66.ru

Authors
Plusnina Natalya N.
Zaharova Svetlana U.
Pavlichenko Mariya V.

Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ekaterinburg
Russia, 620028, Ekaterinburg, Repina Str., 1
e-mail: omm@k66.ru

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА В ЛЕЧЕНИИ ЮНОШЕСКОГО ЭПИФИЗЕОЛИЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

ФГБУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме: Проведен анализ результатов хирургического лечения 134 пациентов с юношеским эпифизеозом головки бедренной кости. Лучшие результаты получены у пациентов с ранней диагностикой заболевания. Данным пациентам выполнялся закрытый эпифизеодез головки бедренной кости спицами или винтом.

Ключевые слова: юношеский эпифизеоз головки бедренной кости, эпифизеодез, аваскулярный некроз.

Введение

Правильно и своевременно поставленный диагноз при юношеском эпифизеозе головки бедренной кости во многом определяет прогноз заболевания. Отсутствие ранней диагностики и соответствующего лечения ЮЭГБК может привести к значительному нарушению функции тазобедренного сустава, раннему развитию коксартроза и инвалидизации [1, 2, 3].

Естественное течение ЮЭГБК в большинстве случаев характеризуется постепенным увеличением шеечно-эпифизарной деформации (хроническая форма), а в ряде случаев сопровождается дополнительным соскальзыванием эпифиза головки (острая на фоне хронической). Риск прогрессирования ЮЭГБК существует, пока зона роста остаётся открытой [4].

Важным направлением в лечении ЮЭГБК стала ранняя хирургическая профилактика дальнейшего развития заболевания. Многолетние изучения результатов лечения путём фиксации эпифиза без репозиции показали существование феномена ремоделирования, приводящего к улучшению функциональных результатов и анатомических взаимоотношений в тазобедренном суставе в отдаленном периоде после операции. Операция эпифизеодеза наименее травматична среди всех видов хирургического лечения ЮЭГБК и в ряде стран по праву считается «золотым стандартом» в лечении лёгкой степени этого заболевания [5]. Вместе с тем, подавляющее большинство больных получают помощь в уже запущенных случаях, что свидетельствует о низкой информированности врачей об особенностях диагностики и тактики лечения пациентов с ЮЭГБК.

Цель исследования уточнить критерии ранней рентгенологической диагностики юношеского эпифизеоза головки бедренной кости, проанализировать результаты лечения больных при ранней и поздней диагностике заболевания.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты наблюдения и лечения 134 больных (146 суставов) с разными формами юношеского эпифизеоза головки бедра, пролеченных в Уральском НИИТО с 1984 по 2010 год. Среди этих больных было 75% мальчиков и 25% девочек в возрасте от 10 до 18 лет (средний возраст составил $13,5 \pm 1,1$).

Распределение по степени смещения: лёгкая – 19, средняя – 6, тяжёлая – 109 больных. Правостороннее поражение встретилось в 43% случаев, левостороннее – в 57%, двустороннее – в 17% от общего числа.

Средний срок наблюдения составил $8 \pm 3,5$, максимальный – 24

года. В зависимости от степени смещения эпифиза использовались следующие виды оперативной помощи: при лёгком и умеренном смещении (до 40°) – эпифизеодез проксимальной ростковой зоны, при тяжёлых нестабильных формах – открытая репозиция эпифиза головки бедренной кости с корригирующей остеотомией и при тяжёлых стабильных формах – передняя межвертельная ротационная остеотомия бедренной кости.

При клиническом обследовании использовалась методика Southwick [6], результаты лечения оценивались по клинорентгенологической шкале Ireland [7]. Также были использованы рентгенологический, компьютерно-томографический и статистический методы исследования.

Результаты исследования

Анализ клиническо-анамнестических и рентгенологических данных показал, что основная часть поступающих в клинику больных была с поздней диагностикой заболевания. По нашим наблюдениям 86% (112) пациентов на момент проведения хирургического лечения были с тяжёлой формой ЮЭГБК.

Также отмечен низкий уровень правильной первичной диагностики данного заболевания, в 81% случаев больные направлялись на консультацию в специализированное отделение с неверным диагнозом. Вместе с ошибочной диагностикой отмечалась и неадекватная тактика ведения этих больных, а оперативные вмешательства проводились отсрочено, когда уже имела тяжёлая степень смещения эпифиза.

Результаты лечения оценены у 136 больных с использованием схемы Ireland. Наилучшие исходы отмечались в группе больных с лёгкой и умеренной степенью смещения ЭГБК, которым проводился спицевой или винтовой эпифизеодез ростковой зоны головки бедра: 95% хороших результатов и 5% удовлетворительных. Также у этих пациентов не отмечено осложнений в виде асептического некроза головки бедренной кости (АНГБК) и хондролита.

У пациентов с тяжёлыми формами после передней межвертельной ротационной остеотомии и открытой репозиции эпифиза головки бедренной кости эти осложнения встречались в 18% случаев, из них 8% – АНГБ и 10% – хондролит. Результаты лечения пациентов этой группы получены: хороший 74%, удовлетворительный 16%, плохой 10%.

Анализ рентгенограмм позволил обобщить характерные черты начальных изменений в тазобедренном суставе при ЮЭГБК:

Рентгенологические изменения чаще всего минимальны, в связи с чем важно оценивать морфологические изменения по сравнительным рентгенограммам поражённой и здоровой стороны, учитывая ширину, протяженность, структурные изменения ростковой зоны бедра, наличие или отсутствие участков синостозирования.

Рентгенологически определяется расширенная линия проксимальной ростковой зоны в области шейки и эпифиза головки бедренной кости. Линия ростковой зоны неравномерная, более чётко отграничен эпифиз головки от метафиза шейки в верхнем отде-



Рис. 1 – Начальное течение эпифизеоза головки левой бедренной кости на рентгенограммах в двух проекциях. А – задняя проекция, Б – Проекция в положении по Лаунштейну

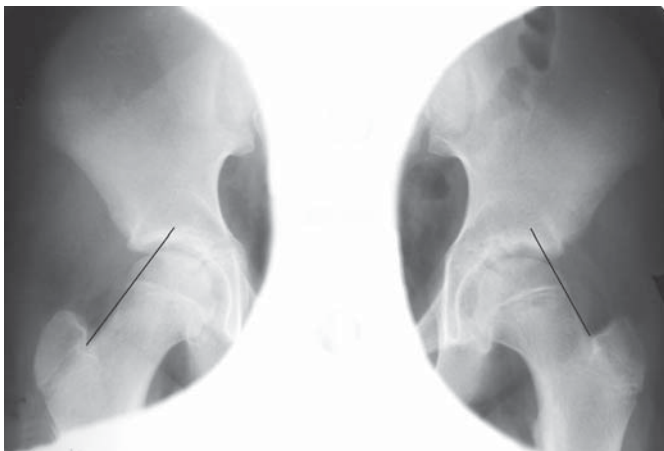


Рис. 2 – Линия Klein отсекает разные по площади участки головки бедра

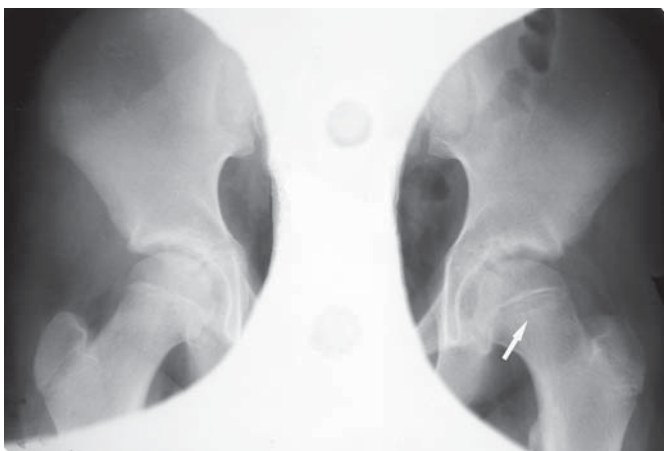


Рис. 3 – Линия Steel & Klein

ле. Силы срезания в плоскости изменённой ростковой зоны делают невозможной оксификацию с образованием нормальной костной структуры, поэтому параэпифизарная зона хорошо просматривается и позволяет увидеть полосчатые или пятнистые разрежения (рис. 1).

Начальные признаки дислокации эпифиза на рентгенограмме в задней проекции малозаметны. Происходит постепенное проекци-

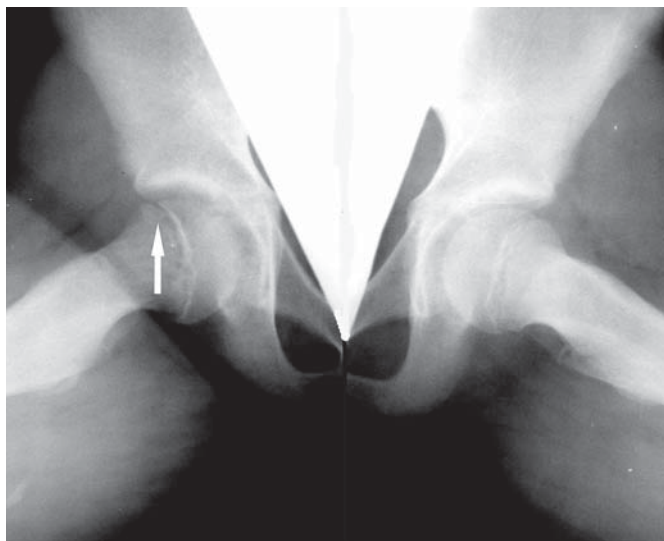


Рис. 4 – Рентгенография в положении Лауэнштейна «Ступенька» между эпифизом и метафизом

онное уменьшение высоты эпифиза головки бедра за счет его заднего отклонения.

Для определения смещения эпифиза удобно использовать линию Klein, которая представляет собой касательную, проведенную по верхнему краю шейки бедренной кости (рис.2).

В норме эта линия отсекает наружную часть головки. При начинающемся эпифизеолизе площадь отсекаемого участка головки меньше в сравнении со здоровой стороной.

Другим вспомогательным рентгенологическим признаком является так называемый метафизарный белый контур или линии Steel & Klein (рис.3).

Этот признак обусловлен увеличением плотности, видимой на уровне метафиза на рентгенограммах в передне-задней проекции. Двойная плотность отражает контур заднего края эпифиза, свидетельствуя о начале отклонения кзади. Визуально воспринимается как локальное увеличение плотности метафиза в параэпифизарной зоне.

В положении по Лауэнштейну отклонение эпифиза кзади в сравнении со здоровой стороной видно более отчетливо. В ряде случаев определяется слабовыраженная «ступенька» между эпифизом и метафизом (рис.4).

Для диагностики при начальных проявлениях ЮЭГБК оправда-

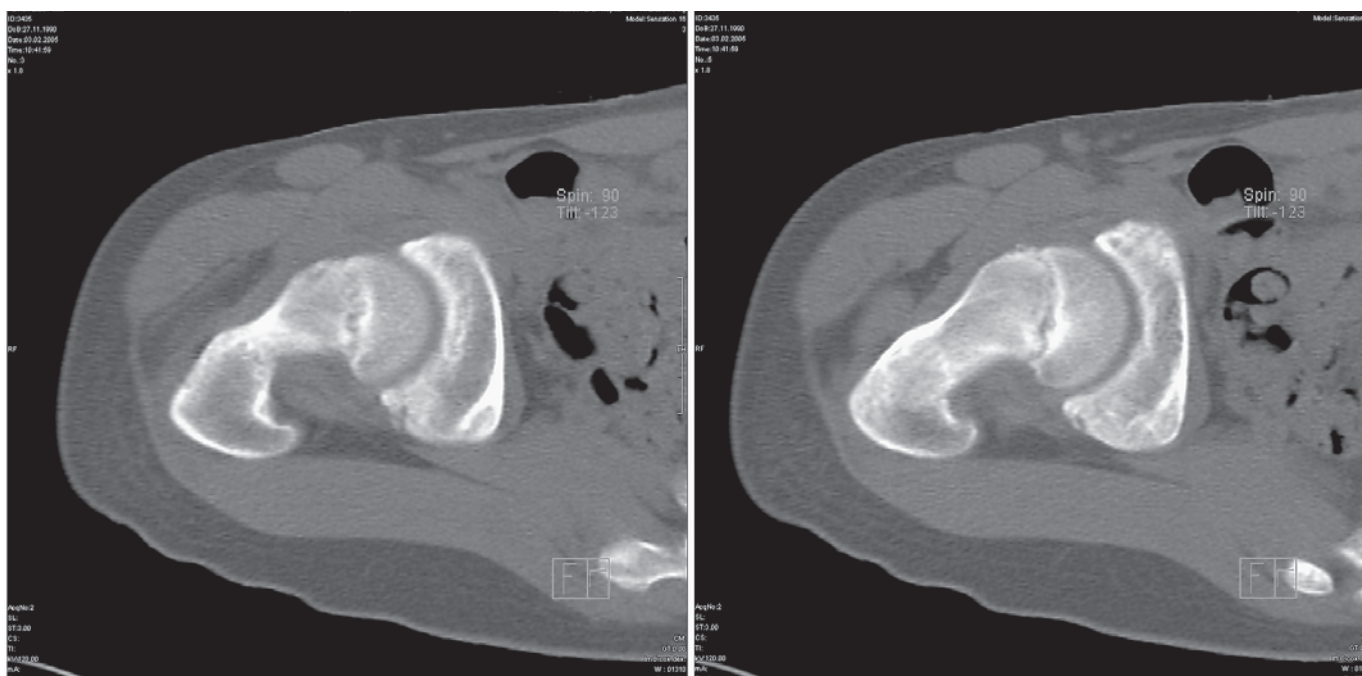


Рисунок 5 – Послойные срезы КТ тазобедренного сустава в начале патологического процесса

но применение компьютерной томографии. На срезах томограмм чётко определяются морфологические изменения на уровне паразипфизарной зоны (рис.5).

Спиральная томография, обладая возможностью трёхмерного моделирования тазобедренного сустава, позволяет визуализировать начальное смещение головки во всех ракурсах.

Заключение

Проблема поздней диагностики ЮЭГБК остается актуальной до настоящего времени. Связано это с редкостью данной патологии и скудными клинично-рентгенологическими проявлениями на начальной стадии патологического процесса. Как правило, заболевание начинается в пубертатном периоде с появления периодических болей в тазобедренном и иногда в коленном суставах. По нашим данным 44% пациентов с ЮЭГБК жаловались на боль в коленном суставе или в дистальной части бедра. Неучёт этой клинической особенности приводил к диагностическим ошибкам и потере времени.

Существует прямая зависимость между временем, прошедшим с момента манифестации заболевания до диагностики, и тяжестью смещения эпифиза, а, следовательно, и результатами лечения. Наилучшие результаты до 95% хороших результатов отмечены у пациентов с легкой степенью ЮЭГБК, которым выполнен эпифизодез головки бедренной кости одиночным винтом или спицами.

Постановка верного диагноза, выбор тактики лечения в значительной мере определяются правильностью проведения рентгенологического обследования и выявлением признаков начальной стадии заболевания:

- Важно проводить обследование обоих тазобедренных суставов в двух проекциях (задняя и в положении по Лауэнштейну).
- Первые рентгенологические признаки заболевания – расширение и неоднородность ростковой зоны головки.
- Дислокация эпифиза определяется по задней проекции (проекционное снижение высоты эпифиза, линия Klein и линия Steel&Klein), в положении по Лауэнштейну (ступенька между эпифизом и шейкой).

При сравнении суставов необходимо учитывать возможность возникновения билатерального патологического процесса, частота которого может составлять 17%.

Значительно облегчают выявление ранних признаков ЮЭГБК современные методы исследования: компьютерная томография и магниторезонансная томография.

Диагностика ЮЭГБК на начальной стадии заболевания позволяет применить оптимальный вид хирургического лечения – закрытый эпифизодез одиночным винтом, что предотвращает развитие грубых анатомических нарушений в тазобедренном суставе и обеспечивает благоприятный долгосрочный прогноз.

Литература

1. Ахтямов И. Заболевание тазобедренного сустава у детей. Диагностика и хирургическое лечение / И. Ахтямов, А. Абакаров, А. Белещкий [и др.]. – Казань: Центр оперативной печати, 2008. – 456 с.
2. Rahme D. Consequences of diagnostic delays in slipped capital femoral epiphysis // D. Rahme [et al.] // J. Pediatr.Orthop. – 2006. – Vol.15, № 2 – P.93-97.
3. Krahn T.H. Long-term follow-up of patients with avascular necrosis after treatment of slipped capital femoral epiphysis // J.Pediatr.Orthop. – 1993. – № 13 (2). – Mar-Apr. – P.154-158.
4. Carey R.P. The place of threaded pin fixation in the treatment of slipped capital femoral epiphysis // R.P.Carey [et al.] // Clin.Ortop. – 1987. – № 224. – Nov. – P.45-51.
5. Gholve P.A., Cameron D.B., Millis M.B. Slipped capital femoral epiphysis // Cur.Opin.Pediatr. – 2009. – Feb. – Vol.21 (1). – P.39-45.
6. Southwick W.O. Editorial slipped femoral epiphysis // J.Bone Jt.Surg. – 1984. – Vol.66-A, № 8. – P.1151-1152.
7. Ireland J., Newman P.H. Triplane osteotomy for severely slipped upper femoral epiphysis // J.Bone Jt.Surg. – 1978. – Vol.60-A, № 3. – P.390-393.

Pulatov A.R., Mineev V.V.

EARLY DIAGNOSIS IN TREATMENT SLIPPED CAPITAL FEMORAL EPIPHYSIS

Summary: The analysis of surgical treatment results was carried out in 134 patients with slipped capital femoral epiphysis. The best results were obtained in patients with early diagnosis. These patients were managed with closed epiphiseodesis of femoral head using pins or screw.

Keywords: slipped capital femoral epiphysis, epiphiseodesis, avascular necrosis.

Авторская справка

Пуллатов Андрей Рифратович e-mail: par@weborto.net

Минеев Виталий Владимирович e-mail: travmort@list.ru

ФГУ «Уральский НИИ травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина» Минздравсоцразвития России

620014, Россия, Екатеринбург, Банковский пер., 7, Отделение детской ортопедии

Authors

Pulatov Andrey R;

Mineev Vitaliy V

Ural Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics

n.a. V.D.Chaklin

620014, Russia, Ekaterinburg, Bankovsky str., 7, Department of child orthopaedics

УДК 616.71-006-088.842

Томилов А.Б., Кузнецова Н.Л.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕЛОМОВ ПОЗВОНОЧНИКА У ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

ФГУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Цель исследования - выявление особенностей переломов позвоночника у лиц пожилого и старческого возраста. Проведен ретроспективный анализ историй болезней по электронному архиву с 1991 по 2010 гг. За это время в ФГУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» пролечено 83 пациента с переломами позвоночника старше 60 лет. В результате проведенного исследования у пациентов данной возрастной группы, по сравнению со взрослыми больными, отмечены существенные различия: по частоте изолированных, множественных и сочетанных повреждений позвоночника, особенностям локализации изолированных переломов, характеру повреждений, частоте сопутствующих травм и заболеваний. Таким образом, выявлены существенные возрастные особенности возникновения, характера повреждения позвоночника, частоты множественных травм и заболеваний, сопровождающих этот вид нарушений у лиц пожилого и старческого возраста. Эти особенности важны в диагностике и выборе тактики лечения.

Ключевые слова. Пациенты пожилого и старческого возраста, травма позвоночника.

Введение. Переломы позвоночника у лиц пожилого и старческого возраста составляют около 3% всех травм. В отличие от подобных переломов у людей молодого и среднего возраста, травмы позвоночника у лиц старших возрастных групп часто возникают при небольшом насилии, иногда спонтанно, без всякой видимой причины [1]. Перелом позвоночника может наступить при простом падении дома или на улице, при внезапном толчке во время поездки в транспорте, поднятии нетяжелого предмета. Причины особой лёгкости возникновения переломов тел позвонков у лиц старших возрастных групп заключаются в старческом остеопорозе, в основе которого лежит уменьшение числа костных балок в губчатой кости тел позвонков, их истончение, увеличение размеров межбалочных пространств. В результате чего тело позвонка становится особенно хрупким и ломким, легко поддается механическому насилию [2]. Механизм переломов тел позвонков у людей пожилого и старческого возраста чаще всего сгибательный. Большое значение в возникновении старческих переломов позвоночника имеют возрастные изменения межпозвонковых хрящей. Деформирующий спондилез наблюдается почти у 50% больных пожилого и стар-

Таблица 1

Частота сопутствующих заболеваний при травме позвоночника

Сопутствующее заболевание	Основная группа				Группа сравнения			
	Взрослые		Пожилые		Взрослые		Пожилые	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Болезни сердечно-сосудистой системы	43	4,8	14	33,3	62	14,1	35	85,4
Гипертоническая болезнь	23		5		27		15	
Атеросклероз	4		2		11		11	
ИБС	7		4		7		5	
Стенокардия	2		2		6		4	
Миокардиодистрофия	5		1		8			
Мерцательная аритмия					3			
Варикозная болезнь	1							
Вегето-сосудистая дистония	1							
Дисциркуляторная энцефалопатия			2				1	
Болезни желудочно-кишечного тракта	27	3	8	19	38	8,6	7	17,1
Хронический панкреатит	4		2		5		1	
Хронический гепатит	12		2		5		1	
Язвенная болезнь	6		2		6		1	
Хронический гастрит	5		1		9		1	
Желчно-каменная болезнь			1				1	
Хронический геморрой					1			
Хронический колит					3			
Хронический холецистит	2				9		2	
Болезни органов дыхания	12	1,3	3	7,1	16	3,6	5	12,2
Хронический бронхит	11		3		14		3	
Туберкулез	1							
Бронхиальная астма					2		2	
Болезни опорно-двигательной системы	34	3,8	19	45,2	43	9,8	14	34,1
Коксартроз	1		3				2	
Ревматический артрит	1				2		1	
Спондилоз	3		3		5		2	
Гормональная спондилопатия	2		5		1		2	
Сколиоз	4		1		5			
Болезнь Бехтерева	2		1					
Остеохондроз	21		6		25		7	
Болезнь Шейерман-Мау					4			
Клиновидная деформация позвонка					1			
Кривошея	1							
Добавочный поясничный позвонок	1							
Незарращение дужки позвонка					1			
Фиброзная дисплазия					1			
Спондилолистез			1					
Болезни мочевыделительной системы	6	0,7	1	2,4	11	2,5	2	4,9
Хронический пиелонефрит	5				10		2	
Мочекаменная болезнь					1			
Хронический цистит	1		1					
Эндокринные заболевания	15	1,7	4	9,5	5	1,1		
Ожирение	3				1			
Киста яичника	1							
Диабет	11		4		4			
Другие	22	2,4	9	21,4	14	3,2	12	29,3
Шизофрения	3		1					
Системная красная волчанка					1		1	
Анемия							2	
Болезнь Панкерсона			1					
Вазомоторный ринит	1							
Системный остеопороз	18		7		13		9	
ИТОГО	163	18,1	61		191	43,4	76	

ческого возраста. Нередко у них определяется деформация позвоночника в виде кифоза или сколиоза [3].

Для переломов позвоночника у людей старческого возраста характерна небольшая или средняя степень компрессии тела по-

Таблица 2

Удельный вес сопутствующих заболеваний с учетом возраста

Заболевание	Основная группа, %		Группа сравнения, %	
	Взрослые (n=899)	Пожилые (n=42)	Взрослые (n=440)	Пожилые (n=41)
Сердечно-сосудистые заболевания	4,8	33,3	14,1	85,4
Заболевания желудочно-кишечного тракта	3	19	8,6	17,1
Заболевания органов дыхания	1,3	7,1	3,6	12,2
Заболевания опорно-двигательной системы	3,8	45,2	9,8	34,1
Заболевания моче-выделительной системы	0,7	2,4	2,5	4,9
Эндокринные заболевания	1,7	9,5	1,1	0
Другие заболевания	2,4	21,4	3,2	29,3

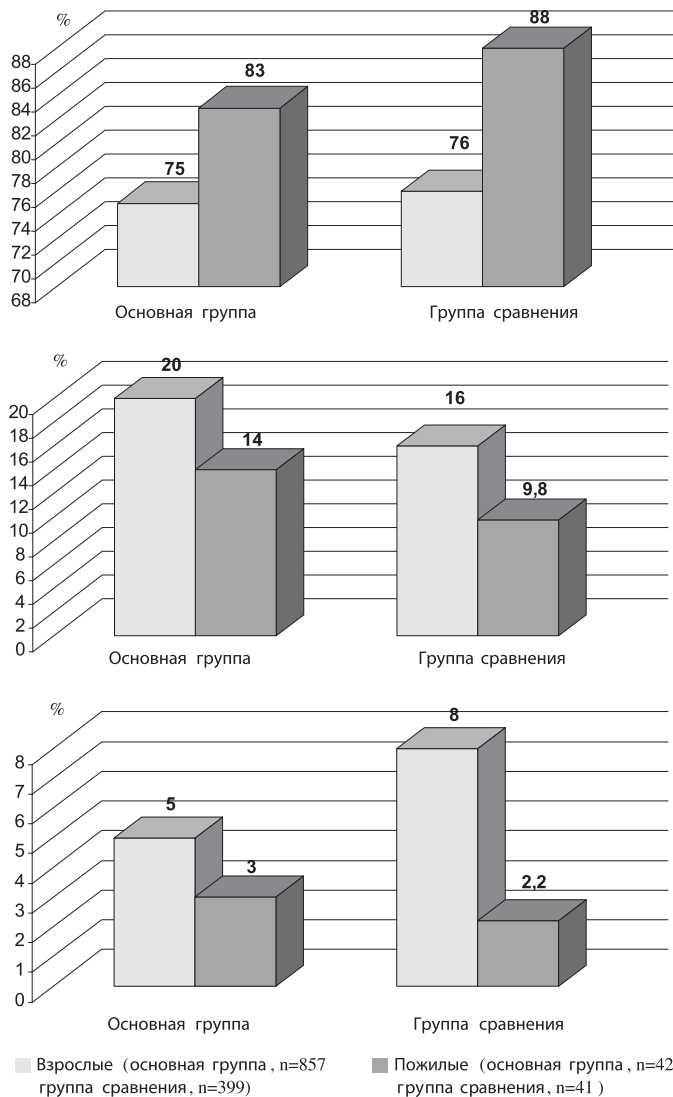
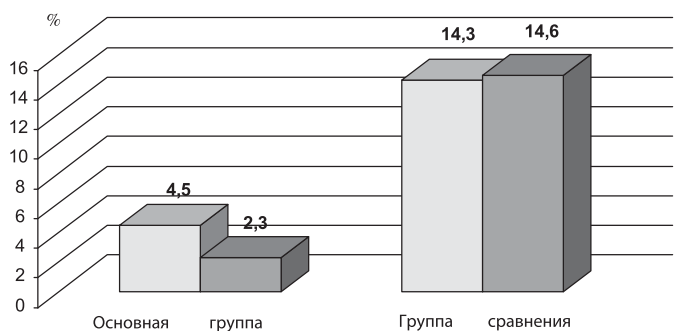
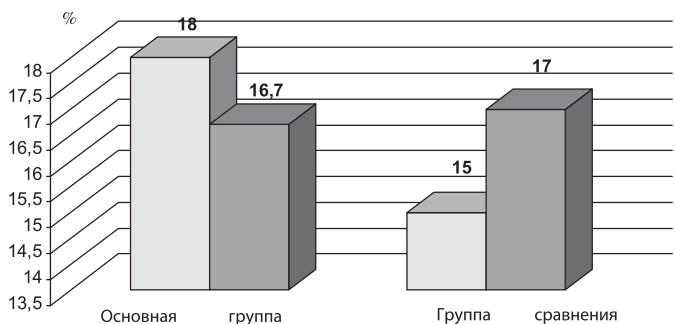
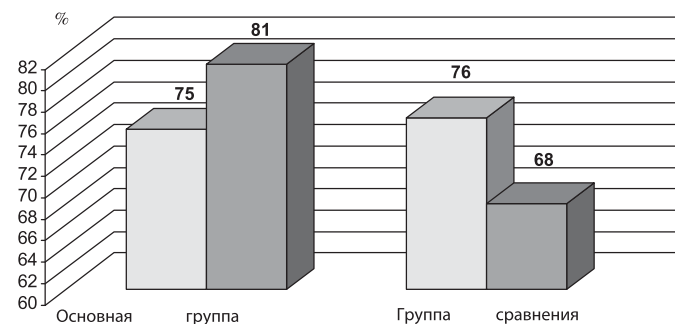


Рис. 1. Особенности частоты изолированных, множественных и сочетанных повреждений позвоночника

звонка, хотя наблюдается и значительное его оседание. При этом повреждения или сдавления спинного мозга, как правило, не наступает. Так как переломы позвоночника у лиц старших возрастных групп возникают при небольшой травме, они часто остаются нераспознанными. Некоторые больные, не подозревая о наступившем переломе, продолжают свою обычную деятельность, а боли в позвоночнике связывают с «отложением солей» или «радикулитом». Часто лишь при повторной травме, когда определяется свежий перелом, одновременно выявляется старый перелом, ранее не диагностированный. Иногда наличие старого перелома тела позвонка выясняется при упорных жалобах на боли в области позвоночника спустя долгое время после травмы [4].

Цель. Выявить особенности переломов позвоночника у лиц пожилого и старческого возраста путем ретроспективного анализа.



■ Взрослые (основная группа, n=857 группа сравнения n=399) ■ Пожилые (основная группа, n=42 группа сравнения n=41)

Рис. 2. Особенности частоты повреждений одного, двух и трех и более позвонков у лиц пожилого возраста

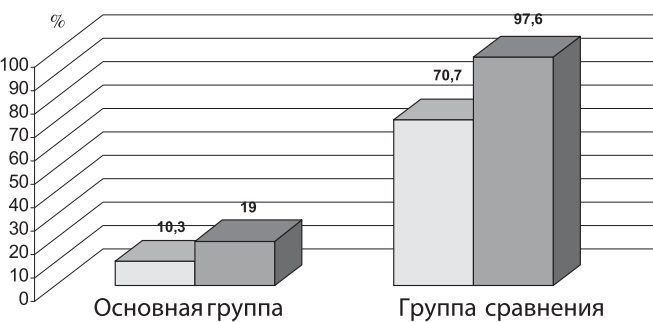
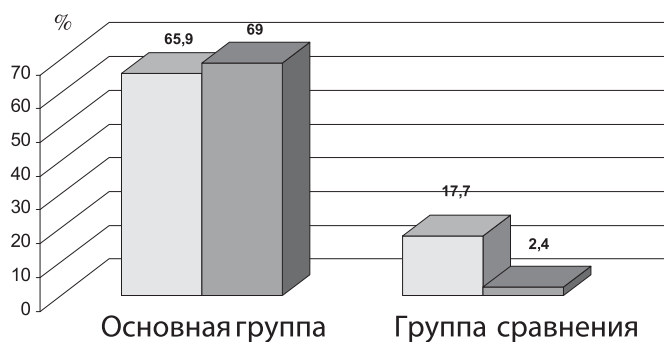
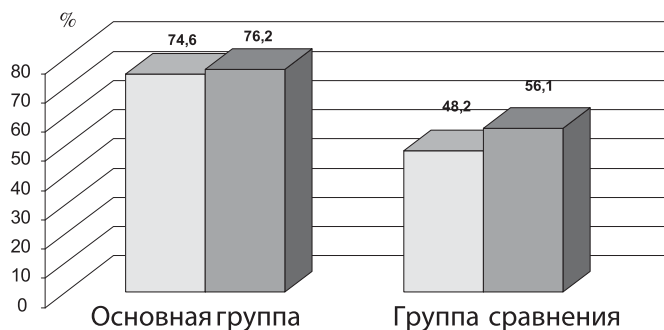
Материалы и методы.

Проведен ретроспективный анализ историй болезней по электронному архиву за два периода: первый – с 1991 по 1999 гг., второй - с 2000 по 2010 гг. За это время ФГУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» всего с переломами позвоночника пролечено 83 пациента старше 60 лет, что составило 6,2% в удельном весе от числа пролеченных больных. Средний возраст пожилых составил $65,8 \pm 4,4$ года в основной группе и $68,5 \pm 4,7$ года – в группе сравнения. В основной группе пациентов с повреждениями позвоночника в возрасте от 60 до 70 лет было 33, старше 70 лет – 9. В группе сравнения больных в возрасте от 60 до 70 лет было 30, старше 70 лет – 11. В основной группе наблюдалось 20 женщин и 22 мужчины, в группе сравнения – 28 женщин и 13 мужчин.

Результаты исследования и их обсуждение. Изолированные повреждения позвоночника в группах встречались в 83% в основной группе и 88% - в группе сравнения. В 14% наблюдений в основной группе и 9,8% - в группе сравнения имелся множественный характер повреждений. Сочетанные повреждения выявлены в 3% и 2,2% соответственно. Отмечены существенные различия частоты изолированных, множественных и сочетанных повреждений при распределении пациентов с учетом возраста (рис. 1).

У взрослых изолированные повреждения, как в основной группе, так и в группе сравнения, встречались на 8% и 12% реже соответственно. Аналогичная тенденция отмечена при множественных повреждениях на 6% и 6,2%, при сочетанных - на 2% и 5,8%.

Анализ частоты изолированных и многоуровневых повреждений у пожилых пациентов отражен на рис. 2.



■ Взрослые (основная группа, n=857 группа сравнения n=399) ■ Пожилые (основная группа, n=42 группа сравнения n=41)

Рис. 3. Особенности локализации изолированных оскольчатых и компрессионных повреждений позвоночника у лиц пожилого возраста

Интересен факт различий частоты повреждений одного позвонка среди пожилых в основной группе и группе сравнения: так, в основной группе такие травмы возникали чаще, чем у лиц группы сравнения. Обратная тенденция прослежена у пациентов с многоуровневыми повреждениями: травма двух позвонков в группах наблюдалась с одинаковой частотой, в то время как, повреждения трех и более позвонков в основной группе, независимо от возраста, наблюдались в 3 и 7 раз реже, чем в группе сравнения.

Особенности локализации изолированных повреждений позвоночника у пожилых отражены на рис. 3. В основной группе у двух третей пациентов выявлены изолированные переломы поясничного отдела позвоночника независимо от возраста. В группе сравнения такие повреждения возникали лишь в половине наблюдений. При этом среди пожилых они наблюдались чаще. Характер повреждений позвоночника у лиц пожилого возраста представлен на рис. 3.

Прослежена тенденция существенного роста числа оскольчатых повреждений за последнее десятилетие. Она выявлена как у пожилых, так и более молодых пациентов. В основной группе такие переломы у пожилых наблюдались несколько чаще, в то время, как в группе сравнения – значительно реже. Соответственно число компрессионных переломов было значительно меньше в основной группе. В группе сравнения этот вид травм был преобладающим.

Кроме того, среди пожилых пациентов установлены виды переломов, которые не наблюдались в группе сравнения: сочетанные оскольчатого и компрессионного переломов (n=2), вывиха и

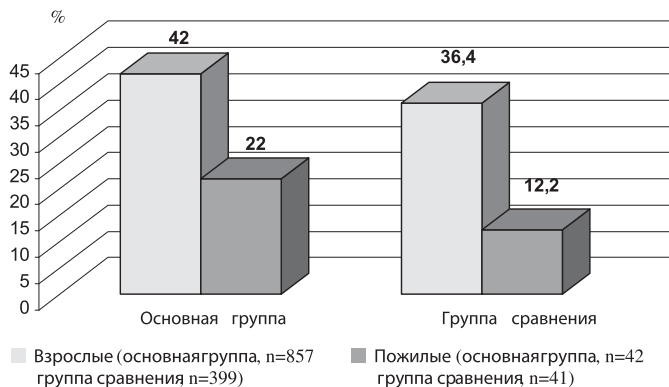


Рис. 4. Частота сопутствующих травм позвоночника у лиц пожилого возраста

оскольчатого перелома (n=1), а также горизонтальный перелом тела позвонка (n=1).

Проведен детальный анализ множественных и сочетанных повреждений у лиц пожилого возраста. Отмечено, что для лиц пожилого возраста в группе сравнения были установлены единичные повреждения таза, большеберцовой кости, лодыжки и черепно-мозговая травма. В основной группе установлены диагнозы повреждения ключицы, лопатки, пяточной кости, шейки бедра, а также травмы груди со спонтанным пневмоторексом и гемоторексом. Частота сопутствующих травм отражена на рис. 4.

Частота сопутствующих травм у лиц пожилого возраста отмечена в основной группе и группе сравнения в 2 и 3 раза реже, чем у лиц более молодого возраста.

Особенности сопутствующих заболеваний у пациентов с травмой позвоночника с учетом возраста отражены в табл. 1, 2.

Анализ сопутствующих заболеваний позволил установить достоверные межгрупповые различия у лиц пожилого возраста по частоте сердечно-сосудистых заболеваний, болезней желудочно-кишечной системы, опорно-двигательной системы, органов дыхания, мочевыделительной системы.

Заключение и выводы.

Выявлены существенные возрастные особенности возникновения, характера повреждения позвоночника, частоты множественных травм, сопровождающих этот вид нарушений у лиц пожилого и старческого возраста. На наш взгляд, эти особенности важны в диагностике и выборе тактики лечения.

Список литературы

1. Кавалерский Г.М., Слиянов Л.Ю., Бобров Д.С. Комплексное лечение неосложненных повреждений грудного и поясничного отделов позвоночника при первичном остеопорозе // Травматология. – 2007. - № 5. – Т. 8. – С. 298 – 306.
2. Каплан А.В. Основы травматологии пожилого возраста. - М., 1965.
3. Old JL, Calvert M. Vertebral compression fractures in the elderly // Am Fam Physician. – 2004. – N 69. – P. 111 - 116.
4. Rao R.D., Singrakhia M.D. Painful osteoporotic vertebral fracture. Pathogenesis, evaluation, and roles of vertebroplasty and kyphoplasty in its management // J Bone Joint Surg Am. – 2003. – N 85. – P. 2010 - 2022.

Tomilov A.B., Kuznetsova N.L.

FEATURES OF VERTEBRAL FRACTURES IN ELDERLY AND SENILE

Abstract. The purpose of the study - to determine the characteristics of spinal fractures in the elderly and elderly. A retrospective analysis of medical records for electronic archive from 1991 to 2010. During this time, the FGI "UNIITO them. VD Chaklina" treated 83 patients with vertebral fractures over 60 years. The study, patients this age group, compared with older patients, reported significant differences: the frequency of isolated, multiple and associated spinal injuries. Isolated fractures of the features of localization, the nature of damage, frequency related injuries and illnesses. Thus, the identified significant age-related particular occurrence, the nature of spinal injury, the frequency of multiple injuries and diseases that accompany this type of disturbances in elderly and senile age. These especially important in the diagnosis and treatment selection.

Keywords. Patients aged and old, a spinal injury.

Авторская справка

Томиллов Анатолий Борисович
Кузнецова Наталия Львовна
ФГУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург
Россия, 620014, г. Екатеринбург, пер. Банковский, 7
e-mail: knl@bk.ru

Authors

Tomilov Anatolij B.
Kuznetsova Natalia L.
FGI "UNIITO them. VD Chaklina" Health Ministry of Russia, Ekaterinburg
Russia, 620014, Ekaterinburg, per. Banking, 7
e-mail: knl@bk.ru

УДК: 616.13-004.6+616.379-008.64]-089

Фокин А.А., Борсук Д.А.

ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА НА ОТДАЛЕННЫЕ ИСХОДЫ ОПЕРАЦИЙ НА СОННЫХ АРТЕРИЯХ

Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Росздрава, г. Челябинск, Россия

Резюме. Сердечно-сосудистые заболевания, вызванные атеросклерозом, представляют большую проблему для современного мира. Больные сахарным диабетом 2 типа имеют свои особенности развития и течения атеросклеротического процесса. В статье представлен анализ послеоперационного периода после каротидных реконструкций у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и без него. Средний период наблюдения составил $55,1 \pm 23,2$ месяцев. Общая летальность была сопоставима между группами ($p > 0,05$). В отдаленном периоде больные сахарным диабетом 2 типа чаще перенесли коронарную реваскуляризацию ($p = 0,01$), а также операции на контрлатеральных сонных артериях ($p = 0,005$).

Ключевые слова: каротидная эндартерэктомия, сахарный диабет 2 типа, атеросклероз.

Атеросклеротические стенозы сонных артерий на фоне сахарного диабета (СД) 2 типа представляют большую угрозу развития ишемического инсульта [3]. Основным методом профилактики столь грозного осложнения в данной категории пациентов на протяжении большого количества времени и по сегодняшний день являются открытые хирургические реконструкции сонных артерий [2]. Однако дальнейшая судьба этих пациентов в большинстве слу-

чаев связана с прогрессированием атеросклеротического процесса в других бассейнах артериального русла [8]. Целью нашего исследования стала сравнительная оценка исходов каротидных реконструкций с позиции системности атеросклероза у пациентов с СД 2 типа и без диабета.

Материал и методы

В настоящее исследование вошли 165 пациентов, которым с 2001 по 2009 год выполнены операции на сонных артериях по поводу их атеросклеротического поражения. Каротидные реконструкции являлись первым вмешательством на артериальной системе. Такой дизайн исследования избран в связи с тем, что наиболее распространена следующая последовательность хирургической коррекции артериальных бассейнов при их мультифокальном поражении: плечеголовые артерии, венечные, почечные, артерии нижних конечностей. Эта схема признается ориентировочной всеми авторами и подлежит коррекции в каждом индивидуальном случае, в зависимости от выраженности ишемических проявлений в этих бассейнах. Больные были разделены на две группы. В первую группу вошли 64 больных СД 2 типа, которым исходно выполнено 78 операций на сонных артериях. Период наблюдения соста-

вил от 14 до 93, в среднем $55,2 \pm 22,8$ месяцев. Во вторую группу вошел 101 пациент без СД, которым исходно выполнено 108 каротидных реконструкций. Период наблюдения в этой группе составил от 12 до 97, в среднем $54,9 \pm 23,7$ месяцев. Возрастной состав в первой группе колебался от 47 до 81 года (в среднем $55,3 \pm 6,2$ лет), в то время как во вторую группу вошли пациенты от 41 до 80 лет (в среднем $61,6 \pm 5,3$ лет).

Исходно среди сопутствующих заболеваний ишемическая болезнь сердца (ИБС) была выявлена у 34 (53,1%) пациентов основной группы и у 47 (46,5%) пациентов контрольной группы ($p=0,4$). Среди больных СД 2 типа часто встречалась безболезненная форма ишемии миокарда, которая диагностирована у 14 (21,9%) пациентов. Для ее определения последовательно выполняли ЭКГ, ЭХОКС, нагрузочные пробы, а при их высоко положительных результатах дополняли обследование коронарографией.

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) до операции перенесли 12 (18,8%) больных СД 2 типа и 15 (14,9%) пациентов без диабета ($p=0,5$). Постоянной формой фибрилляции предсердий страдали 6 (9,3%) и 8 (7,9%) пациентов первой и второй группы соответственно ($p=0,7$).

Поражение артерий нижних конечностей наблюдалось у 37 (57,8%) больных СД 2 типа и у 52 (51,5%) пациентов без диабета ($p=0,3$), причем у лиц с СД 2 типа в большинстве случаев были заинтересованы дистальные отделы.

Неврологический статус оценивался согласно классификации А.В.Покровского (1978г.): 1 стадия – асимптомные пациенты с гемодинамически значимыми стенозами сонных артерий, 2 стадия – пациенты с транзиторными ишемическими атаками (ТИА), 3 стадия – хроническое течение сосудисто-мозговой недостаточности (только общемозговая симптоматика, без очаговой), 4 стадия – перенесенный инсульт. Распределение пациентов по стадиям сосудисто-мозговой недостаточности (СМН) представлено в таблице 1.

У 14 (21,9%) пациентов первой группы и у 7 (6,9%) пациентов без диабета исходно имелись показания к реконструкциям сонных артерий с обеих сторон. Всем этим больным выполнялись последовательные хирургические вмешательства в сроки от 2 до 4 недель. Выбор стороны хирургической коррекции осуществлялся индивидуально с учётом неврологического статуса, степени стеноза, состояния атеросклеротической бляшки. Таким образом, исходно было выполнено 78 каротидных реконструкций у 64 больных первой группы, и 108 реконструкций у 101 пациента второй группы, т.е. больные СД 2 типа статистически значимо чаще имели двустороннюю стенозирующую патологию сонных артерий ($p=0,005$).

Обе группы больных были сопоставимы по виду выполненных операций ($p>0,05$) – таблица 2.

В условиях регионарной анестезии шейного сплетения выполнено 67 (85,9%) операций у больных СД 2 типа и 94 (87,0%) операции у пациентов без диабета. В условиях наркоза выполнено 11 (14,1%) и 14 (13,0%) реконструкций соответственно ($p=0,8$). Временный внутрипросветный шунт применялся в 23 (29,5%) случаях у больных СД 2 типа и в 14 (13,0%) случаях у пациентов без диабета ($p=0,005$).

Статистический анализ результатов исследования проводили на персональном компьютере Pentium IV с использованием лицензионной программы SPSS 18.0. Для описания числовых значений выборочных данных при нормальном распределении использовались выборочное среднее и выборочное стандартное отклонение. Количественные признаки с асимметричным распределением описывались с помощью медианы и процентилей.

Для сравнения групп по количественным признакам использовались методы параметрической статистики, поскольку распределение признака в группах больных было нормальным, что было установлено с помощью теста Колмогорова-Смирнова ($p<0,05$). Для проверки статистических гипотез для двух групп использовался критерий Стьюдента как частный случай однофакторного дисперсионного анализа.

Сравнение качественных признаков проводилось с помощью таблиц сопряженности (хи-квадрат по методу Пирсона с поправкой Йетса). Если ожидаемые значения после составления таблиц сопряженности при сопоставлении качественных признаков не превышали 5, то их сравнение проводилось с помощью точного критерия Фишера попарно.

Анализ выживаемости проводился путем построения таблиц дожития с графическим изображением кривых выживаемости по методу Каплана-Майера. Сравнение кривых выживаемости проводилось с помощью логрангового критерия и обобщенного критерия Уилкоксона (критерий Гехана). Разница считалась значимой при $p<0,05$.

Результаты

В ближайшем послеоперационном периоде мы не обнаружили статистически значимых различий между группами ни по одному из осложнений (таблица 3). Это еще раз свидетельствует в пользу того, что исходы операций на сонных артериях определяются прогрессированием атеросклеротического процесса в отдаленном послеоперационном периоде.

Всем пациентам после каротидных реконструкций обязательно проводилась коррекция факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Назначались препараты ацетилсалициловой кислоты, а у больных высокого риска также назначался клопидогрель. Контроль холестерина крови в большинстве случаев осуществлялся диетой и препаратами из группы статинов. В течение 5 дней после операции пациенты получали нефракционированный гепарин.

Судьба больных СД 2 типа прослежена в сроки от 14 до 93 месяцев (медиана $55,2 \pm 22,8$ месяцев). Период наблюдения в группе пациентов без диабета составил от 12 до 97 (медиана $54,9 \pm 23,7$ месяцев). В эти сроки общая летальность составила в первой группе 13 (20,3%) человек, во второй группе 12 (11,9%) человек ($p=0,14$). При сравнении показателей выживаемости в сравниваемых группах статистически значимых различий получено не было ($p=0,07$). Структура летальности представлена в таблице 4.

Рестеноз оперированной ВСА более 60% в отдаленном периоде был диагностирован в 10 случаях в каждой группе (12,8% и 9,3% соответственно ($p=0,44$). Симптомы ишемии ипсилатерального полушария развились в 3 (3,8%) и 2 (1,9%) случаях в первой и второй группе ($p=0,4$). Этим больным выполнено стентирование рестенозированного сегмента.

Гемодинамически значимые стенозы противоположных ВСА в отдаленном периоде были диагностированы у 12 (18,8%) и у 8 (7,9%) пациентов первой и второй группы соответственно ($p=0,04$), а общее число больных, которым выполнены каротидные реконструкции с обеих сторон, составило 26 (40,6%) и 15 (14,9%) ($p=0,0001$).

Каротидные реконструкции были первыми операциями на артериальной системе у наших пациентов, однако в отдаленном периоде многие больные перенесли вмешательства на других регионарных артериальных руслах. Операции на венечных артериях, как эндовазкулярные, так и открытые, перенес 21 (32,8%) больной СД 2 типа и 16 (15,8%) пациентов без диабета ($p=0,01$). Информация о вмешательствах на венечных артериях суммирована в таблице 5.

Клиническая манифестация атеросклеротического процесса в почечных артериях в отдаленном послеоперационном периоде встречалась редко – всего у 2 пациентов из каждой группы (3,1% и 2,0% в первой и второй группе соответственно). Естественно, что при такой низкой частоте встречаемости, статистической значимости различий быть не может ($p=0,64$). Всем этим больным выполнено стентирование почечных артерий с положительным эффектом.

Реконструктивные операции на артериях нижних конечностей перенесли 27 (42,2%) пациентов из первой группы и 35 (34,7%) из второй группы ($p=0,33$). В то же время на момент контрольного осмотра большинство больных СД 2 типа имели различные варианты дистального поражения - берцовых артерий, артерий стоп, диабетическую микроангиопатию. Реконструктивные сосудистые вмешательства в этой зоне не выполнялись. Тем не менее, в большинстве случаев эти пациенты были свободны от критической ишемии, либо обходились малыми ампутациями.

Большие ампутации нижних конечностей перенесли 10 (15,6%) пациентов из первой и 8 (7,9%) из второй группы ($p=0,12$). Ампутации на уровне голени выполнены 6 (9,4%) больным СД 2 типа и 4 (4,0%) пациентам без диабета ($p=0,16$). Ампутацию на уровне бедра перенесли по 4 (6,3% и 4,0%) пациента из каждой группы ($p=0,5$).

Обсуждение

В 90-х годах были опубликованы результаты крупных исследований, посвященных хирургическому лечению стенозирующей патологии сонных артерий. В исследовании ACAS (Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study) [4] 23% асимптомных пациентов страдали сахарным диабетом, а среди пациентов с неврологической симптоматикой, по данным North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial - 19% [7]. В настоящее время Всемирная Организация здравоохранения сообщает о постоянном росте числа диабетиков [1], что еще раз подчеркивает актуальность данной проблемы.

В нашем исследовании, которое было посвящено сравнительному анализу исходов хирургической коррекции атеросклеротиче-

Сравнение групп по неврологической симптоматике

Табл. 1.

Стадия СМН	СД 2 типа	Без СД	Р
I стадия	15 (23,4%)	27 (26,7%)	0,6
II стадия	9 (14,0%)	20 (19,8%)	0,3
III стадия	23 (35,9%)	38 (37,6%)	0,8
IV стадия	17 (26,5%)	16 (15,8%)	0,09

Соотношение операций на сонных артериях между группами

Табл. 2.

Операция	СД 2 типа	Без СД
Эверсионная КЭЭ	39 (50%)	53 (49,0%)
«Классическая» КЭЭ с заплатой	29 (37,2%)	38 (35,2%)
«Классическая» КЭЭ без заплаты	7 (9%)	11 (10,2%)
Протезирование ВСА	3 (3,8%)	6 (5,5%)
Всего	78 (100%)	108 (100%)

Послеоперационные осложнения в исследуемых группах

Табл. 3.

Осложнение	СД 2 типа	Без СД	Р
ТИА	3 (3,8%)	4 (3,7%)	0,96
Ишемический инсульт	1 (1,3%)	2 (1,9%)	0,76
ОИМ	2 (2,6%)	1 (0,9%)	0,38
Тромбоз ВСА	1 (1,3%)	1 (0,9%)	0,81
Преходящие изменения на ЭКГ	8 (10,3%)	10 (9,3%)	0,82
Летальность	1 (1,3%)	1 (0,9%)	0,82

Причины летальности с оценкой статистической значимости различий

Табл. 4.

Причина смерти	СД 2 типа	Без СД	Р
ОИМ	7 (10,9%)	7 (6,9%)	0,36
Злокачественные новообразования	1 (1,6%)	1 (1,0%)	0,74
Ипсилатеральный ишемический инсульт	3 (4,7%)	2 (2,0%)	0,32
Контрлатеральный ишемический инсульт	2 (3,1%)	1 (1,0%)	0,31
Причина неизвестна	-	1 (1,0%)	0,42
Всего	13 (20,3%)	12 (11,9%)	0,14

Сравнительный анализ вмешательств на коронарных артериях между группами

Табл. 5.

Вид операции	СД 2 типа	Без СД	Р
Стентирование	4 (19%)	10 (62,5%)	0,007
Среднее количество стентов	2,0±0,8	2,5±1,1	0,424
Коронарное шунтирование	18 (85,7%)	8 (50%)	0,019
Среднее количество дистальных анастомозов	3,4±1,2	2,6±1,4	0,167
Резекция аневризмы левого желудочка	2 (3,1%)	2 (2,0%)	0,641
Общее количество коронарных реваскуляризаций	21 (32,8%)	16 (15,8%)	0,011

ских стенозов СА у больных СД 2 типа и пациентов без диабета, мы получили следующие результаты. Во-первых, основными причинами смерти в обеих группах являлись кардиальные осложнения и онкологические заболевания, в то время как летальный ишемический инсульт со стороны оперированных СА в группе СД 2 типа не превышал 4,7%. Основной причиной смерти являлся ОИМ (10,9% и 6,9%). Это говорит о необходимости тщательного кардиологического контроля у больных СД 2 типа, учитывая склонность таких пациентов к безболевым формам ишемии миокарда [5,6]. Во-вторых, больные СД 2 типа подвержены более быстрому прогрессированию атеросклеротического процесса, о чем свидетельствует большее количество перенесенных реконструкций контрлатеральных СА, а также более частые коронарные реваскуляризации в этой группе. В то же время, полученные нами данные свидетельствуют об эффективности хирургического лечения атеросклеротической патологии СА у пациентов с СД 2 типа, несмотря на исходно более высокую отягощенность этих пациентов.

Выводы

1. Судьба больных после реконструкции СА обычно связана с прогрессированием атеросклероза.

2. После вмешательств на СА все пациенты, особенно больные СД 2 типа, должны рассматриваться как кандидаты на реконструкцию других артериальных бассейнов.

3. У больных СД 2 типа двусторонняя стенотическая патология СА встречается достоверно чаще, чем среди пациентов без диабета.

4. В отдаленном периоде после каротидных реконструкций прогрессирование атеросклеротического процесса требует более частой реваскуляризации коронарного бассейна у больных СД 2 типа.

5. Своевременное выявление и рациональное лечение атеросклеротических поражений магистральных артерий нижних конечностей у больных СД 2 типа в большинстве случаев (84,4%) помогает избежать развития критической ишемии и сохранить конечность.

ЛИТЕРАТУРА

- Colagiuri S. Epidemiology of prediabetes. Med Clin North Am. 2011; 95 (2): 299-307, vii.
- Yavin D, Roberts DJ, Tso M et al. Carotid endarterectomy versus stenting: a meta-analysis of randomized trials. Canadian Journal Neurological Sciences. 2011; 38 (2): 230-235.
- Cuocolo A, Concilio C, Acampa W, et al. Cardiovascular risk stratification of diabetic patients. //Minerva Endocrinol. 2009; 34 (3): 205-221.
- Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. Journal of the American Medical Association 1995; 273: 1421-1428.
- Flotats A, Carri I. The role of nuclear medicine technique in evaluating electrophysiology in diabetic hearts especially with 123I-MIBG cardiac SPECT imaging. //Minerva Endocrinol. 2009; 34 (3): 263-271.
- Hoeks S, Flu WJ, van Kuijk JP, et al. Cardiovascular risk assessment of the diabetic patient undergoing major noncardiac surgery. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2009; 23 (3): 361-73.
- North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high grade carotid stenosis. New England Journal of Medicine. 1991; 325: 445-453.
- Protack CD, Bakken AM, Xu J, et al. Metabolic syndrome: A predictor of adverse outcomes after carotid revascularization. // Journal Vascular Surgery. 2009; 49 (5): 1172-80.

Fokin A.A., Borsuk D.A.

THE INFLUENCE OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS ON THE DISTANT RESULTS OF OPERATIONS ON CAROTID ARTERIES

Abstract. The cardio-vascular diseases, which are caused by the atherosclerosis, are the big problem in the whole world. Type 2 diabetic patients have their specific features of atherosclerosis development. The authors tried to follow up the patients with type 2 diabetes mellitus and without it. The starting point of this investigation was operation on carotid arteries. The average period of the investigation was 55,1 ± 23,2 months. The general mortality was compared between two groups (p>0,05). Type 2 diabetic patients had oftener coronary revascularization (p=0,01) and operations on bilateral carotid arteries (p=0,005).

Key words: carotid endarterectomy, type 2 diabetes mellitus, atherosclerosis.

Авторская справка
Фокин Алексей Анатольевич
Борсук Денис Александрович

Уральская Государственная Медицинская Академия Дополнительного Образования
Росздрава, Россия, Челябинск
454090, Россия, Челябинск, ул. 3-го интернационала, д. 128а, кв. 34
e-mail: borsuk-angio@mail.ru

Authors
Fokin Alexey A.
Borsuk Denis A.
The Ural State Medical Academy for Postgraduate Education, Russia, Chelyabinsk
454090, 3-rd International st., 128a -34, Russia, Chelyabinsk

РАННЯЯ КАРОТИДНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ У БОЛЬНЫХ С ВИДИМЫМИ ПРИЗНАКАМИ ИНФАРКТА МОЗГА НА КТ СКАНИРОВАНИИ

Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования, г. Челябинск, Россия

Резюме. В последние несколько лет различные авторы публикуют данные, указывающие на удовлетворительные результаты проведения ранней каротидной эндартерэктомии (ЭАЭ) после неинвалидирующего инсульта. Но остается неясным, существует ли риск операций у пациентов, имеющих признаки инфаркта, при компьютерной томографии (КТ) головного мозга и связаны ли видимые признаки инфаркта с повышенным операционным риском при ранней каротидной хирургии или это просто свидетельство более “тяжелого” инсульта. Наша цель состояла в том, чтобы найти ответ на вопрос: повышают ли видимые на КТ признаки инфаркта мозгового операционный риск при ранней каротидной ЭАЭ? В анализ было включено 160 пациентов с признаками инфаркта мозга на КТ, которым была выполнена каротидная ЭАЭ в различные сроки после ишемического приступа. Каротидная ЭАЭ была проведена в течение 4 недель 49(30,7%) больным; в период больше 4 недель - 111(69,3%). Общая частота серьезных осложнений (смерть и инсульт) у пациентов, оперированных до 4 недель, с видимыми на КТ признаками инфаркта мозга составили 6,1%. Послеоперационный геморрагический инсульт среди больных, оперированных в течение 4 недель, составляли 2,0% и были сопоставимы с теми, кто получил лечение после истечения 4 недель - 2,7%. Авторы считают, что ранняя каротидная ЭАЭ у пациентов с признаками инфаркта мозга на КТ безопасна и сопровождается стандартным операционным риском.

Ключевые слова: каротидная эндартерэктомия; инсульт; расчет времени для хирургии.

Введение. На сегодняшний день хирургическое лечение критических окклюзирующих поражений сонных артерий (СА) не имеет альтернативы. Тем не менее, многие вопросы оказания хирургической помощи больным, перенесшим острое нарушение кровоснабжения головного мозга, остается не решенными [1]. Рекомендуемое время проведения каротидной ЭАЭ для больных с клиникой ишемического инсульта (ИИ) - в первые 6 месяцев заболевания, но не раньше, чем 6-8 недель после приступа, появилось из исследований, проведенных в 60-70-ых годах XX века, когда в арсенале врачей отсутствовали методы нейровизуализации [3]. Риск трансформации из ишемического инфарктного очага в геморрагический инфарктный очаг был главным аргументом для рекомендации о задержке операции [4]. С развитием КТ (с 1973г.) стало возможным установить наличие, тип и размер инфаркта мозга.

Инсульт – это клинический диагноз, но остается неясным, существует ли риск операций у пациентов, имеющих признаки инфаркта на снимках КТ головного мозга, и связаны ли видимые признаки инфаркта с повышенным операционным риском и худшими результатами вмешательств, проведенных вскоре после перенесенного ИИ, или это просто свидетельство более “тяжелого” инсульта. Некоторые исследования поддерживают позицию, что ранняя каротидная ЭАЭ, проведенная у пациентов с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ (положительный результат КТ), повышает риск послеоперационного инсульта. Например, Ricotta JB et al. [5] выполнили каротидную ЭАЭ 27 пациентам с нестабильными неврологическими симптомами в течение 10 дней после инсульта. Из 17 пациентов с нормальными результатами сканирования КТ только у 1 произошел инсульт. Из 10 больных с положительным сканированием КТ, у 4 было неврологическое ухудшение. Некоторые хирурги отказались проводить раннюю каротидную операцию больным с положительным сканированием КТ. Whitemore AD et al. [6] сделали КТ сканирование в течение последующих 5 дней 245 больным после острого инсульта с умеренной неврологической недостаточностью. Эти больные ждали 6-8 недель до ангиографии и после им выполнялись каротидные ЭАЭ.

В крупных рандомизированных исследованиях с контролем было показано, что каротидная ЭАЭ имеет благоприятные результаты у пациентов с недавним развитием симптомов тяжелого стеноза СА. Если вероятность инсульта при каротидной ЭАЭ возрастает до 10% и выше, преимущества операции существенно уменьшается. Было продемонстрировано, что риск послеоперационной церебральной геморрагии связан с несколькими индивидуальными факторами, в частности, с наличием и размером инфаркта на КТ. В других исследованиях обнаружено, что показатель послеоперационного инсульта был тот же или выше у больных, которые до операции имели нор-

мальные предоперационные КТ сканирования (отрицательная КТ). Например, Gasecki AP et al. [7] описывают два послеоперационных инсульта у 25 больных, прооперированных в период менее 30 дней, у которых были нормальные предоперационные КТ сканирования, и ни одного инсульта у 17 пациентов, оперированных в течение 30 дней, с ишемическим очагом головного мозга при КТ. Piotrovski JP et al. [8] сделали каротидную ЭАЭ 82 больным ранее 6 недель после ИИ. Всем пациентам была выполнена КТ. Анализ не показал роста риска инсульта или смерти среди больных с отклонениями от нормы по сравнению с группой в целом или подгруппой с нормальными показателями КТ. Итальянское мультицентровое исследование The Surgical Treatment of Acute Cerebral Ischemia (STACI) [9] показало, что при маленьком очаге церебрального инфаркта большой может подвергаться очень ранней каротидной ЭАЭ, в течение 1,5 дней после инсульта. В этом направлении имеется ряд новых исследований: национальная инсультная стратегия Великобритании (The National UK Stroke Strategy) [10] и американская академия неврологии (American Academy of Neurology) [11] рекомендуют хирургическое лечение в течение 2 недель для пациентов с инфарктом мозга на КТ.

Мы хотели найти ответ два вопроса: повышают ли признаки инфаркта мозга, видимые на КТ, риск трансформации из негеморрагического в геморрагический инфарктный очаг при каротидной ЭАЭ, проведенной до 4 недель после инсульта, и относится ли серьезность инсульта к размеру инфаркта?

Материалы и методы.

С января 1996г. по декабрь 2005г. в отделении сосудистой хирургии МУЗ ГКБ № 3 г. Челябинска было проведено 297 каротидных ЭАЭ после перенесенного ИИ в бассейне ипсилатеральной СА. Из 297 оперированных пациентов 240(80,8%) подвергнуты КТ сканированию головного мозга в течение первых 24-72 ч после инсульта. В целом, у 80(33,3%) госпитализированных больных, у которых клинически был диагностирован ИИ, КТ не показала очагового поражения. У 160 (66,7%) больных имелись видимые признаки инфаркта на стандартных КТ головного мозга, и эта группа была отобрана для дальнейшего изучения. Видимый инфаркт мозга определялся как любой участок головного мозга, имеющий более низкую плотность, по сравнению с нормальными тканями мозга, округлую или клиновидную форму, располагающийся в определенном сосудистом бассейне. В нашем исследовании мы определили 2 группы, зависящие от расчета времени проведения хирургической операции у больных с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ сканировании. Группа ранней хирургии, пациенты, которые были оперированы в течение 4 недель - 49(30,7%); группа отсроченной хирургии, те, кому сделали каротидную ЭАЭ по истечении 4 недель после инсульта - 111(69,3%). Чтобы исключить новые ишемические и геморрагические процессы, за 24 часа до операции КТ повторяли. Кроме того, была разработана классификация локализаций инфаркта для оценки роли инсульта в развитии клинических признаков. Помимо инфаркта в бассейне стенозированной СА, случайно обнаруженный инфаркт при КТ с или без неврологических симптомов, не относящийся к стенозированной СА, или инфаркт в бассейне ипсилатеральной СА, не сочетающийся с последним приступом неврологической недостаточности, расценивался как бессимптомный. В эту категорию вошли пациенты с инсультом в вертебробазилярном бассейне, с неполушарными симптомами, а также с симптомами ишемии мозга, относящимися к контралатеральной СА. Дополнительный инфаркт мозга при КТ обнаружен в бассейне вертебробазилярной артерии у 2 (2,7%) и 7 (4,2%) больных, соответственно, полушарный у 2 (2,7%) и 2 (1,2%), соответственно, в бассейне контралатеральной СА у 3(4,1%) и 9(5,4%) случаях, соответственно. В группе отсроченной хирургии 77 пациентов перенесли повторный инсульт в бассейне той же самой стенозированной СА. У 21 (27,3%) из них на КТ имелись признаки предыдущего инфаркта. Градации размеров инфаркта мозга определены в соответствии с градацией, установленной Американской ассоциацией сердца и Американской инсультной ассоциацией (American heart association/American stroke association council on stroke) [12]. Маленький – субкортикальный инфаркт (менее 2

см) или инфаркт, занимающий менее половины одной доли мозга, установлен в 31 (63,3%) и 78 (70,2%) случаях соответственно. Средний инфаркт (до размера одной доли мозга) - в 18 (36,7%) и 33 (29,7%) случаях, соответственно. Больные с большим или «обширным» инфарктом мозга (более одной доли мозга) операции не подвергались из-за высокого риска геморрагического инфаркта мозга. Результаты сравнительного анализа нейровизуализации представлены в таблице 1. Неврологическое обследование больных проходили до и после операции, а также в периоде пребывания в стационаре. Для оценки степени инвалидизации применялась модифицированная шкала Рэнкина (Rankin, 1957). У всех больных имелся стабильный неврологический дефицит различной степени без нарушения сознания. Реконструкция СА выполнена со средней степенью стеноза ипсилатеральной СА в 82% (от 54% до 99%). Различий между группами, у которых обнаружили тяжелый стеноз СА, не наблюдалось ($p > 0,05$). Послеоперационное ультразвуковое сканирование и КТ сканирование головного мозга выполнялись при подозрении на расстройство мозгового кровообращения. Мы оценивали результаты каротидной ЭАЭ у больных с признаками инфаркта мозга, оперированных до и после 4-х недель. Кроме того, в популяции больных, оперированных в сроки до 4-х недель, результаты каротидной ЭАЭ, проведенных у больных с видимыми признаками инфаркта мозга, сравнивались с результатами операций, проведенных у больных с нормальными данными КТ сканирования. Учитывались летальная геморрагия и послеоперационный геморрагический инсульт. Ухудшением состояния считали развитие гемиплегии или изменения сознания.

Результаты.

Наши результаты показывают, что в группе оперированных до 4-х недель возникли 5(6,8%) послеоперационных инсультов: 2(8,0%) инсульта возникли у больных с нормальными данными КТ. Произошел 1(4,0%) летальный исход вследствие геморрагического инсульта на стороне оперированной СА у больного с нормальным передоперационным КТ сканированием. В 3(6,1%) случаях послеоперационные инсульты возникли у больных, имеющих признаки инфаркта на КТ головного мозга, в одном случае (2,0%) вследствие геморрагического инсульта. В группе оперированных по истечении 4-х недель возникли 11(6,6%) послеоперационных инсультов: в 4(7,3%) случаях у больных с нормальными данными КТ, в 7(6,3%) случаях у больных, имеющих признаки инфаркта на снимках КТ головного мозга. Произошли 2(1,2%) летальных исхода. Один (1,8%) вследствие геморрагического инсульта на стороне реконструированной СА, у которого было нормальное передоперационное КТ сканирование, 1(0,9%) вследствие кровоизлияния в инфарктный очаг при исходно видимых признаках инфаркта мозга.

Таким образом, общая частота послеоперационных инсультов и смерти среди больных, оперированных до 4-х недель с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ, составила 6,1%; у пациентов с нормальными КТ данными - 8,0%. При этом частота послеоперационной церебральной геморрагии у пациентов с исходно положительной КТ в процентном соотношении ниже (2,0% против 4,0%, статистически нет разницы $p > 0,05$), чем у больных с КТ нормальными данными. Перерастание очага ишемического инсульта в геморрагический среди пациентов с видимыми признаками инфаркта на КТ, оперированных по истечении 4 недельного срока ожидания, составила 6,3% ($p > 0,05$). Результаты сравнительного анализа исходов каротидной ЭАЭ представлены в Таблице 2.

Обсуждение.

Инсульт занимает одно из ведущих мест среди причин смертности населения. Геморрагическая трансформация из ишемического инфарктного очага в геморрагический инфарктный очаг случается у каждого 7-го больного с инфарктом мозга, летальность от которого достигает почти 40% [13]. До настоящего времени нет исследований, указывающих на преимущества раннего хирургического лечения у пациентов с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ. Последние несколько лет сосудистыми хирургами проводится активный поиск способов идентификации пациентов высокого риска и установления периода времени высокого риска рецидивного инсульта. Пациенты с неинвалидизирующим или умеренным инсультом находятся в группе высокого риска по развитию повторных инсультов (более 10% в первые 48 часов) [14]. Поэтому им необходимо проведение срочной диагностики сосудистой патологии, устранение активных факторов риска, гемодинамически значимых стенозов и других источников эмболии. Сосудистая визуализация является более приоритетной у этих больных, чем у больных с большим инсультом продолжительностью более 3 недель, которым не требуется в срочном порядке проведения методов сосудистой хи-

рургии. Хирургическое лечение, проведенное в более раннем периоде ИИ, может снизить частоту развития различных инсультов, инвалидизации и смертности. Среди пациентов с симптоматическим каротидным стенозом риск развития повторного тяжелого инсульта также высок у больных с наличием инфаркта на КТ [15].

Ранние КТ-признаки ИИ включают снижение коэффициента поглощения, отек ткани мозга со сглаженностью борозд и извилин, гиперденсивность артерий, являющиеся признаком внутрисосудистого тромбоза [16]. КТ является высокоспецифичным методом ранней диагностики ишемического повреждения головного мозга [17]. Мы отдали предпочтение КТ как рутинному методу исследования, при остром инсульте принимая во внимание состояние пациента. КТ менее чувствительный метод исследования, чем МРТ, но для диагностики ранних ишемических изменений такой же специфичный. При этом МРТ менее пригоден для исследования пациентов в возбужденном состоянии [18]. Таким образом, информативность КТ вполне удовлетворяет требованиям, предъявляемым к оценке состояния вещества ГМ.

В некоторых центрах отдают предпочтение магнитно-резонансной томографии (МРТ) как рутинному методу исследования при остром инсульте. МРТ с диффузионно-взвешенным режимом (ДВИ) является более чувствительным методом для диагностики ранних ишемических изменений, чем КТ [19]. Ограниченная диффузия на ДВИ, выявляемая при помощи измеряемого коэффициента диффузии (ИКД), не имеет 100% специфичности в диагностике ишемического повреждения мозга. Несмотря на то, что измененная ткань, по данным КТ или МРТ в ДВИ-режиме, часто переходит в инфарктную зону, она может восстановиться, что свидетельствует о том, что КТ и МРТ с ДВИ позволяет визуализировать не только необратимо поврежденную ткань [20]. Ткань с незначительным снижением ИКД может оказаться необратимо поврежденной. В настоящее время не определен порог ИКД, позволяющий отличить некротизированную ткань от жизнеспособной [21]. Другие режимы МРТ (T2, FLAIR, T1) не обладают достаточной чувствительностью для определения ранних признаков ишемии головного мозга.

Несоответствие между объемом мозговой ткани с критической гипоперфузией (которая может восстановиться после реперфузии) и объемом инфарктной ткани (которую нельзя восстановить даже с помощью реперфузии) можно установить с помощью МРТ в диффузионно-перфузионном режиме [22], однако этот метод еще не является доказанной стратегией для проведения ранней ревазуляризации. Существуют разные взгляды на то, как лучше идентифицировать необратимо поврежденную ткань и определять критически сниженный мозговой кровоток [23]. Измерение уровня МР - перфузии является проблематичным [24], существует большое количество ассоциаций между параметрами перфузии ткани мозга, клиническим исходом инсульта и результатами КТ [25]. Снижение мозгового кровотока на КТ связано с последующим повреждением ткани мозга [26], однако, значимость КТ - перфузии для хирургической тактики еще не установлена. Несоответствие клинических и КТ признаков, т.е. несоответствие объема поражения ткани мозга по данным МРТ с ДВИ или КТ и распространенности поражения, предполагаемой в соответствии с тяжестью состояния больного, может давать противоречивые заключения [27]. Таким образом, ни перфузионная КТ, ни перфузионная МРТ не могут быть рекомендованы в качестве рутинных методов для определения тактики лечения.

Зона ишемии окружает очаг инфаркта головного мозга, а вторичные повреждающие факторы (цитотоксины, высвобождающиеся из поврежденных нейронов, отек мозга, местное нарушение мозгового кровообращения, воспалительный процесс) способствуют увеличению выраженности неврологического дефицита. Расчет времени зависит от тяжести состояния больных. Каротидная ЭАЭ в более ранние сроки после инфаркта мозга преследует три цели: 1) устранить факторы риска (атеросклероз, расслоение артерий, аномалии развития, аневризма) и ослабить патологический процесс (липогиалиноз, воспаление, отложение амилоида, отек, сочетание пониженного перфузионного давления или повышенной вязкости крови с недостаточным кровотоком); 2) предотвратить рецидив инсульта за счет устранения его причины; 3) свести к минимуму вторичное повреждение мозга путем обеспечения достаточного кровоснабжения участков мозга, пограничных с зоной ишемии, а также уменьшения отека мозга. Основная цель хирургического лечения больных с инфарктом мозга в раннем периоде заключается в максимально быстром устранении сосудистых факторов с целью увеличения регионального мозгового кровотока в зоне ишемии, окружающего зону некроза, обеспечения доставки кислорода в зону обратного ишемического очага, высвобождении из зоны инфаркта нейротоксических веществ, уменьшения воспалительного

Нейровизуализация головного мозга

Визуализация головного мозга	Количество (процентные доли) больных в клинических группах		Эмпирические значения коэффициентов Фишера
	< 4 неделя (n=87)	> 4 неделя (n=210)	
•КТ сканирование	74 (85,1%)	166 (79,0%)	$\Phi_{эмп} = 0,8^*$
•Не сделано	13 (14,9%)	44 (21,0%)	$\Phi_{эмп} = 1,1^*$
•ВСЕГО	87 (100%)	210 (100%)	$\Phi_{эмп} = 0$
КТ признаки			
•КТ - нормальное	25(33,8%)	55(33,1%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$
•КТ - пониженной плотности	49(66,2%)	111(66,9%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$
•КТ - повышенной плотности	-	-	-
•ВСЕГО	74(85,1%)	166(79,0%)	$\Phi_{эмп} = 0,8^*$
Градации размеров инфаркта мозга			
Маленький	31 (63,3%)	78 (70,2%)	$\Phi_{эмп} = 1,1^*$
Средний	18 (36,7%)	33 (29,7)	$\Phi_{эмп} = 0,8^*$
Большой	-	-	-

Примечание. Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0, а также пакета Microsoft Excel 5.0. $p > 0,05^*$ незначительное различие между группами, представляющими интерес (<4 неделя и >4 неделя). При сравнительном анализе двух групп, представляющих интерес, различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$, и тем более достоверными при $p < 0,01$.

Таблица 2.

Сравнительный анализ результатов каротидных реконструкций в зависимости от сроков выполнения операции и КТ признаков.

Неврологические осложнения	Кол-во (процентные доли) больных в клинических группах		Эмпирические значения коэффициентов Фишера
	< 4 неделя (n=74)	> 4 неделя (n=166)	
КТ отрицательная (n ₁ = 25) (n ₂ = 55)			
Любой инсульт + смерть	2(8,0%)	4(7,3%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$
- геморагия	1(4,0%)	1(1,8%)	$\Phi_{эмп} = 0,5^*$
- ишемия	1(4,0%)	3(5,4%)	$\Phi_{эмп} = 0,2^*$
КТ положительная (n ₁ = 49) (n ₂ = 111)			
Любой инсульт + смерть	3(6,1%)	7(6,3%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$
- геморагия	1(2,04%)	3(2,7%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$
- ишемия	2(4,1%)	4(3,6%)	$\Phi_{эмп} = 0,1^*$

* $p > 0,05$ незначительное различие между группами, представляющими интерес.

ванных до 4 недель, в процентном соотношении ниже (2,04% против 4,0%; $p > 0,05$), чем у больных с нормальными КТ данными.

Бессимптомный очаг, случайно обнаруженный при КТ в бассейне стенозированной СА или в других сосудистых бассейнах, в силу самого факта не должен являться противопоказанием для ранней каротидной реконструкции. Многие транзиторные ишемические атаки в большинстве случаев сопровождаются небольшими эмболическими инфарктами, чем соответствующими клиническими проявлениями. Несколько исследований за последнее десятилетие показали высокий уровень послеоперационного кровотока при наличии церебрального инфаркта любой локализации [37]. Мы убедились, что бессимптомный инфаркт, обнаруженный при КТ, не ассоциируется с повышенным риском послеоперационных осложнений и смертности. В целом, дополнительный инфаркт мозга при КТ обнаружен в бассейне вертебробазилярной артерии у 9 больных, неполушарный у 4, в бассейне контралатеральной СА у 12 больных. 77 человек, ожидающих операцию больше 4 недель, перенесли повторный инсульт в том же каротидном бассейне. Во всех этих случаях неврологические проявления и размеры инфаркта не соотносятся с предварительными данными. Риск послеоперационного инсульта геморрагического характера у больных с предыдущим инфарктом был не выше (3,9% против 3,0%; $p > 0,05$),

го процесса в области некроза. Таким образом, расчет времени каротидной ЭАЭ зависит от исходного состояния мозгового кровообращения (тяжести атеросклеротического процесса, гипертонической ангиопатии, состояния магистральных артерий головного мозга и возможностей коллатерального кровообращения), от подтипа ИИ и времени от начала инсульта, от наличия и обширности инфаркта на КТ или МРТ. Заслуживает внимания классификация, более точно определяющая временные периоды развития инсульта [2], в которых расчет времени каротидной ЭАЭ, преследуя одну и ту же цель – восстановление и обеспечение оптимального кровотока в наиболее уязвимых областях мозга, может быть существенно разной: острейший период (до 24 часов, включая «терапевтическое окно» до 3-6 часов), острый период (от 24 часов до 3-5 суток), подострый период (от 6 до 21 суток), 3) ранний восстановительный период (от 3 недель до 6 месяцев), 4) поздний восстановительный период (от 6 месяцев до 2 лет), 5) период стойких остаточных явлений (более 2 лет). Хирургическое лечение в течение 6 часового терапевтического окна, на протяжении которого ишемия считается в наибольшей мере обратимой, гибель нейронов незначительной и, как предполагают, в зоне ишемии не сформировалась область некроза, считается наиболее перспективным - это выражается как более высоким уровнем выживаемости, так и полным объемом восстановления неврологических нарушений. Исследование NINDS (National Institute of Neurological Disorders and Stroke) продемонстрировало, что размеры ранних ишемических изменений на КТ (используя оценку ASPECT) не оказывают влияния на лечение в течение 6 часового терапевтического окна [28]. Однако Европейские регулирующие агентства не рекомендуют хирургическое лечение у больных с тяжелым инсультом (NIHSS >25 баллов) при распространенных ранних ишемических изменениях на КТ (в отличие от рекомендаций США). В острейшем, остром и подостром периодах каротидная ЭАЭ перспективно с целью реваскуляризации объема мозговой ткани с критической гипоперфузией, которая может восстановиться после реперфузии и далее – для стабилизации мозгового кровотока и вторичной профилактики инсульта. Каротидная ЭАЭ, проведенная в более ранние периоды после инфаркта мозга, устраняет межполушарную асимметрию и улучшает перфузию мозга. У пациентов с односторонним каротидным стенозом после ранней каротидной ЭАЭ нормализуются анатомические характеристики и коллатеральный кровоток по виллизиеву кругу. Снижение церебрального дефицита и сосудистого резерва после каротидной ЭАЭ может еще больше снизить риск инсульта благодаря вымыванию церебральных эмболов из пограничных зон, в которых коллатеральное кровоснабжение минимально. Проведение раннего хирургического лечения больных с ИИ имеет четкие патогенетические предпосылки. В периоде снижения кровотока кровь в капиллярах сгущается, а эндотелий набухает, и в результате даже после устранения причины нарушения кровообращения кровотоки в капиллярах не нормализуются. Если кровоснабжение быстро восстанавливается, то эти изменения бывают обратимыми [28]. Чем раньше выполнена операция, тем лучше результат. На сегодняшний день известно о положительном эффекте операций, проведенных на 1,5-2 день после ИИ при субкортикальном инфаркте (менее 2 см), занимающем менее половины одной доли мозга [29]. Подобная тактика имеет под собой основу в свете современных знаний о токсическом и воспалительном процессах, связанных с длительным наличием гипоперфузии в зоне ишемии головного мозга. Ставится под сомнение лишь необходимость операции в первые 6 часов у больных с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ до размера одной доли мозга [30]. К отбору больных для операции необходимо подходить очень тщательно, учитывая общую тяжесть состояния. Операции у крайне тяжелых пациентов, престарелых или имеющих выраженную соматическую патологию, не оправданы, поскольку сопровождается высокой послеоперационной летальностью, независимо от сроков проведения каротидной хирургии.

Некоторые исследователи поддерживают позицию, что ранняя каротидная ЭАЭ, проведенная у пациентов с видимыми признаками инфаркта мозга на КТ, повышает риск послеоперационного инсульта [21-33]. В других исследованиях обнаружено, что показатель послеоперационного инсульта был тот же или выше у больных, которые до операции имели нормальные предоперационные данные КТ сканирования [34-36]. Мы оперировали 49(30,7%) больных в течение 4 недель и 111(69,3%) пациентов по истечении 4-х недельного срока с инфарктом на КТ. Частота трансформации из негеморрагического в геморрагический инфарктный очаг в группе ранней хирургии составила 2,0%, в группе ожидания 2,7% ($p > 0,05$). Перерастание ишемического инсульта в геморрагический у больных с видимыми признаками инфаркта на КТ, опериро-

чем у больных с похожим клиническим статусом, но без данных КТ относительно какого-либо прошлого инфаркта.

Наше исследование подтверждает мнение о том, что серьезность инсульта соотносится с размером инфаркта. Все наши больные с видимыми признаками инфаркта имели стабильный неврологический дефицит умеренной или выраженной степени. В настоящее время достигнуты значительные успехи в идентификации больных, которым показано хирургическое вмешательство, и тех, кому оно не принесет пользу. Для будущего будет очень полезно провести анализ с целью выявления отдельных пациентов, у которых благоприятный исход каротидной хирургии наиболее вероятен, однако для максимально эффективного планирования операции потребуется создание математической модели риска.

Выводы.

1. Рутинная КТ является доступным методом, позволяющим исключить состояния, имитирующие инсульт, и дифференцировать ишемический и геморрагический инсульты в течение первых 5–7 дней от развития заболевания.

2. Каротидная эндартерэктомия у больных с видимыми на КТ изображениях признаками инфаркта мозга может быть осуществлена безопасно в течение 4 недель после ишемического инсульта и сопровождаться стандартным операционным риском, однако требуется моделирование риска для индивидуального планирования операции с максимальной эффективностью и безопасностью.

3. Сканирование КТ необходимо для оценки острого инсульта, чтобы исключить кровоизлияние как причину инсульта, и состояния, имитирующие инсульт. Предоперационное наличие или отсутствие инфаркта на КТ не соотносится с инфарктами после каротидной эндартерэктомии.

4. Тяжесть дефекта неврологической функции соотносится с размером инфаркта, чем больше размер инфаркта мозга, видимого на КТ сканировании, тем глубже неврологическая недостаточность.

5. Видимые признаки инфаркта на КТ сканировании не являются определяющими при расчете времени для каротидной эндартерэктомии.

6. По нашим данным, уровень послеоперационной церебральной геморрагии был выше у тех больных, у кого были нормальные предоперационные КТ сканирования (4,0% против 2,1%; $p > 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Фокин А.А., Глазырин С.А. Отдаленные результаты реконструктивных операций на сонных артериях. Часть 1: Мировой опыт. // Патология кровообращения и кардиохирургия. -2001. -№3. -С.84-90

2. Гусев Е. И., Коновалов А. Н., Бурд Г. С. Неврология и нейрохирургия: Учебник – М.: Медицина, 2000. – 656 с.: ил.

3. Bauer RB, Meyer JS, Fiels WS et al: Joint Study of Extracranial Arterial Occlusion. III. Progress report of controlled study of long term survival in patients with and without operation. *Stroke* 1978; 9: 457-460.

4. Caplan LR, Skillman J. Intracerebral hemorrhage following carotid endarterectomy: a hypertensive complication? *Stroke* 1978; 9: 457-460.

5. Ricotta JB, Gauthier JB, Richter JP. The evolution of carotid and coronary artery disease after operation for carotid stenosis. *Ann Vasc Surg* 1992; Vol. 6; 408-412.

6. Whittemore AD, Ruby ST, Couch NP et al. Early carotid endarterectomy in patients with small, fixed neurologic deficits. *J Vasc Surg* 1984; 1: 795-799.

7. Gasecki AP, Ferguson GG, Eliasziw M, Glagel GP, Fox AJ, Hachinski V et al. Early endarterectomy for severe carotid artery stenosis after a non-disabling stroke: results from the North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial. *J Vasc Surg* 1994; 20: 288-295.

8. Piotrovski JP, Bernard VM, Rubin JR, McIntyre KE, Malone JM, Hunter GC. Timing of carotid endarterectomy after acute stroke. *J Vasc Surg* 1990; 11; 45-52.

9. Sbarigia E, Toni D, Speziale F, Acconcia MC and Fiorani P. Early Carotid Endarterectomy after Ischemic Stroke: The Results of a Prospective Multicenter Italian Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 32; 229-235.

10. The National Stroke Strategy. Available from: www.dh.gov.uk/stroke.

11. Chaturvedi S, Holloway R. Carotid endarterectomy- an evidence based review: report of the therapeutic and technology assessment subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2005; 65: 794-801.

12. Sacco RL, Adams R, Albers G, Alberts M, Benavente O, Gorelick P, Halperin J: Guidelines for prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack: A statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke associa-

tion council on stroke: Co-sponsored by the council on cardiovascular radiology and intervention: The american academy of neurology affirms the value of this guideline. *Stroke* 2006; 37: 577-617.

13. Alberts MJ, Latchaw RE, Selman WR, Shephard T, Hadley MN and Brass LM. Recommendations for comprehensive stroke centers: A consensus statement from the brain attack coalition. *Stroke* 2005; 36:1597-1616.

14. Barber P, Hill M, Eliasziw M, Demchuk A, Warwick Pexman J, Hudon M, Tomanek A and Frayne R, Buchan A: Neuroimaging of the brain in acute ischemic stroke: A comparison of computed tomography and magnetic resonance diffusion weighted imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76:1528-1533.

15. Liapis CD, Kosmas IP. Role of residual defects following carotid endarterectomy in the occurrence of cerebrovascular symptoms. *Vascular and Endovascular Surgery*; Vol. 40:2006;2; 119-122.

16. von Kummer R, Bourquain H, Bastianello S, Bozzao L, Manelfe C, Meier D, Hacke W: Early prediction of irreversible brain damage after ischemic stroke by computed tomography. *Radiology* 2001;219:95-100. Dzialowski I, Weber J, Doerfler A, Forsting M, von Kummer R: Brain tissue water uptake after middle cerebral artery occlusion assessed with ct. *J Neuroimaging* 2004;14:42-48.

17. Chalela J, Kidwell C, Nentwich L, Luby M, Butmann J, Demchuk A. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: A prospective comparison. *Lancet* 2007; 369:293-298.

18. Европейское Инсультное Общество. Рекомендации по ведению больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками Европейской организации по борьбе с инсультом (ESO). Перевод на русский язык. – М.: Издательство «Бионика», 2008. -104 с.

19. Schellinger PD, Fiebach JB: Intracranial hemorrhage: The role of magnetic resonance imaging. *Neurocrit Care* 2004;1:31-45.

20. Oppenheim C, Lamy C, Touze E, Calvet D, Hamon M, Mas JL, Meder JF: Do transient ischemic attacks with diffusion-weighted imaging abnormalities correspond to brain infarctions? *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:1782-1787.

21. Wardlaw J, Keir S, Bastin M, Armitage P, Rana A: Is diffusion imaging appearance an independent predictor of outcome after ischemic stroke? *Neurology* 2002;59:1381-1387.

22. Coutts S, Simon J, Tomanek A, Barber P, Chan J, Hudon M, Mitchell J, Frayne M, Buchan A: Reliability of assessing percentage of diffusion-perfusion mismatch. *Stroke* 2003;34:1681-1683.

23. Albers GW, Thijs VN, Wechsler L, Kemp S, Schlaug G, Skalabrini E, Bammer R, Kakuda W, Lansberg MG, Shuaib A, Coplin W, Hamilton S, Moseley M: Magnetic resonance imaging profiles predict clinical response to early reperfusion: The diffusion and perfusion imaging evaluation for understanding stroke evolution (defuse) study. *Ann Neurol* 2006; 60:508-517.

24. Carpenter T, Armitage P, Bastin M, Wardlaw J: Dsc perfusion mri – quantification and reduction of systematic errors arising in areas of reduced cerebral blood flow. *Magn Reson Med* 2006;56:1342-1349.

25. Kane I, Carpenter T, Chappell F, Rivers C, Armitage P, Sandercock P, Wardlaw J: Comparison of 10 different magnetic resonance perfusion imaging processing methods in acute ischemic stroke: Effect on lesion size, proportion of patients with diffusion/perfusion mismatch, clinical scores, and radiologic outcomes. *Stroke* 2007;38:3158-3164.

26. Lev M, Gonzalez R, Schaefer P, Koroshetz W, Dillon W, Wintermark M: Cerebral blood flow thresholds in acute stroke triage. *Stroke* 2006;37:1334-1339.

27. Kent D, Hill M, Ruthazer R, Coutts S, Demchuk A, Dzialowski I, Wunderlich O, von Kummer R: „clinical-ct mismatch“ and the response to systemic thrombolytic therapy in acute ischemic stroke. *Stroke* 2005;36:1695-1699.

28. Wardlaw J, Farrall A, Perry D, von Kummer R, Mielke O, Moulin T, Ciccone A, Hill M. Factors influencing detection of early CT signs of cerebral ischemia – an internet-based, international, multi-observer study. *Stroke* 2007; 38:1250-1256.

29. Setacci C, de Danota G. Is Early Carotid Endarterectomy Indicated in Patients with Recent Neurological Events? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 36: 251-252

30. Reina-Gutierrez T et al. Recurrent carotid artery stenosis following endarterectomy: natural history and risk factors. *EJVES* 2005; 29; n4; p 334-341.

31. Gonzalez LL, Lewis CM et al. Cerebral hemorrhage followings successful endarterectomy of the internal carotid artery. *Surg Obstet* 1966; 123: 773-777.

32. Rob CG. Operation for acute completed stroke due to thrombosis of the internal carotid artery. *Surgery* 1969; 65: 862-865.

33. Wylie EJ, Hein MF, Adams JE. Intracranial hemorrhage following

surgical revascularization for treatment of acute strokes. *J Neurosurg* 1964; 21: 212-215.

34. Ballota E, Da Giau G, Baracchini C: Early versus delayed carotid endarterectomy after a non-disabling ischemic stroke: a prospective randomized study. *Surgery* 2003;131:287-293.

35. Paty PSK, Darling RC, Feustel PJ, Bernardini GL, Mehta M et al. Early carotid endarterectomy after acute stroke. *J Vasc Surg.* 2004;39:148-154

36. Prits MB. Timing of carotid endarterectomy after stroke. *Stroke* 1997; 28(12); 2563-2567.

37. James M. Estes and Antony D. Whittemore. Sub acute carotid surgery in recurrent stroke patients. *Carotid Artery Surgery* 2000; 209-213.

Fokin A.A., Karanizade A.N.

EARLY CAROTID RECONSTRUCTION IN PATIENTS WITH A VISIBLE INFARCTION ON BRAIN COMPUTED TOMOGRAPHY SCAN

Abstract. In the last few years, different authors have published data showing acceptable results of early carotid endarterectomy (CEA) after non-disabling strokes. But there is uncertainty as to the relative risks of surgery in patients with a visible infarction on brain computed tomography (CT). It is not clear whether visible infarction is associated with higher operative risk at early carotid surgery and poor outcome or is simply an indicator of a more "severe" stroke. Our purpose was to answer the specific question whether visible brain infarction on CT increased the operative risk of early CEA? This analysis involved 160 patients with a visible brain infarction on CT scan who underwent CEA in different time after ischemic stroke. CEA was performed within 4 weeks in 49(30,7%) patients; 4 weeks or more in 111(69,3%). The total rate of deaths and strokes was 6,1% in the patients treated within 4 weeks with a visible brain infarction. A perioperative hemorrhage stroke among patients treated within 4 weeks occurred 2,0% and were comparable to those treated after weeks – 2,7%. Patients with a visible brain infarction on CT scan safely undergo early CEA with standard operative risk.

Keywords: carotid endarterectomy; stroke; timing of surgery.

Авторская справка

Фокин Алексей Анатольевич

Каранизаде Айдын Нуррадинович

Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования, кафедра сердечно-сосудистой, торакальной хирургии и трансфузиологии, г. Челябинск

Россия, 454021, г. Челябинск, ул. Молодогвардейцев, 51

e-mail: karanizade_aydin@yahoo.com

Authors

Fokin Aleksey A.

Karanizade Aydin N.

Chair of Cardiovascular and Thoracic Surgery and Transphysiology of Ural State Medical Academy for Postgraduate Education, Chelyabinsk

Russia, 454021, Chelyabinsk, street Molodogvardejtsev, 51

e-mail: karanizade_aydin@yahoo.com

Берзин С.А., Замятин А.В., Бызов И.В., Уймин М.А., Ермаков А.Е., Юшков Б.Г.,
Медведева С.Ю., Тюменцева Н.В.

ФАРМАКОКИНЕТИКА КОМПОЗИТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЖЕЛЕЗА, ИНСТИЛЛИРУЕМЫХ В МОЧЕВОЙ ПУЗЫРЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия;
Институт физики металлов Уральского отделения Российской академии наук (ИФМ УрО РАН), г. Екатеринбург, Россия;
Свердловский Областной онкологический Диспансер (СООД), г. Екатеринбург, Россия; Институт иммунологии
и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

Резюме. Цель работы: изучение распределения наночастиц (НЧ) в мочевом пузыре (МП) и других органах экспериментальных животных при интактной и поврежденной (эрозивной) слизистой оболочке (СО), а также оценка токсических проявлений, местных (в МП) и общих, в ответ на внутрипузырные инстилляций композиций НЧ железа в углеродной оболочке (УО) с химиопрепаратами (ХП), обычно используемыми в онкоурологической практике для внутрипузырной химиотерапии - доксорубицином и митомидином. Общей и местной (в мочевом пузыре) токсичности в 2-х опытных группах животных, которым инстиллировали композиции стабилизированных липосомами НЧ железа в УО с противоопухолевыми ХП, не установлено. Повреждения МП, приведшие к развитию эрозий, имели место и в опытных группах и в контроле (введение 0,9% NaCl). Установлено, что НЧ железа в УО, стабилизированные липосомами, избирательно накапливаются в дефектах СО мочевого пузыря. Таким образом, имеются экспериментальные основания полагать, что инстиллирование липосомальных наноконпозиций с ХП в МП после трансуретральных резекций может привести к улучшению эффективности внутрипузырной химиотерапии немезенхо-инвазивного рака МП.

Ключевые слова: наночастицы железа, рак мочевого пузыря, внутрипузырная химиотерапия.

Введение: в настоящее время одним из наиболее перспективных способов усиления воздействия на злокачественные опухоли химиопрепаратов является применение их в композиции с наночастицами различных металлов или их оксидов [1,2,3,4,5,6,7,8]. Усиление тумороцидности химиопрепаратов в этих случаях может быть обусловлено, во-первых, каталитическим эффектом наночастиц [9,10,11,12,13,14], а во-вторых, термическим воздействием на опухолевые клетки, возникающим при их перемагничивании [15,16,17,18,19,20]. С терапевтической целью наночастицы на основе оксидов железа инъецировали больным непосредственно в опухоль [21,22,23], в частности, головного мозга [21,24] и предстательной железы [25,26,27,28], а также вводили их с химиопрепаратами в питающие опухоль сосуды [29,30,31,32,33,34]. Введение наночастиц с химиопрепаратами внутрь (per os), внутривенно, подкожно, а также в брюшную полость пока изучается в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных [35,36,37,38,39,40,41,42,43,44].

По нашему мнению, одним из перспективных путей использования наноконпозиций с химиопрепаратами в онкологической практике могло бы быть их применение при адьювантной внутрипузырной химиотерапии немезенхо-инвазивного рака мочевого пузыря. Как известно, поверхностный немезенхо-инвазивный рак мочевого пузыря после трансуретральных резекций и профилактической внутрипузырной химиотерапии самыми различными современными препаратами рецидивирует в 30-80% случаев [45,46]. Очевидно, требуется поиск способов усиления их эффекта. Использование с этой целью композиций химиопрепаратов с наночастицами, прежде всего, на первом этапе требует изучения их фармакодинамики при инстилляциях в мочевой пузырь, содержащих дефекты слизистой оболочки, близкие или аналогичные тем, какие остаются после трансуретральных резекций мочевого пузыря (ТУР).

Цель работы: изучение распределения наночастиц в мочевом пузыре и других органах экспериментальных животных при интактной и поврежденной (эрозивной) слизистой оболочке, а также оценка токсических проявлений, местных (в мочевом пузыре) и общих, в ответ на внутрипузырные инстилляций композиций

наночастиц железа в углеродной оболочке с химиопрепаратами, обычно используемыми в онкоурологической практике для внутрипузырной химиотерапии - доксорубицином и митомидином.

Материал для исследования: в авторском коллективе лаборатории прикладного магнетизма Института Физики металлов УрО РАН [47,48] разработан оригинальный способ получения наноконпозиций с топологией "ядро-оболочка" (Me@C, где C- углеродная матрица), который не имеет аналогов. Основными достоинствами этого способа являются: возможность получения структурно-устойчивых и стабильных, в том числе к окислению, наночастиц металлов нужного размера; возможность регулирования состава и свойств наноконпозиций в широких пределах, обеспечение воспроизводимости свойств получаемых систем, а также относительную простоту синтеза. Средний размер частиц, включая углеродную оболочку, не превышает 10 нм. Наноконпозиции Fe@C готовили с раствором цитостатиков (Доксорубин-ЛЭНС в дозе 1 мг/мл, или Веро-митомидин в дозе 1 мг/мл) в присутствии фосфолипидного концентрата из растительного лецитина, содержащего 98% фосфатидилохолина, в ультразвуковом поле (20 кГц), которое также использовалось для стерилизации полученных образцов.

Лабораторные животные - белые крысы (самки) породы Вистар, массой 250-350г, 15 особей, были разделены на 3 группы: 1 контрольная (5 шт) и 2 опытные (по 5 шт). Всем крысам по катетеру в мочевой пузырь инстиллировались: в контрольной группе - 0,9% раствор хлористого натрия, в первой опытной группе - наночастицы железа в углероде с 0,1% раствором доксорубина, во второй опытной группе - наночастицы железа в углероде с 0,1% раствором митомидина. Эрозии слизистой мочевого пузыря лабораторных животных являлись непреднамеренным, но закономерным результатом травмы при катетеризации, которая фиксировалась почти в половине случаев. И результаты распределения наночастиц сравнивались у этих животных с теми, где травм удалось избежать.

Методика исследования: Исследуемые растворы вводили в мочевой пузырь каждой группе животных под неглубоким внутримышечным ксилосиновым наркозом по интравенозному катетеру 18G в объеме 0,5 мл, затем катетер удаляли и пережимали наружное отверстие уретры с целью удержания растворов в мочевом пузыре. Время экспозиции (удержания) растворов после каждой инстиляции составляло 1 минуту. При каждой инстиляции содержание наночастиц в исследуемых растворах составляло 1мг/1мл; при введении химиопрепаратов их концентрация составила для доксорубина - 0,1%, для митомидина - 0,1%.

Внутрипузырные инстилляций исследуемых растворов проводили ежедневно в утренние часы (с 10 до 11 часов) в течение 10 дней. При выполнении инстилляций растворов и непосредственно после их эвакуации из мочевого пузыря у всех лабораторных животных оценивали острую токсичность. Долгосрочную токсичность и фармакокинетику стабилизированных липосомами наночастиц железа и их композиций с химиопрепаратами (доксорубицином, митомидином) оценивали после проведения 10-ти дневного курса внутрипузырных инстилляций. В процессе курсового введения растворов наблюдали за поведением животных. При этом оценивали: активность питания, питья, чистки (груминг), шерстистый покров, двигательную активность, массу тела. После курса внутрипузырных инстилляций всех лабораторных животных декапитуировали, асептически удаляли мочевой пузырь, печень, селезенку, легкие, затем проводили их макроскопический осмотр и помещали в 10% раствор формалина. Далее изучали и сравнивали макро- и микроструктуру мочевого пузыря и определяли магнитные свойства

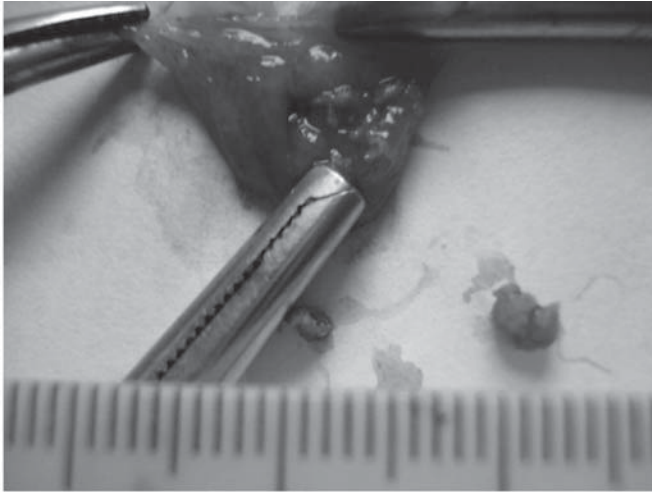


Рис. 1. Макроскопическая картина мочевого пузыря крысы первой опытной группы. В полости мочевого пузыря конкременты (фигурная стрелка), слизистая в месте их прилегания эрозирована и имеет «черную» окраску (наночастицы) (стрелка).

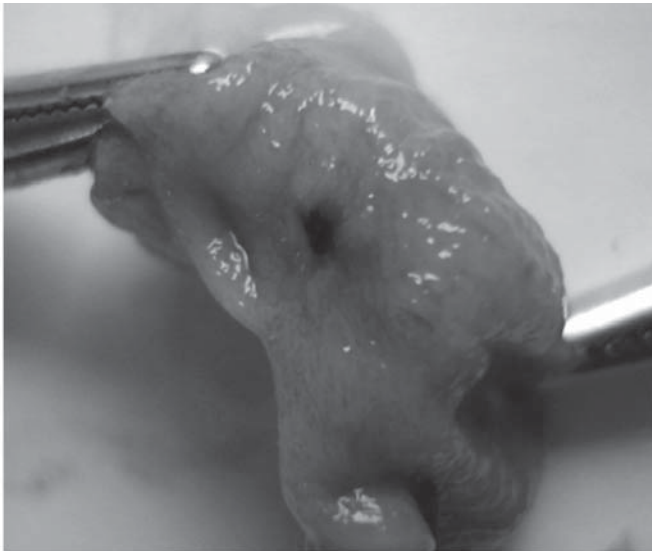


Рис. 2. Макроскопический вид мочевого пузыря крысы из первой опытной группы с поверхностной эрозией по задней стенке на фоне не измененной окружающей слизистой. Черная окраска слизистой оболочки соответствует участку накопления наночастиц (стрелки).

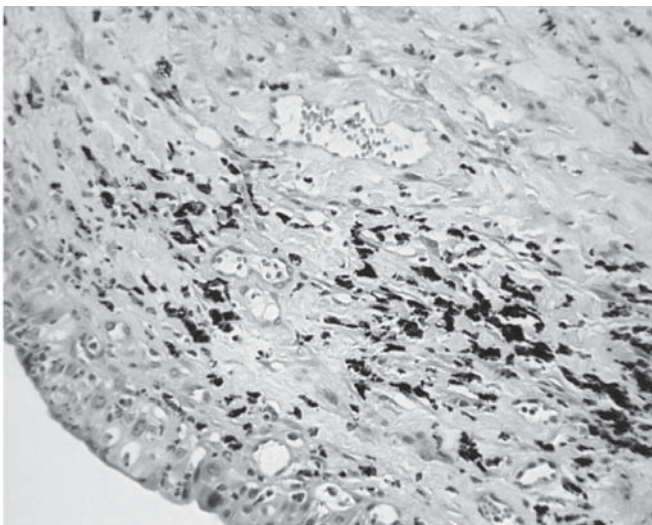


Рис. 3. Микроскопическая картина мочевого пузыря крысы из первой опытной группы. Скопление наночастиц в подслизистом слое (черные гранулы).



Рис. 4. Мочевой пузырь крысы из второй опытной группы. В стенке отчетливо прослеживаются 2 «черные» полосы 2x4 и 5x7мм (стрелки).

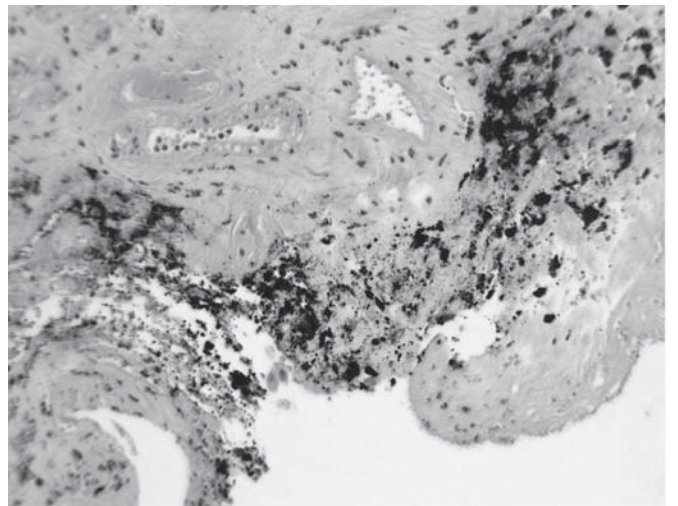


Рис. 5. Микроскопическая картина мочевого пузыря крысы из второй опытной группы с наличием эрозированных участков слизистой и подслизистого слоя.

биологических проб тканей ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка), легких и мочевого пузыря.

Влияние и закономерности распределения стабилизированных липосомами наночастиц железа в стенке мочевого пузыря лабораторных животных изучали методом световой оптической микроскопии гистологических срезов, окрашенных гематоксилином-эозином. Фармакокинетику и распределение в организме наночастиц железа покрытых углеродом изучали методом магнитометрии с помощью весов Фарадея.

Результаты. Время наблюдения за животными составило 10 дней. В контрольной группе после 10-ти дневного курса внутрипузырных инстилляций физиологического раствора 0,9% NaCl у четырех из пяти крыс состояние стенки мочевого пузыря и слизистой оболочки было практически одинаковым: макроскопических изменений в мочевом пузыре и внутренних органах не выявлено. Эрозии слизистой оболочки, как следствие травмы при катетеризации, обнаружены у одной крысы. Эрозии представляли собой дезэпителизованные участки слизистой по задней стенке мочевого пузыря размером 2-3мм, глубиной до подслизистого слоя, покрытые фибринозным налётом.

При исследовании мочевых пузырей и внутренних органов животных первой опытной группы, получавших инстилляцию стабилизированных липосомами наночастиц железа с углеродным покрытием в композиции с 0,1% раствором доксорубина, у двух крыс макроскопических изменений в мочевом пузыре не выявлено. Микроскопически включений наночастиц в слоях и в клетках мочевого пузыря не обнаружено. В подслизистом слое выявлено полнокровие сосудов микроциркуляторного русла с образованием сладж-комплексов, периваскулярные лимфоидные инфильтраты.

У двух крыс первой опытной группы макроскопически в поло-

Таблица 1.

Результаты магнитометрических исследований органов и тканей лабораторных животных в исследуемых группах.

Группа (крысы)	образцы органов				
	легкие	печень	селезенка	мочевой пузырь (участки)	
				темный	светлый
Контрольная группа: физраствор 0,9% NaCl					
1,2,3,4, 5	п	п	п	п	п
Первая опытная группа: Fe@C + доксорубин 0,1%					
1	п	п	п	п	п
2	п	п	п	у	п
3	п	п	п	у	п
4	п	п	п	у	п
5	п	п	п	п	п
Вторая опытная группа: Fe@C + митомицин 0,1%					
1	п	п	п	п	п
2	у	п	п	у	п
3	у	п	п	п	п
4	п	п	п	п	п
5	у	у	у	у	п

Примечания: п не обнаружено у обнаружено

сти мочевого пузыря были обнаружены конкременты диаметром 1–3мм, желтого цвета с острыми режущими краями (рис. 1). В местах прилегания конкрементов по задней стенке и в шейке мочевого пузыря отмечены глубокие эрозивно-язвенные дефекты слизистой, с налётом чёрного цвета, усиление сосудистого рисунка слизистой, отек и утолщение окружающей стенки мочевого пузыря до 3-4мм. При магнитометрии в мочевых пузырях у обеих крыс установлено накопление наночастиц.

Микроскопически в мочевом пузыре обнаружены эрозивно-язвенные дефекты слизистой, местами до серозной оболочки органа. В зоне некрозов отмечалась перифокально-диффузная лейкоцитарная инфильтрация, в некоторых участках – мицелий грибов. Ближе к серозной оболочке в рыхлой соединительной ткани определялись гранулы наночастиц черно-коричневого цвета, локализованные внеклеточно.

Ещё у одной крысы из первой опытной группы в проекции поверхностной эрозии слизистой по задней стенке мочевого пузыря, при неизменной окружающей слизистой, были обнаружены участки с налётом чёрного цвета около 2-3 мм в диаметре (рис. 2). В остальных органах видимых изменений не зафиксировано. При магнитометрии в мочевом пузыре определялись наночастицы.

Микроскопически (рис. 3) в подслизистом слое мочевого пузыря и в базальных отделах слизистой определяются скопления наночастиц (гранул) черного цвета. В слизистой очаговая деструкция эпителия. В слизистой и подслизистом слое наблюдается диффузная лейкоцитарная инфильтрация (воспалительная реакция).

Во второй опытной группе после инстилляций стабилизированных липосомами наночастиц железа с углеродным покрытием в композиции с 0,1% раствором митомицина у одной крысы в стенке мочевого пузыря обнаружен эрозивно-язвенный дефект слизистой диаметром 2-3 мм с чёрными включениями. При микроскопическом исследовании в стенке мочевого пузыря отек, участки кровоизлияния в слизистой оболочке и очаговая деструкция клеток переходного эпителия. В подслизистом слое определяются включения гранул черного цвета (наночастиц).

У 2-х крыс из второй опытной группы на слизистой мочевого пузыря макроскопически определялись чёрные полосы. У одной из них им соответствовали макроскопически определяемые эрозированные участки слизистой размерами 2x4 и 2x7мм (рис 4). При магнитометрии у обеих крыс наночастицы обнаружены в мочевом пузыре и в лёгких, а у второй крысы - ещё в печени и селезенке.

При микроскопии в очагах эрозий, дно которых покрыто фибриновым налётом, видны скопления наночастиц черного цвета (рис. 5). В стенках мочевых пузырей видны: в одном - около эрозий - отёк и кровоизлияния, в другом - отсутствие перифокальной реакции.

У 2-х крыс из этой же группы макроскопических изменений мочевого пузыря и других органов не выявлено, но у одной из них при магнитометрии в лёгких зафиксировано накопление наночастиц. Микроскопически структура слизистой оболочки и подсли-

зистого слоя оказались аналогичными тем, что наблюдались у животных контрольной группы.

Магнитометрические исследования органов и тканей лабораторных животных представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, наиболее часто наночастицы обнаруживались в «темных» участках мочевого пузыря, которые при макроскопическом исследовании имели черную окраску. В светлых участках мочевого пузыря наночастиц не зафиксировано. У трех крыс второй опытной группы отмечена фиксация наночастиц в тканях легких, а у одной из них в печени и селезенке.

Следовательно, после внутрипузырного введения метод магнитометрии позволил зафиксировать накопление наночастиц в стенке мочевого пузыря, преимущественно в участках, окрашенных «темным» цветом, а в некоторых случаях в тканях легких и в органах ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка).

Обсуждение полученных результатов. Общей и местной (в мочевом пузыре) токсичности в 2-х опытных группах животных, которым инстиллировали композиты стабилизированных липосомами наночастиц железа в углеродной оболочке с противоопухолевыми химиопрепаратами не установлено.

Повреждения слизистой оболочки мочевого пузыря, приведшие к развитию эрозий, имели место и в опытных группах и в контроле. В первой опытной группе (с введением композитов с 0,1% раствором доксорубина) эрозии в 2-х случаях из 5-ти сочетались с конкрементами мочевого пузыря. Конкременты могли явиться результатом эрозии, а возможно и наоборот - травма ими могла спровоцировать эрозию.

В обеих опытных группах наночастицы накапливались исключительно в местах повреждения слизистой мочевого пузыря. С неповрежденной слизистой они смывались мочой. Через неповрежденную слизистую мочевого пузыря экстравезикации наночастиц (поступления с кровью в другие органы) не наблюдалось. Один случай обнаружения наночастиц в лёгком при макроскопически неповрежденной слизистой мочевого пузыря может объясняться неустоявшимся повреждением слизистой уретры.

Обнаруженные скопления наночастиц в лёгких и печени представляют собой ультрамикроскопические эмболы, не вызвавшие каких-либо отклонений в состоянии животных. В литературе тоже не описано каких либо отклонений со стороны этих органов при инъецировании нанокомпозитов интратуморально (например, в опухоли мозга) (13,23).

Заключение. Установлено, что наночастицы железа в углеродной оболочке, стабилизированные липосомами, избирательно накапливаются в дефектах слизистой оболочки мочевого пузыря. Таким образом, имеются экспериментальные основания полагать, что инстиллирование липосомальных нанокомпозитов с химиопрепаратами в мочевой пузырь после трансуретральных резекций может привести к улучшению эффективности внутрипузырной химиотерапии немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря.

ЛИТЕРАТУРА:

- Jing H., Wang J., Yang P., et al. Magnetic Fe O nanoparticles and chemotherapy agents interact synergistically to induce apoptosis in lymphoma cells. *Int J Nanomedicine*. 2010 Nov 19;5:999-1004.
- Lbbe A.S., Alexiou C., Bergemann C. Clinical applications of magnetic drug targeting. *J Surg Res*. 2001 Feb;95(2):200-6.
- Alexiou Ch., Arnold W., Roswitha J. Klein, et al. Locoregional Cancer Treatment with Magnetic Drug Targeting. *Cancer Research* 60, 2000, pp. 6641–6648.
- Gupta P. K., Hung C. T. Magnetically controlled targeted chemotherapy. In: N. Willmott and J. Daly (eds.), *Microspheres and Regional Cancer Therapy*, pp. 71–116. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc., 1993.
- Lubbe A. S., Bergemann C., Riess H., et al. Clinical experiences with magnetic drug targeting: a Phase I study with 49-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors. *Cancer Res.*, 56: 4686–4693, 1996.
- Alexiou Ch., Roland J., Christian S., et al. Delivery of Superparamagnetic Nanoparticles for Local Chemotherapy after Intraarterial Infusion and Magnetic Drug Targeting. *Anticancer Research* 27: 2019-2022 (2007).
- Alexiou Ch., Jurgons R., Schmid R.J., et al. In vitro and in vivo investigations of targeted chemotherapy with magnetic.
- Kohler N., Sun C., Wang J., et al. Methotrexatmodified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells. *Langmuir* 21:8858-8864, 2005.
- Zhang R., Wang X., Wu C., et al. Synergistic enhancement effect of magnetic nanoparticles on anticancer drug accumulation in cancer cells. *Nanotechnology*. 2006 Jul 28;17(14):3622-6. Epub 2006 Jun 26.
- D. Brown S., Nativo P., Smith Jo-Ann, et al. Gold Nanoparticles

for the Improved Anticancer Drug Delivery of the Active Component of Oxaliplatin. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132 (13), pp 4678–4684.

11. Bhattacharya R., Mukherjee P. Biological properties of "naked" metal nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008 Aug 17;60(11):1289–306. Epub 2008 Apr 10.

12. Turner M., et al. *Nature* 454, 981–983 (2008).

13. Novo C., Funston A. M., Mulvaney P. *Nature Nanotech.* 3, 598–602 (2008).

14. Nolte P., et al. *Science* 321, 1654–1658 (2008).

15. Сергеев Г.Б. *Нанохимия*. – М.: Изд-во МГУ, 2003. 287с.

16. A. Ye. Yermakov, T.A. Feduschak, V.S. Sedoi, et al. *JMMM* 272-276 (2004) p.2445.

17. E. S. Lokteva, S. A. Kachevskii, A. O. Turakulova, et al. The Hydrodechlorination of Chlorobenzene in the Vapor Phase in the Presence of Metal–Carbon Nanocomposites Based on Nickel, Palladium, and Iron. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2009, Vol. 83, No. 8, pp. 1300–1306.

18. Widder K. J., Morris R. M., Poore G. A., et al. Selective targeting of magnetic albumin microspheres containing-dose doxorubicin: total remission in Yoshida sarcoma-bearing rats. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 19: 135–139, 1983.

19. Jordan A., Scholz R., Wust P., et al. Effects of magnetic fluid hyperthermia (MFH) on C3H mammary carcinoma in vivo. *Int. J. Hyperthermia*, 13: 587–605, 1997.

20. Sperling R. A., Parak W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. *Phil. Trans. R. Soc. A* 2010 368, 1333–1383.

21. Jordan A., Scholz R., Maier-Hauff K., et al (2001) Presentation of a new magnetic eld therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic uid hyperthermia. *J Magn Mater* 225(1):118–126.

22. Jordan A., Maier-Hauff K., Wust P., et al. Nanoparticles for chemotherapy. In: Kumar CSSR, editor. *Nanomaterials for cancer therapy*. Weinheim: Wiley-VCH; 2006. pp 242–258.

23. Wust P., Gneveckow U., Johannsen M., et al. Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy – feasibility, tolerance and achieved temperatures. *Int J Hyperthermia* 2006;22(8):673–85.

24. Maier-Hauff K., Rothe R., Scholz R., et al. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: Results of feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2007; 81(1): 53–60. Ref. on line 320.

25. Johannsen M., Neveckow U. G., Taymoorian K., et al. Morbidity and quality of life during thermotherapy using magneticnanoparticles in locally recurrent prostate cancer: Results of a prospective phase I trial. *Int. J. Hyperthermia*, May 2007; 23(3): 315–323.

26. Master V.A., Shinohara K., Carroll P.R. Ferromagnetic thermal ablation of locally recurrent prostate cancer: Prostate specific antigen results and immediate/intermediate morbidities. *J Urol* 2004;172:2197–2202.

27. Johannsen M., Gneveckow U., Eckelt L., et al. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique. *Int J Hyperthermia* 2005;21(7): 637–47.

28. Johannsen M., Gneveckow U., Thiesen B., et al. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution. *Eur Urol* 2007;52(6):1653–62.

29. Pankhurst Q. A., et al. Applications of Magnetic Nanoparticles in Biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics* 36 (2003): R167-81.

30. Kubo T., Sugita T., Shimose S., et al. Targeted delivery of anticancer drugs with intravenously administered magnetic liposomes in osteosarcoma-bearing hamsters. *Int J Oncol* 17: 309-315, 2000.

31. van Rijswijk C.S., Geirnaerd M.J.A., Hogendoorn P.C.W., et al. (2003) Dynamic contrast-enhanced MR imaging in monitoring response to isolated limb perfusion in high-grade soft tissue sarcoma: initial results. *Eur Radiol* 13(8):1849–1858.

32. Alexiou Ch., Jurgons R., Schmid R.J., et al. Magnetic drug targetingbiodistribution of the magnetic carrier and the chemotherapeutic agent mitoxantrone after locoregional cancer treatment. *J Drug Targeting* 11: 139-149, 2003.

33. Koda J., Venook A., Walser E., et al. Phase I/II trial of hepatic intraarterial delivery of doxorubicin adsorbed to magnetic targeted carriers in patient with hepatocarcinoma. *Eur J Cancer*. 2002;38(Suppl):S18.

34. Wilson M.W., Kerlan R.K. Jr., Fidelman N.A., et al. Hepatocellular carcinoma: regional therapy with a magnetic targeted carrier bound to doxorubicin in a dual MR imaging/ conventional angiography suite-initial experience with four patients. *Radiology*. 2004 Jan;230(1):287-93.

35. Bao-an Chen, Bin-bin Lai, Jian Cheng. Daunorubicin-loaded magnetic nanoparticles of Fe3O4 overcome multidrug resistance and induce

apoptosis of K562-n/VCR cells in vivo. *Int J Nanomedicine*. 2009; 4: 201–208.

36. Liang X.J., Meng H., Wang Y., et al. Metallofullerene nanoparticles circumvent tumor resistance to cisplatin by reactivating endocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Apr 20;107(16):7449-54. Epub 2010 Apr 5.

37. Sonoda A., Nitta N., Nitta-Seko A., et al. Complex comprised of dextran magnetite and conjugated cisplatin exhibiting selective hyperthermic and controlled-release potential. *Int J Nanomedicine*. 2010 Aug 9;5:499-504.

38. Maeng J.H., Lee D.H., Jung K.H., et al. Multifunctional doxorubicin loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for chemotherapy and magnetic resonance imaging in liver cancer. *Biomaterials*. 2010 Jun;31(18):4995-5006. Epub 2010 Mar 26.

39. Katsnelson B.A., Degtyareva T.D., Minigalieva I.I., et al. Subchronic systemic toxicity and bioaccumulation of Fe3O4 nano- and microparticles following repeated intraperitoneal administration to rats. *Int J Toxicol*. 2011 Feb;30(1):59-68.

40. Lasagna-Reeves C., Gonzalez-Romero D., Barria M.A. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar 19;393(4):649-55. Epub 2010 Feb 12.

41. Chen Y.S., Hung Y.C., Liao I., et al. In Vivo Toxicity of Gold Nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2009 May 8;4(8):858-864.

42. Weiwei Wu, Baoan Chen, Jian Cheng, et al. Biocompatibility of Fe3O4/DNR magnetic nanoparticles in the treatment of hematologic malignancies. *Int J Nanomedicine*. 2010; 5: 1079–1084.

43. Cherie P. Parungo, David I. Soybel, Yolonda L. Colson. Lymphatic Drainage of the Peritoneal Space: A Pattern Dependent on Bowel Lymphatics. *Ann Surg Oncol*. 2007 February; 14(2): 286–298.

44. Zhang X.D., Wu H.Y., Wu D., et al. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int J Nanomedicine*. 2010 Oct 5;5:771-81.

45. Lamm D.L. et al. *Semin urology*. – 1992. – Vol. 10. – P. 39 – 44.

46. Oosterlink W., van der Meijden, Sylvester R., et al. Guidelines on TaT1 (non-muscle invasive) bladder cancer. – European Association of Urology Guidelines Arnhem (The Netherlands): European Association of Urology. – 2006. – P. 1 – 17.

47. С.А. Антипов, Г.Ц. Данбаев, А.Е. Ермаков с соавт. Наноразмерные пироуглеродные порошки железа как биоферромагнетики. *Вестник новых медицинских технологий – 2009 – Т. XVI, №2 – с. 139.*

48. А.Е. Ермаков, М.А. Уймин, Е.С. Локтева с соавт. Синтез, структура и свойства углеродсодержащих нанокомпозитов на основе никеля, палладия и железа. *Журнал физической химии*, 200, том №7, с.1-8.

Berzin S.A., Zamyatin A.V., Byzov I.V.,

Uimin M.A., Yermakov A.Ye., Yushkov B.G.,

Medvedeva S.Yu., Tyumentseva N.V.

PHARMACOKINETICS OF IRON NANOPARTICLES COMPOSITES WITH ANTICANCER CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS USED FOR INSTILLATION INTO THE BLADDER OF LABORATORY ANIMALS

Abstract. The aim of our work was to study of distribution of iron nanoparticles (NP) in the urinary bladder and other organs of rats with intact and damaged bladder mucosa, as well as assessment of toxic effects, local (in the bladder) and general, that have occurred in response to intravesical instillation of iron NP composites with chemotherapeutic agents, usually used in oncurological practice for intravesical chemotherapy - doxorubicin and mitomycin. Toxic effects, general and local (in the urinary bladder), were not established. Extravesical distribution of NP through the intact mucosa of the bladder (spreading through the bloodstream to other organs) was not observed. NP were accumulated exclusively in the areas of damage of the bladder mucosa. NP will accumulate selectively in the defects. Thus, there is experimental evidence that liposomal nanocomposites with chemotherapy in the bladder may improve the efficiency of intravesical chemotherapy nonmuscle-invasive bladder cancer after transurethral resection.

Key words: iron nanoparticles, bladder cancer, intravesical chemotherapy.

Авторская справка

Берзин Сергей Александрович, e-mail: berzin@r66.ru
Уральская государственная медицинская академия, кафедра онкологии и
медицинской радиологии, Россия, г. Екатеринбург

Замятин Александр Викторович, e-mail: zamyatin.av@gmail.com
Уральская государственная медицинская академия, кафедра онкологии и
медицинской радиологии, Россия, г. Екатеринбург; Свердловский областной
онкологический диспансер, Россия, г. Екатеринбург

Бызов Илья Владимирович, e-mail: ivbisov@rambler.ru
Институт физики металлов Уральского Отделения Российской Академии Наук,
Россия, г. Екатеринбург

Уимин Михаил Александрович, e-mail: physics@imp.uran.ru
Институт физики металлов Уральского Отделения Российской Академии Наук,
Россия, г. Екатеринбург

Ермаков Анатолий Егорович, e-mail: yermakov@imp.uran.ru
Институт физики металлов Уральского Отделения Российской Академии Наук,
Россия, г. Екатеринбург

Юшков Борис Германович, e-mail: iip@iip.uran.ru;
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Россия, г. Екатеринбург

Медведева Светлана Юрьевна, e-mail: iip@iip.uran.ru;
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Россия, г. Екатеринбург

Тюменцева Наталья Валерьевна, e-mail: iip@iip.uran.ru
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Россия, г. Екатеринбург

Адрес: Россия, 620100, г. Екатеринбург, ул. Восточная 164-21;
e-mail: zamyatin.av@gmail.com

Authors
Berzin Sergei A., e-mail: berzin@r66.ru

Ural State Medical Academy, Department of Oncology and Medical Radiology, Russia,
Yekaterinburg

Zamyatin Alexander V., e-mail: zamyatin.av@gmail.com
Ural State Medical Academy, Department of Oncology and Medical Radiology, Russia,
Yekaterinburg; Sverdlovsk Regional Oncological Dispensary, Russia, Yekaterinburg

Byzov Ilya V., e-mail: ivbisov@rambler.ru
Institute of Metal Physics Ural Department of Russian Academy of Sciences, Russia,
Yekaterinburg

Uimin Michail A., e-mail: physics@imp.uran.ru
Institute of Metal Physics Ural Department of Russian Academy of Sciences, Russia,
Yekaterinburg

Yermakov Anatolii Y., e-mail: yermakov@imp.uran.ru
Institute of Metal Physics Ural Department of Russian Academy of Sciences, Russia,
Yekaterinburg

Yushkov Boris G., e-mail: iip@iip.uran.ru;
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences,
Russia, Yekaterinburg

Medvedeva Svetlana Yu., e-mail: iip@iip.uran.ru;
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences,
Russia, Yekaterinburg

Tyumentseva Natalia V., e-mail: iip@iip.uran.ru
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences,
Russia, Yekaterinburg

Address:
Russia, 620100, Yekaterinburg, Vostochnaya 164-21
e-mail: zamyatin.av@gmail.com

УДК 616-003.93:613.648.4

Гребнев Д.Ю., Ястребов А.П., Маклакова И.Ю.

О ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ МИЕЛОИДНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ВВЕДЕНИЯ АРГИНИНА

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия;

ГУЗ Институт медицинских клеточных технологий г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В данном исследовании изучались механизмы влияния аргинина на процессы восстановления кроветворения после воздействия ионизирующего излучения в условиях возрастной инволюции. Получено, что у зрелых лабораторных животных в физиологических условиях при введении аргинина в дозе 4,2 мг/кг. наблюдается увеличение содержания миелоцитов и эритробластов, а в условиях воздействия ионизирующего излучения – миелобластов, миелоцитов и полихроматофильных нормобластов. В то же время у старых животных в физиологических условиях после введения аргинина отмечено увеличение содержания промиелоцитов, эритробластов, полихроматофильных нормобластов и общего содержания эритроидных элементов, а у облученных животных активируется апоптоз.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, миелоидная ткань, аргинин, старение, пролиферация.

В основе восстановления системы кроветворения после воздействия повреждающего фактора лежит активация коммитированных клеток предшественников гемопоэза, а также гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Быстрый ответ со стороны миелоидной ткани на запрос организма реализуется за счет активации коммитированных предшественников, которые обладают высокой пролиферативной активностью и подчиняются дальноранговой регуляции. Основной механизм, регулирующий жизнедеятельность ГСК – система кроветворного микроокружения.

На сегодняшний день актуальной остается задача поиска факторов, способных усилить восстановление кроветворения в условиях лучевого повреждения, особенно в условиях возрастной инволюции. Следует отметить, что стволовые клетки костного мозга являются весьма радиочувствительными ($D_0 = 1$ Гр) [3, 8, 10]. В условиях выраженного гемопоэтического стресса, например, по-

сле облучения темп пролиферации ГСК резко возрастает [2, 5, 9]. При этом, восстановление кроветворения происходит, прежде всего, за счет самоподдержания численности ГСК, активации их пролиферативной активности, последующего выхода за пределы «ниши» и вступления на путь дифференциации. Также было установлено, что повышение пролиферативной активности ГСК *in vivo* является NO-зависимым процессом. В биосистемах аргинин играет важную роль в синтезе ряда анаболических гормонов, полиаминов и окиси азота. Доказано, что аргинин повышает адаптивные возможности организма при хроническом действии малых доз ионизирующего излучения [1]. Известно, что при старении происходит не только уменьшение численности, но и качественные изменения в ГСК, определяющие уменьшение их пролиферативного потенциала [4, 6, 7, 11]. В связи с этим, представляется перспективным изучить механизмы влияния аргинина на процессы восстановления кроветворения после воздействия ионизирующего излучения в условиях возрастной инволюции.

Материалы и методы.

Эксперименты выполнены на 72 белых лабораторных мышках самца линии СВА, возраста 5 месяцев, массой 30 г. и 72 мышках возраста 18 мес., массой 60 г.

Лабораторные животные были разделены на четыре группы (таблица 1). Аргинин вводился через 1 час после воздействия экстремально фактора. Забой лабораторных животных производился на 1-е и 7-е сутки после облучения (таблица 1).

Цитологические препараты костного мозга и периферической крови анализировались с помощью микроскопа Micros MC - 50 (Австрия) при увеличении 100*15. Для каждого ряда значений показателя вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку среднего. Достоверность отличий оценивали с помощью *t* – кри-

Распределение животных по сериям экспериментов

	Доза ИИ	Фактор	Путь введения	Доза препарата	Время проведения аутопсии органов	
					24 часа	7 сутки
зрелые	0 Гр	Аргинин	Per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
		NaCl 0,5 мл	Per os	0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
	4,0 Гр	Аргинин	Per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
		NaCl 0,5 мл	Per os	0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
старые	0 Гр	Аргинин	Per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
		NaCl 0,5 мл	Per os	0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
	4,0 Гр	Аргинин	Per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.
		NaCl 0,5 мл	Per os	0,4 мл физ. раствора	9 шт.	9 шт.

Таблица 2

Содержание клеток костного мозга лабораторных мышей на 7 сутки введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток (млн. кл/бедра)	
		Зрелые	Старые
Миелокарициты (общее число)		13,17 ± 1,17	10,28 ± 0,75
Нейтрофильные клетки	миелобласты	0,24 ± 0,05	0,13 ± 0,02
	промиелоциты	0,20 ± 0,05	0,13 ± 0,02
	миелоциты	0,34 ± 0,07	0,14 ± 0,02
	метамиелоциты	0,57 ± 0,05	0,30 ± 0,03
	палочкоядерные и сегментоядерные	5,46 ± 0,52	4,73 ± 0,57
Эозинофилы (всех генераций)		0,20 ± 0,05	0,12 ± 0,02
Все гранулоцитарные элементы		7,00 ± 0,49	5,55 ± 0,53
Эритробласты		0,048 ± 0,01 *	0,06 ± 0,01 °
Нормобласты	базофильные	0,58 ± 0,06	0,32 ± 0,03
	полихроматофильные	1,61 ± 0,05	1,06 ± 0,16 °
	оксифильные	0,07 ± 0,02	0,02 ± 0,006
Все эритроидные элементы		2,31 ± 0,06	1,46 ± 0,19 °
Лимфоциты		3,56 ± 0,48	2,92 ± 0,32
Прочие		0,34 ± 0,04	0,29 ± 0,05
Индекс созревания нейтрофилов		0,25 ± 0,03	0,15 ± 0,02
Индекс созревания эритронобластов		0,73 ± 0,02	0,74 ± 0,02
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		3,02 ± 0,18	3,92 ± 0,74

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 3

Показатели периферической крови лабораторных мышей на 7 сутки введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

	Ретикулоциты (Г/л)	Лейкоциты (общее содержание)	Гранулоциты (Г/л)	Лимфоциты (Г/л)	Моноциты (Г/л)
зрелые	151 ± 12,33	12,60 ± 0,73	3,02 ± 0,38	8,72 ± 0,66	0,44 ± 0,04
старые	125 ± 9,44 °	8,32 ± 0,81	2,28 ± 0,05	5,93 ± 0,40	0,27 ± 0,05

Примечание: ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

тест Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты.

При анализе миелограммы и данных периферической крови зрелых и старых лабораторных животных на 1 сутки в физиологических условиях и после воздействия ионизирующего излучения в дозе 4,0 Гр на фоне введения аргинина не выявлено существенных различий по сравнению с контрольной подгруппой.

При анализе миелограммы зрелых лабораторных животных на 7 сутки введения аргинина в гранулоцитарном диффероне отмечено увеличение содержания миелоцитов (0,34 ± 0,07, $p < 0,05$), в эритроидном ростке выявлено существенное увеличение эритробластов на 39 %. В периферической крови содержание изучаемых показателей существенно не отличалось от контроля. В то же время у старых лабораторных животных при анализе миелограммы выявлено увеличение содержания промиелоцитов на 43,4 %, эритробластов, полихроматофильных нормобластов на 54,6 % и 28,5 % соответственно. Указанные изменения привели к увеличению

Таблица 4

Содержание клеток костного мозга лабораторных мышей на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 4 Гр на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток (млн. кл/бедра)	
		Зрелые	Старые
Миелокарициты (общее число)		9,87 ± 0,86 *	7,38 ± 0,65 °
Нейтрофильные клетки	миелобласты	0,25 ± 0,03 **	0,11 ± 0,03
	промиелоциты	0,12 ± 0,02 *	0,13 ± 0,02 °
	миелоциты	0,23 ± 0,03 **	0,16 ± 0,03 °
	метамиелоциты	0,45 ± 0,04 *	0,22 ± 0,02
	палочкоядерные и сегментоядерные	3,97 ± 0,31 *	3,70 ± 0,37 °
Эозинофилы (всех генераций)		0,17 ± 0,04	0,10 ± 0,01
Все гранулоцитарные элементы		5,18 ± 0,28 *	4,42 ± 0,36
Эритробласты		0,02 ± 0,005 *	0,04 ± 0,004 °
Нормобласты	базофильные	0,35 ± 0,05 *	0,28 ± 0,03 °
	полихроматофильные	1,31 ± 0,07 **	0,77 ± 0,06 °
	оксифильные	0,06 ± 0,04	0,02 ± 0,01
Все эритроидные элементы		1,74 ± 0,06	1,11 ± 0,06 °
Лимфоциты		2,32 ± 0,39	0,03 ± 0,23 °
Прочие		0,28 ± 0,04	0,20 ± 0,02
Индекс созревания нейтрофилов		0,27 ± 0,03	0,17 ± 0,02
Индекс созревания эритронобластов		0,79 ± 0,02	0,71 ± 0,03
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		0,98 ± 0,16	4,01 ± 0,35

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ** отличие от подгруппы зрелых животных после воздействия ИИ (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; °° отличие от подгруппы старых животных после воздействия ИИ (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 5

Показатели периферической крови лабораторных мышей на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 4 Гр на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

	Ретикулоциты (Г/л)	Лейкоциты (общее содержание)	Гранулоциты (Г/л)	Лимфоциты (Г/л)	Моноциты (Г/л)
зрелые	109,67 ± 9,11 *	8,33 ± 0,93 *	2,13 ± 0,54	6,23 ± 0,66	0,40 ± 0,03
старые	112 ± 10,56 °	7,02 ± 0,36 °	2,15 ± 0,30	4,97 ± 0,37 °	0,22 ± 0,03

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; °° отличие от подгруппы старых животных после воздействия ИИ (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$.

общего содержания эритроидных элементов на 26,7 % по сравнению с контролем (таблица 2). В периферической крови старых лабораторных животных на 7 сутки введения аргинина выявлено существенное увеличение содержания ретикулоцитов (125,67 ± 9,44, $p < 0,05$ (таблица 3)).

При анализе миелограммы зрелых лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ионизирующего излучения на фоне введения аргинина в гранулоцитарном ростке установлено увеличение содержания миелобластов (0,25 ± 0,03, $p < 0,05$), миелоцитов (0,23 ± 0,03, $p < 0,05$). В эритроидном ростке отмечено увеличение содержания полихроматофильных нормобластов на 24,7 %. В то же

время, у старых лабораторных животных выявлено сниженное содержание миелокариоцитов в бедренной кости на 33,27 % по сравнению с необлученными лабораторными животными. Отмечено также увеличение содержания пролиферирующих элементов эритроидного ростка: эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов по сравнению с контрольной подгруппой. Указанные изменения привели к общему увеличению содержания эритроидных элементов, что свидетельствует об активации эритропоэза у старых лабораторных животных на фоне введения аргинина. Обращает на себя внимание значимое увеличение содержания гранулоцитарных элементов старых лабораторных животных: промиелоцитов и миелоцитов соответственно на 47,17 % и 22,08 % по сравнению с контрольной подгруппой (таблица 4).

При анализе данных периферической крови зрелых животных следует отметить, что содержание изучаемых показателей не отличалось от аналогичных показателей в контрольной подгруппе, тогда как у старых животных выявлено достоверное увеличение содержания ретикулоцитов (таблица 5).

Таким образом, у зрелых лабораторных животных на фоне введения аргинина установлены изменения в эритроидном и гранулоцитарном диффероне. В физиологических условиях наблюдается увеличение содержания миелоцитов и эритробластов, а в условиях воздействия ионизирующего излучения – миелобластов, миелоцитов и полихроматофильных нормобластов. В то же время у старых животных в физиологических условиях отмечено увеличение содержания промиелоцитов, эритробластов, полихроматофильных нормобластов и общее содержание эритроидных элементов, а введение аргинина активирует эритропоэз облученных животных.

Список литературы:

1. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Квакина Е.Б., Уколова М.А. // Ростов н/Д, изво РГУ. 2000.
2. Квачева Ю.Е. Апоптотическая гибель клеток костного мозга в восстановительном периоде острой лучевой болезни и ее роль в патогенезе гематологического синдрома / Ю.Е. Квачева // Мед. радиол. и радиац. безопасность. - 2002. - Т. 47, № 5. - С. 17 – 22.
3. Квачева Ю.Е. Морфологические типы радиационно-индуцированной гибели клеток кроветворной ткани, ее биологическая суть и значимость на различных этапах развития острого радиационного поражения / Ю.Е. Квачева // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2002. - Т.42, №10. - С. 287-292.
4. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей / А.А. Кишкун // М., 2008. – 976 с.
5. Мазурик В.К. Молекулярные механизмы главных радиобиологических последствий эффекта ионизирующей радиации на млекопитающих / В.К. Мазурик, В.Ф. Михайлов // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2001. - Т.4, №1. - С. 89-96.
6. Потапенко А.И. На пути поиска программы и инициального субстрата старения / А.П. Потапенко, Акифьев А.П. // Медлайн РУ. - 2003. - Т. 4. - С. 103-107.

7. Халявкин А.В. Средовая и генетическая модификация картины старения. Границы пластичности / А.В. Халявкин, Яшин А.И. // Пробл. старения и долголетия. - 2003. - Т. 12. - № 4. - С. 417-425.

8. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных / С.П. Ярмоненко, А.А. Вайнсон; под ред. С.П. Ярмоненко. – М.: Высш. шк. – 2004. – 549с.

9. Bettega D. Solar UV radiation: differential effectiveness of UVB components in causing cell death, micronucleus induction and delayed expression of heritable damage in human hybrid cells / D. Bettega, P. Calzolari, F. Belloni // Int. J. Radiat. Biol. - 2001. – Vol.77. - P. 963 – 970.

10. Dewey W.C. Radiation – induced apoptosis: relevance to radiotherapy / W.C. Dewey, C.C. Ling, R. Meyn // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. – 1995. – Vol.33. – P. 781 – 796.

11. Eto N. Eluctuation of the fibrosis markers with aging / N. Eto, Yoshino J., Inui K. // Nippon Ronen Igakkai Zasshi. – 2002. – Vol. 39. – N 2. – P. 176-180.

Grebnev D.J., Jastrebov A.P., Maklakova I.J. **THE POSSIBILITY TO CORRECT TISSUE REGENERATION AFTER IONIZING RADIATION**

Abstract. In the following research the mechanisms of arginine influence on the processes of hematosis regeneration after ionizing radiation under the condition of ageing involution. It's found out that in mature laboratory animals under the physiological conditions there is an increase in myelocytes and erythroblasts numbers, under the ionizing radiation conditions there is an increase in myeloblasts and polychromatophilic norm oblasts. At the same time in old animals under the physiological conditions the increase in promyeloblasts, polychromatophilic norm oblasts and the content of erythroid elements is noted.

Key words: ionizing radiation, myeloid tissue, arginine, ageing, proliferation.

Авторская справка

1. Гребнев Дмитрий Юрьевич

2. Ястребов Анатолий Петрович

3. Маклакова Ирина Юрьевна

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Уральская Государственная Медицинская Академия Минздрава России.

Россия, г. Екатеринбург ул. Блюхера д. 63 А 76

Dr-grebnev77@mail.ru

Grebnev Dmitri J.

Jastrebov Anatoliy P.

Maklakova Irina J.

The State Budget Educational Establishment of Higher Professional Education The Ural State Medical Academy Ministry of Social Development and Health Care in Russia.

Russia, Ekaterinburg of street of Blucher d. 63 A - 76

Dr-grebnev77@mail.ru

УДК 612.69 : 615.838.6 : 616-10 : 588.64

Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В., Балуева М.В., Валиева И.Р., Молостова О.О. **ПОИСК СПЕЦИФИЧЕСКИХ БИОХИМИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ СТАРЕНИЯ ВЫСОКОСПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОК ОРГАНОВ ПАЦИЕНТОВ С ПОЛИОРГАНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия;

ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В работе проведен анализ результатов исследования биохимических показателей в периферической крови 92 пациентов с полиорганной патологией с помощью иммуноферментного метода лабораторной диагностики. Мы определили возможные биохимические предикторы старения высокоспециализированных клеток эндокринной системы (T_3) и клеток нервной системы организма человека (белок S100). Выявлена значимая корреляционная взаимосвязь между несколькими диагностируемыми показателями и биологическим или паспортным возрастом (БВ и ПВ).

Ключевые слова: предикторы старения, тироциты, астроциты, биовозраст.

Введение

В современной геронтологии и гериатрии используются в основном геропротекторные мероприятия и воздействия, адресованные большим группам лиц в условиях нормы или патологии, организму в целом, системам органов или органам и тканям. Очень редко в качестве их акцептора фигурирует отдельная клетка или клеточная органелла. При этом известно, что процесс старения организма гетерохронен и гетеротопен в пределах всех этих объектов [1,13]. С нашей точки зрения, это может быть одной из причин относительно скромной эффективности современной геропротектики и геропротекторных средств и методов, адресованных круп-

ным гетерогенным по гистологическому строению структурам.

Поиск эффективных геропротекторов на современном этапе развития геронтологии существенно затруднен в связи с отсутствием надежных маркеров старения отдельных видов клеток в организме человека. Отсутствие таких доступных для прижизненного исследования в биожидкостях (крови) маркеров-предсказателей возрастной инволюции отдельных видов клеток затрудняет оценку эффективности адресной доставки геропротектора клетке, которая в нем нуждается.

Нервная и эндокринная система являются двумя наиболее ответственными, координирующими состояние морфологии и функции организма в условиях нормального и ускоренного старения. Поэтому поиск предикторов старения отдельных клеток целесообразным представлялось начать с показателей, характеризующих старение отдельных видов клеток этих систем организма.

В неврологической клинике достаточно давно внедрено исследование показателя белок S-100 как маркера поражения нейрона, эндокринологическая клиника широко пользуется исследованиями в качестве показателей состояния тиреоидной функции концентрации тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ), а также гормонов тироксина (T_4) и триодтиронина (T_3), и нейротрофического фактора мозга (БДНФ). Их лабораторно-диагностическая значимость достаточно хорошо освещена в научной литературе. Однако, изменение этих показателей в зависимости от возраста организма в целом и инволюции отдельных органов и клеток, продуктами которых они являются, в настоящее время в отдельных литературных источниках отмечалось авторами как сопутствующее явление и систематически не изучено.

Так, показано лишь, что у пожилых людей более высокая концентрация ТТГ, вырабатываемого базофильными клетками аденогипофиза (тиротропоцитами), отражает усиление деятельности передней доли гипофиза, направленное на поддержание слабеющей с возрастом функции щитовидной железы, что служит показателем благоприятного течения процесса старения [8]. Важное значение ТТГ отмечается и в его влиянии на синтез других предикторов старения. Так, между продукцией ТТГ и свободной формой T_4 существует логарифмическая зависимость, согласно которой даже небольшое снижение уровня свободной формы T_4 приводит к многократному повышению уровня ТТГ [4]. Концентрация T_4 , синтезируемого фолликулярными эндокриноцитами щитовидной железы, в крови взрослых крыс выше, чем у старых [3]. Концентрация T_3 , вырабатываемого тироцитами щитовидной железы и образующегося в результате дейодирования T_4 в печени [5], в крови крыс при старении не изменяется.

Непосредственное влияние на механизмы старения оказывают метанефрины - промежуточные продукты метаболизма адреналина. 55% продуктов его метаболизма выводится с мочой в форме метанефрина. Снижение с возрастом уровня и обмена катехоламинов в головном мозге (главным образом, в гипоталамусе) и нарушение их соотношения с другими биогенными аминами, в частности, с серотонином, рассматривают как один из ключевых механизмов, определяющих возрастные изменения в нейроэндокринной системе и, в конечном счете, старение организма [1].

Данные, касающиеся белка S100B, продуцируемого клетками астроцитарной нейроглии в стареющем мозге, противоречивы [9, 12]. Старение ассоциируется с увеличением экспрессии S100B и его мРНК у крыс [9] и в мозге неврологически здоровых лиц [12]. Однако, по данным других исследований, содержание S100B и его мРНК, а также плотность S100B-позитивных астроцитов в гиппокампе мышей не меняется с возрастом [10]. Уровень S100B в ликворе также не отличается у здоровых лиц молодого и пожилого возраста [7,14]. Численная плотность S100 B-иммунопозитивных глиоцитов в вентромедиальном ядре крыс при старении увеличивалась, а в распределении глиоцитов по интенсивности иммуноокрашивания наблюдалось увеличение доли сильноокрашенных форм. Средний иммуногистохимический показатель содержания белка S100 в глиальных клетках старых животных оказался выше, чем у взрослых [2]. Об этом же свидетельствует и усиление синтеза глиальными клетками одного из трофических факторов - белка S 100.

Модификация нейротрофического фактора головного мозга (БДНФ) и экспрессия его рецепторов (TrkB.FL, TrkB.T1 и TrkB.T2) были описаны в исследованиях нормального старения и болезни Альцгеймера. Интересно, что последние данные показывают, что некоторые физиологические или патологические связанные с возрастом изменения в центральной нервной системе могут быть компенсированы путем введения экзогенного БДНФ [13]. Были проведены исследования уровня БДНФ и экспрессии различных подтипов рецепторов TrkB в гипофизе крыс на разных эта-

пах жизни. Результаты продемонстрировали присутствие БДНФ в фолликулярно-звездчатых клетках и показали, что рецепторы, а не сам БДНФ, который вырабатывается фибробластами, астроцитами и нейронами, убывают с возрастом [11]. Следовательно, возрастные изменения в центральной нервной системе могут быть компенсированы не только путем введения экзогенного БДНФ, но и путем стимуляции экспрессии его рецепторов, а также проведение этих мероприятий в комплексе, что может стать перспективной терапевтической альтернативой усовершенствования здорового старения [13].

Таким образом, в литературе имеются лишь косвенные указания на возможность оценки степени возрастной инволюции отдельных видов клеток чаще всего животных, чем человека (пациента) без их прижизненного изъятия из организма (путем аспирации, соскоба, биопсии и пр.) по тем веществам, которые они выделяют в кровь в условиях нормы или патологии, однако идея не была оформлена и сформулирована в виде отдельной проблемы с соответствующей целью. Решение этой важной проблемы могло бы способствовать в дальнейшем более целенаправленному и эффективному созданию или поиску геропротекторов в клинических исследованиях, снизив степень отрицательных побочных воздействий на организм от контрольных лабораторно-диагностических мероприятий.

Целью работы было оценить возрастные различия в концентрациях веществ, продуцируемых клетками эндокринной системы, и возрастные изменения в концентрациях в сыворотке крови метаболитов ЦНС; выявить корреляционные взаимосвязи между концентрациями потенциальных предикторов старения специализированных клеток эндокринной системы, специализированных клеток нервной системы и показателями биологического и паспортного возраста и обнаружить в периферической крови потенциально возможные предикторы старения отдельных клеток человека.

Материалы и методы: исследование проводилось на базе лаборатории патофизиологии старения Свердловского областного клинического психоневрологического госпиталя для ветеранов войн и ГУЗ СО ИМКТ. На основании добровольного согласия в исследовании приняли участие 92 пациента, которые были разделены на 2 группы. Подразделение пациентов по возрасту осуществлялось на основании рекомендаций ВОЗ. Первую группу составили 73 человека зрелого возраста (средний возраст 41 год), вторую группу – 19 человек пожилого возраста (средний возраст 62 года) мужского и женского пола. Критерием включения являлось наличие полиорганной патологии, т.е. не менее 5 хронических заболеваний в стадии стойкой ремиссии. Критерии исключения – обострение хронических заболеваний, травмы, операции, менее чем за год до исследования, наличие опухолевых или инфекционных процессов, в т.ч. нервной или эндокринной природы. Типичный основной клинический диагноз пациентов исследуемой группы: ишемическая болезнь сердца (ИБС), гипертоническая болезнь 1 – 2 стадии, атеросклероз, хронические неспецифические заболевания легких, энцефалопатия, эндокринопатии в начальных стадиях или ремиссии.

Забор крови в количестве 10 мл у пациентов производили из поверхностных вен локтевой ямки натощак в 8.00 часов в процедурном кабинете одноразовыми стерильными инъекционными иглами. Для получения сыворотки крови венозную кровь собирали в чистые сухие пробирки, затем центрифугировали при частоте 3000 об/мин в течение 15 минут. Сыворотка крови использовалась для определения концентрации ТТГ, T_3 , T_4 , метанефрина, белка S100, БДНФ с помощью иммуноферментного анализа (ИА) крови. ИА проводили на аппаратно-программном комплексе «Chem Well» (Awareness Technology, США) наборами реагентов «R&D» (Англия).

В исследовании использовали методику определения биовозраста (БВ), разработанную в Киевском НИИ геронтологии АМН СССР (в настоящее время – Институт геронтологии АМН Украины, г.Киев) и имеющую в своей математической основе метод множественной линейной регрессии [6]. Расчёт БВ производился в программе „ВІОАГЕ” (Microsoft Excel), предоставленной Институтом геронтологии АМН Украины, г. Киев, с нашими модификациями.

Обработка результатов проводилась методами вариационной статистики с применением программного комплекса Stata 6.0 (Stata Corporation, США) на персональном компьютере в операционной системе Microsoft Windows XP Home Edition.

Результаты

При сравнительной оценке концентрации в сыворотке крови биохимических метаболитов специализированных клеток эндокринной и нервной системы у пациентов с полиорганной патологией разного возраста были отмечены недостоверные, но, в части случаев, существенные различия в средних значениях исследуемых

Таблица 1.

Средние значения показателей метаболитов – потенциальных предикторов старения специализированных клеток в сыворотке крови пациентов с полиорганной патологией разных возрастных групп.

Показатель	Средние значения	
	Пациенты зрелого возраста (n = 73)	Пациенты пожилого возраста (n = 19)
ТТГ (мкМЕ/мл)	2,145 ± 0,624	1,68 ± 0,294
T ₃ (нг/мл)	1,19 ± 0,44 (1)	1,155 ± 0,261 (1)*
T ₄ (нг/мл)	10,2	8,106 ± 0,192
Белок S100 (нг/л)	0,217 ± 0,017 (2)	0,225 ± 0,019 (2)*
Метанефрин (мкг/л)	232,565 ± 40,391	126,738 ± 7,769
БДНФ (нг/мл)	0,228 ± 0,038	0,161 ± 0,017

Примечание: Цифра перед звездочкой обозначает номер группы, с которой произведено сравнение. Звездочкой отмечена достоверность различия показателей между сравниваемыми группами: * - $p < 0,05$.

Таблица 2.

Взаимосвязь между возрастными показателями и метаболитами – потенциальными предикторами старения специализированных клеток эндокринной системы в сыворотке крови пациентов с полиорганной патологией разных возрастных групп.

Биохимические показатели	Возраст			
	Паспортный	БВ мини	БВ макси	БВ стандарт
ТТГ (мкМЕ/мл)	$r = 0,097$	$r = 0,107$	$r = 0,055$	$r = 0,001$
T ₃ (нг/мл)	$r = -0,021$	$r = -0,061$	$r = 0,822$, $p < 0,05$	$r = 0,778$
T ₄ (нг/мл)	$r = -0,607$	$r = -0,426$	$r = -0,629$	$r = -0,608$
Метанефрин (мкг/л)	$r = -0,282$	$r = 0,258$	$r = 0,002$	$r = -0,198$

Таблица 3.

Взаимосвязь между возрастными показателями и метаболитами – потенциальными предикторами старения специализированных клеток нервной системы в сыворотке крови пациентов с полиорганной патологией разных возрастных групп.

Биохимические показатели	Возраст			
	Паспортный	БВ мини	БВ макси	БВ стандарт
Белок S100 (нг/л)	$r = 0,081$	$r = -0,236$	$r = -0,254$	$r = -0,31$, $p < 0,05$
БДНФ (нг/мл)	$r = -0,177$	$r = -0,161$	$r = -0,257$	$r = -0,198$

потенциальных предикторов старения, что, по-видимому, может быть объяснено высокой степенью разнородности имеющейся полиорганной патологии.

Средние значения показателей ТТГ уменьшаются с увеличением возраста (таб. 1). Так, у пациентов зрелого возраста уровень ТТГ в среднем снижается на 21,6%. Незначительные различия (на 3%) в сторону уменьшения показателей с увеличением возраста имеются в уровнях T₃ в двух исследуемых группах. Средние показатели T₄ у пациентов зрелого возраста составляют 10,2 нг/мл, тогда как у пациентов пожилого возраста данный показатель равен 8,106 ± 0,192 нг/мл, что говорит об уменьшении данного показателя в периферической крови с увеличением возраста на 20,5%.

При оценке взаимосвязи между показателями паспортного возраста, БВ-мини, БВ-макси и БВ-стандарт (тесты разной степени информативности на основе разного количества исследованных возраст-зависимых показателей) и биохимическими метаболитами специализированных клеток эндокринной системы у пациентов с полиорганной патологией, выявлена значительная отрицательная корреляция между биовозрастом стандарт и уровнем T₄ ($r = -0,608$), значительная положительная корреляция между биовозрастом макси и T₃ ($r = 0,822$, $p < 0,05$) (таб. 2.), что свидетельствует о снижении синтеза гормонально активными клетками щитовидной железы полноценного тироксина и заместительном усилении производства триодтиронина. При этом секреция ТТГ оставалась на уровне пациентов зрелого возраста. Анализируя полученные результаты, можно полагать, что гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось играет роль в модуляции процесса старения. Учитывая значение гормонов щитовидной железы в усилении процессов пролиферации и дифференцировки клеток раз-

личных систем органов, в контроле обменных процессов и насыщения клеток кислородом, можно судить об активности участия этих гормонов в процессах старения. Таким образом, ТТГ, секретлируемый базофильными тиротропоцитами гипофиза, и T₄ не могут, а T₃, продуцируемый тироцитами щитовидной железы, вероятно, может являться предиктором старения данных высокоспециализированных клеток.

Полученные нами данные о содержании в крови пациентов зрелого и пожилого возраста метанефрина свидетельствуют о повышении с возрастом его уровня в периферической крови ($p > 0,05$) (таб. 1). Так как на момент исследования были исключены лица с наличием опухолевых и инфекционных процессов, можно предположить, что метанефрин образовался в результате метилирования катехоламинов в кровяном русле и в синапсах, что является вариантом нормы, а не патологией. В ходе исследования не было обнаружено значимых (или) достоверных корреляционных показателей метанефрина с паспортным и биологическими возрастами. Метанефрин является диагностическим показателем некоторых патологий, но на основании наших данных его пока невозможно использовать в качестве возможного предиктора старения высокоспециализированных клеток эндокринной системы.

С целью поиска предикторов старения клеток нервной системы были исследованы концентрации в сыворотке крови пациентов с полиорганной патологией белка S100 и БДНФ.

Среди пациентов зрелого и пожилого возрастов нами не было обнаружено существенных изменений в значениях белка S100 – с возрастом произошло повышение его концентрации в сыворотке крови на 3,6% (таб. 1). Однако, при этом была выявлена отрицательная умеренно выраженная корреляционная взаимосвязь между биовозрастом (метод-стандарт) и содержанием в крови белка S-100 ($r = -0,31$, $p < 0,05$), что свидетельствует об уменьшении концентрации этого кальций-зависимого белка при физиологическом (или) патологическом старении (таб. 3). Ранее другими авторами было экспериментально доказано участие белков группы S100 в регуляции процессов направленного роста отростков нейронов, в механизмах памяти и обучения; и хорошо известно, что с возрастом эти процессы становятся затруднены. Вероятно, это может объясняться в том числе и снижением с возрастом уровня белка S100. Поэтому исследуемый белок можно рассматривать в качестве потенциального предиктора старения высокоспециализированных клеток нервной системы.

С увеличением возрастных показателей происходит снижение концентрации БДНФ в периферической крови на 29,4% (таб. 1), что является закономерным, если учитывать функции БДНФ в организме человека. Во взрослом организме основная функция БДНФ – нейропротекция, защита нейронов головного мозга от ишемических атак и мотонейронов от гибели.

Однако, календарный возраст и БДНФ при этом не дали значимых (или) достоверных корреляционных показателей с изучаемыми потенциальными предикторами старения (таб. 3). Поэтому, несмотря на значительную роль БДНФ в нормальном функционировании нервной системы, нейротрофический фактор мозга у нас не был оснований расценить как возможный предиктор старения высокоспециализированных клеток.

Таким образом, сравнительный возраст-зависимый анализ средних величин исследованных биохимических параметров в сыворотке крови пациентов оказался недостаточно информативен, что можно объяснить структурой имеющейся у них патологии. Корреляционный анализ же по непараметрическим и параметрическим параметрам дал обнадеживающие результаты по двум исследованным параметрам.

Выводы

1. Белок S-100 в периферической крови перспективен для дальнейшей разработки в качестве потенциального предиктора старения астроцитов и нейронов пациентов в условиях полиорганной патологии.

2. Содержание T₃ в периферической крови можно рассматривать в качестве потенциально возможного предиктора старения тироцитов пациентов в условиях полиорганной патологии.

3. Полученные результаты будут способствовать развитию исследования и контроля за адресными целенаправленными геропротекторными воздействиями на отдельные виды клеток стареющего организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В. Н. Приоритетные направления фундаментальных исследований в геронтологии: вклад России /В.Н. Анисимов // Успехи геронтол.—2003.—Вып. 12.—С. 9–27.

2. Безруков В.В. и др. Вентромедиальное ядро гипоталамуса: изменения при старении и влияние хронической электрической стимуляции на продолжительность жизни старых крыс [Текст] / В. В. Безруков, Т. А. Дубилей, Ю. Е. Рушкевич, С. А. Михальский, Т. Г. Мозжухина, В. Д. Герасимов // Науки віогляді. – 2005. – Т. 1. – С. 23-23.
3. Горбань Е. Н. Стандартизация показателей тиреоидного статуса у крыс самцов линии Вистар (онтогенетические и сезонные особенности) [Текст] / Е.Н. Горбань // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2002. – Т. 11, № 3. – С. 297-298.
4. Свиридонова М. А. и др. Значение вариабельности уровня ТТГ в клинической практике / М. А. Свиридонова, В.В. Фадеев // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2008. – Т. 4, №4. – С. 17-17.
5. Терещенко И. В. Трудности и ошибки при оценке тиреоидного статуса [Текст] / И. В. Терещенко // Медицинская газета. – 2004. – № 45. – С. 10-11.
6. Токарь А. В. и др. Использование методики определения биологического возраста человека в донозологической практике: методические рекомендации [Текст] / А.В.Токарь, В. П. Войтенко, А. М. Полюхов, Н. Г. Агаладзе, Л. М. Ена, Э. С. Рудая, И. В. Персидский, В. П. Колодченко, М. И. Драч и др. // МЗ УССР – Киев, 1990. – С. 13-13.
7. Траилин А. В. и др. Белок S100B: нейробиология, значение при неврологической и психиатрической патологии [Текст] / А.В. Траилин, О.А. Левада // Международный неврологический журнал. – 2009. – Вып. 1. – Т. 23. – С. 166-175.
8. Рушкевич Ю. Е. и др. Повреждение эмоциогенных зон гипоталамуса и продолжительность жизни крыс [Текст] / Ю. Е. Рушкевич, Т. А. Дубилей // Пробл. старения и долголетия. – 2009. – 18, № 4. – С. 381-392.
9. Linnemann D. et al. Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S 100 in aging rat brain [Text] / D. Linnemann, T. Skarsfelt // Neurobiol. Aging. – 1994. – V. 15. – P. 651-655.
10. Peskind E. R. et al. Cerebrospinal fluid S100b is elevated in the earlier stages of Alzheimer's disease [Text] / E. R. Peskind, W. S. Griffin, K. T. Akama et al. // Neurochem. Int. – 2001. – V. 39. – P. 409-413.
11. Rage F. et al. Effect of aging on the expression of BDNF and TrkB isoforms in rat pituitary [Text] / F. Rage, M. Silhol, F. Binam, S. Arancibia, L. Tapia-Arancibia // Neurobiol. Aging. – 2007. – V. 28(7). – P. – 1088-1098.
12. Sheng J.G. et al. Human brain S100 beta and S100 beta mRNA expression increases with age: pathogenic implications for Alzheimer's disease / J.G. Sheng, R.E. Mrak, C.R. Rovnaghi. [Text] // Neurobiol. Aging. – 1996. – V. 17. – P. 359-363.
13. Tapia-Arancibia L. et al. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease [Text] / L. Tapia-Arancibia, E. Aliaga, M. Silhol, S. Arancibia // Brain. Res. Rev. – 2008. – 59(1). – P. 201-220.
14. Wu Y. et al. Age related changes of various markers of astrocytes in senescence-accelerated mice hippocampus [Text] / Y. Wu, Ai-Qun

Zhang, D.T. Yew [Text] // Neurochem. Internat. – 2005. – V. 46. – P. 565-574.

*Meshchaninov V.N., Gavrilov I.V.,
Balueva M.V., Valieva I.R., Molostova O.O.*
SEARCH FOR SPECIFIC BIOCHEMICAL PREDICTORS OF AGING OF HIGHLY SPECIALIZED HUMAN CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE ORGAN PATHOLOGY

Abstract. In this paper we analyzed the results of research of biochemical parameters in peripheral blood of 92 patients with multiple organ pathology. This research was done using enzyme immunoassay method of laboratory diagnosis.

We identified some potential predictors of biochemical aging of highly specialized cells of the endocrine system (T3) and cells of the nervous system of human body (S100 protein).

We founded a statistically significant correlation between the number of diagnosable rates and biological or chronological age (BA and CA).

Key words: predictors of aging, thyrocytes, astrocytes, bioage.

Авторская справка

Мещанинов Виктор Николаевич, e-mail: viktormm@r66.ru; mv-02@yandex.ru

Гаврилов Илья Валерьевич, e-mail: given18@yandex.ru

ГУЗ СО Института медицинских клеточных технологий, ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития, зав. каф. Биохимии, г. Екатеринбург, Россия

Балуева Мария Валерьевна, e-mail: masha_balueva@mail.ru

Валиева Ирина Рафиловна

Молостова Ольга Олеговна

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России

РФ, 620000, Екатеринбург, ул. Соболева 25, (Новая поликлиника СОКП ГВВ, 7 этаж, ИМКТ, оф. 742)

Authors

Meshchaninov Victor N., e-mail: viktormm@r66.ru; mv-02@yandex.ru

Gavrilov Iliy V., e-mail: given18@yandex.ru

Institute of medical cell technologies, Ural state medicine academy,

Balueva Mariya V. e-mail: masha_balueva@mail.ru

Valieva Irina R.

Molostova Olga O.

Ural state medicine academy

620000, Yekaterinburg, Russia, Soboleva 25, Institute of medical cell technologies

УДК 612.419 + 612.111.3

Павлова В. И., Мамылина Н. В., Шахов В. П.
**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СО СТОРОНЫ ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ
КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ**

Челябинский государственный педагогический университет, г. Челябинск, Россия

Резюме. В настоящей работе представлены результаты исследования влияния эмоционально-болевого стресса на эритропоэз у лабораторных животных. Изучена динамика изменений количества различных классов эритробластических островков костного мозга в течение 5 суток после действия экстремальных факторов.

Ключевые слова: эмоционально-болевого стресс; костный мозг; эритробластические островки; реконструирующиеся островки; инволюцирующие островки; эритропоэз.

Система крови входит в состав ключевых гомеостатических структур организма, которые быстро реагируют на действие экстремальных факторов и играют важную роль в процессе развития краткосрочной и долговременной адаптации [4,9,12,17]. Одной из главных функций кровеносной ткани является транспорт кислорода, углекислого газа и биоактивных веществ к исполнительным органам и клеткам с помощью эритроцитов, без которых жизнедеятельность организма невозможна. Эритропоэз в кост-

ном мозге осуществляется в специализированных структурно-функциональных единицах, получивших название эритробластические островки (ЭО). ЭО состоят из центральной клетки макрофага, окружённого эритроидными клетками разной степени зрелости (эритроидными прекурсорами, эритробластами, нормобластами, нормоцитами, ретикулоцитами и эритроцитами) [5,6,7,14]. Макрофаг определяет и регулирует скорость созревания эритроцитов в эритроциты и отражает способность эритрона участвовать в компенсаторных реакциях организма как в норме, так и при стрессе [10,15,16,18,19].

Использование традиционных методов исследования клеток красной крови (определение общего количества ретикулоцитов и эритроцитов в периферической крови, парциальная эритрограмма, миелограмма костного мозга, содержание гемоглобина и т.д.) не позволяет оценить всю картину сложных процессов, которые протекают в костном мозге при действии на организм экстремальных факторов [2,5,6,9,12]. Анализ активности эритропо-

за на основе оценки качественного и количественного содержания разных классов ЭО представляется более информативным и объективным при оценке состояния эритропоэза в норме и патологии [5-8,18,19]. Центральный макрофаг в ЭО регулирует эритропоэз за счет трех основных функций: фагоцитоза ядер нормобластов и старых, поврежденных эритроцитов; трофического эффекта в отношении развивающихся эритроидных клеток; создания специфического эритроидного микроокружения с помощью непосредственных клеточных контактов и продукции биоактивных молекул [3-5, 14-16]. Кроме того, резидентный макрофаг способен усиливать или нивелировать эффекты эритропоэтина на окружающие его эритроидные клетки и контролировать их взаимодействие с другими регуляторными молекулами или клетками, например, Т-лимфоцитами или гранулоцитами [6,8,11,16,18,19].

В настоящее время недостаточно исследований, посвященных изучению механизмов повреждающего действия эмоционально-болевого стресса на организм человека и животных, который весьма часто сопровождает повседневную жизнь. Состояние костного мозгового кроветворения в подобных ситуациях во многом определяет жизнеспособность организма [4,6,8,10]. Изучение показателей эритропоэза экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс (ЭБС), способствует решению данной актуальной проблемы.

Материалы и методы исследования: эксперимент выполнен на 60 крысах самцах линии Вистар массой 150-200г. Эмоционально-болевого стресс воспроизводили у крыс линии Вистар по методике в форме так называемого невроза тревоги, продолжающегося один и шесть часов [10,13]. Эксперименты проведены с учётом "Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных" (Приказ МС СССР № 775 от 12.08.1977) и "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей" (Страсбург, 1985).

У всех животных осуществляли анализ общего содержания ретикулоцитов, эритроцитов в крови, определение общего количества миелокариоцитов в костном мозге, эритроидных и миелоидных элементов, как было описано у Ю.М. Захарова и А.Г. Рассохина [5]. Выделение эриробластических островков из костного мозга бедренных костей производили по методу Ю.М. Захарова с соавт. (1991) [5]. При этом ЭО подразделяли на следующие классы зрелости [7]:

ЭО 1 класса зрелости (ЭО₁): клетки ЭО представлены проэритробластами, эритробластами или базофильными нормобластами. Число клеток, способных к делению, составляет 8 или менее; оно отражает последовательность удвоения клеток- 1:2:4:8.

ЭО 2 класса зрелости (ЭО₂): клетки ЭО представлены базофильными или ранними полихроматофильными нормобластами. Число ядродержащих клеток, способных к делению, составляет от 9 до 16 и является следствием удвоения 8:16.

ЭО 3 класса зрелости (ЭО₃): клетки ЭО представлены средними полихроматофильными нормобластами и не способными к делению поздними полихроматофильными нормобластами и оксифильными нормобластами, а также ретикулоцитами. Число ядродержащих клеток составляет более 16 и является следствием удвоения 16:32.

ЭО инволюцирующие (ЭОинв): клетки ЭО представлены не способными к делению поздними полихроматофильными и оксифильными нормобластами, а также ретикулоцитами. Число ядродержащих клеток менее 16.

ЭО реконструирующиеся (ЭОрек): это островки, эритроидные клетки которых находятся на разных стадиях дифференцировки, они выглядят как присоединение к инволюцирующему островку молодых эритроидных клеток, т.е. появление в инволюцирующем ЭО наряду с неделящимися полихроматофильными, оксифильными нормобластами и ретикулоцитами про- и эритробластов и (или) базофильных нормобластов. Формирование ЭО рек является следствием дифференциации КОЕэ (проэритробласта) в «короне» инволюцирующего ЭО.

Для более углубленной оценки эритропоэза в ЭО рассчитывали индексы, предложенные Ю.М.Захаровым и Л.В.Ворговой [2,8]:

1. Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию в ЭО (ПИЭПД), который равен сумме ЭО₁ и ЭОрек;

$$\text{ПИЭПД} = \text{ЭО}_1 + \text{ЭО рек.}$$

2. Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (ППВМЭ) по формуле:

$$\text{ППВМЭ} = \frac{\text{ЭО рек.}}{\text{ЭО инв.}}$$

3. Показатель созревания ЭО (ПСЭО) как отношение ЭО с созре-

вающими эритроидными клетками к ЭО с пролиферирующими клетками, отражающий время созревания по формуле:

$$\text{ПСЭО} = \frac{\text{ЭО}_3 + \text{ЭО инв.}}{\text{ЭО}_1 + \text{ЭО}_2 + \text{ЭО рек.}}$$

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием программы Excel 2000 и STATISTICA 6.0. [1]. Ввиду малого объёма выборки для проверки гипотезы о наличии или отсутствии различий между опытными и контрольной группами использовали непараметрический метод - критерий Манна - Уитни и регрессионный анализ. Рассчитывали М среднее, различия считались достоверными при $Pu < 0,05$ [3].

Результаты исследования и обсуждение.

В результате проведённых исследований было установлено, что содержание ретикулоцитов в периферической крови достоверно повышалось как после 1 - часового, так и в первые часы после 6-часового ЭБС до 141,99% и 156,01% ($Pu < 0,05$), оставаясь повышенным до 5 суток наблюдения. Со стороны эритроцитов умеренный рост числа этих клеток был отмечен только на 1 сутки опыта (116,38% от контроля, $Pu < 0,05$), после чего их параметры возвращались к фоновым показателям.

Анализ миелограммы показал, что при ЭБС общее количество кардиоцитов в костном мозге животных достоверно снижается в первые шесть часов наблюдения. Это касается как красного, так и белого ростков крови: после шестичасового ЭБС количество эритроидных ядродержащих клеток составило 83,54% от контроля, а количество неэритроидных клеток - 69,03% от контроля. Однако уже к 1-суткам опыта наблюдается достоверная стимуляция костномозгового гемопоэза за счёт миелоидных и эритроидных элементов на 17,32% ($Pu < 0,05$) и 8,15% соответственно по сравнению с контролем. Затем эти показатели постепенно снижаются и к 5 суткам достигают контрольных величин.

Умеренные изменения со стороны миелокариоцитов и эритроидных клеток костного мозга не позволяют объяснить факт увеличения числа ретикулоцитов в периферической крови. Для объяснения этого феномена был проведён анализ эритрона на уровне структурно-функциональных единиц костного мозга - эритроидных островков, центрального макрофага и клеток, окружающих его. Установлено, что через 1 час после ЭБС абсолютное и относительное количество ЭО в костном мозге животных уменьшилось с $418,51 \pm 7,9 \times 10^3$ /бедро до $376,52 \pm 6,7 \times 10^3$ /бедро (10,03%) ($Pu < 0,05$), а через шесть часов - до $343,24 \pm 7,6 \times 10^3$ /бедро (17,99%) ($Pu < 0,05$). Через 1-2 суток после шестичасового ЭБС содержание ЭО увеличилось до $464,45 \pm 8,4 \times 10^3$ /бедро (35,31%) ($Pu < 0,05$) и $456,24 \pm 8,7 \times 10^3$ /бедро (32,92%) ($Pu < 0,05$) соответственно. Относительное содержание отдельных типов ЭО оставалось повышенным до 5 суток опыта (ЭО 1 класса зрелости (ЭО₁) - $10,32 \pm 0,4\%$; ЭО 3 класса зрелости (ЭО₃) - $11,34 \pm 0,8\%$; ЭО реконструирующихся (ЭОрек) - $16,93 \pm 0,5\%$) ($Pu < 0,05$) по сравнению с контролем.

Количественный анализ ЭО по классам зрелости после одночасового ЭБС показал, что абсолютное число ЭО₁, ЭО₂ и ЭОрек уменьшилось на 38,27% ($p < 0,01$), 23,24% ($p < 0,05$) и 60,84% ($Pu < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем на фоне увеличения количества ЭО₃ на 37,72% ($Pu < 0,05$) и инволюцирующих ЭО (ЭОинв) на 5,02% по сравнению с контролем (рис.1.2). Уменьшение количества ЭОрек указывает на возможное торможение эритропоэза в костном мозге экспериментальных животных. Уменьшение количества ЭО₁ класса зрелости и ЭОрек после одночасового ЭБС свидетельствует об ослаблении дополнительного вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО, являющемся одной из причин повышения стабильности ЭО. ПИЭПД в ЭО был уменьшен на 50,92% ($Pu < 0,05$) по сравнению с контролем. Показатель длительности созревания эритроидных клеток в ЭО после 1- часового ЭБС на 75,71% ($Pu < 0,05$) превышал контроль. ППВМЭ снижался на 64,52% ($Pu < 0,05$), т.е. появлялись свободные резидентные макрофаги костного мозга, а общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО было уменьшено на 15,37% ($Pu < 0,05$) по сравнению с контролем. Эти данные свидетельствуют о начале замедления амплификации эритробластов в «короне» ЭО в результате действия острого стресса и начинающемся смещении баланса процессов пролиферации и созревания в пользу последнего. Достоверное снижение в костном мозге количества ЭО 1 класса зрелости после одночасового ЭБС указывает на формирование из них ЭО 2 и 3 класса зрелости, а также ЭО инв.

После шестичасового ЭБС количественный состав ЭО по классам зрелости изменился следующим образом. Абсолютное число ЭО, увеличилось на 4,46%, ЭОрек уменьшилось на 40,80% ($Pu < 0,05$) по срав-

нению с одночасовым ЭБС. В результате этого произошло снижение количества ЭО₁ на 16,98% (P<0,05), ЭОинв на 7,47% по сравнению с одночасовым ЭБС (рис.1,2). То есть, через шесть часов от начала ЭБС начинается процесс восстановления числа ЭО 1 класса на фоне снижения количества ЭО 2 класса, которые переходят в ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв. После 6-часового ЭБС достоверно уменьшается количество ЭОрек, которые формируются на базе ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв.

Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО после шестичасового ЭБС уменьшен на 15,78% (P<0,05) по сравнению с одночасовым ЭБС и на 58,66% (P<0,05) ниже контроля. ПСЭО в ЭО после 6- часового ЭБС на 14,36% (P<0,05) был выше по сравнению с одночасовым ЭБС и в два раза (P<0,05) превышал контроль; показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз после шестичасового ЭБС уменьшился на 36,36% (P<0,05) по сравнению с одночасовым стрессом и стал на 77,42% (P<0,05) ниже контроля, а общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО после 6- часового ЭБС на 10,39% было ниже по сравнению с 1-часовым ЭБС. Таким образом, через 6 часов от начала ЭБС продолжался процесс угнетения эритропоэза на уровне эритроидных прекурсоров. Подобная тенденция сохранялась и через два часа после шестичасового ЭБС. Так наблюдалось уменьшение абсолютного числа ЭО₁ на 1,21%, ЭО₂ на 8,73%, ЭО₃ - на 3,65%, ЭОинв на 8,17% по сравнению с шестичасовым ЭБС. В результате этого произошло увеличение количества ЭОрек на 10,89% (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС (рис.1,2). Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО через 2 часа после шестичасового ЭБС был увеличен на 2,59% по сравнению с шестичасовым ЭБС, однако он снижен на 57,59% (P<0,05) по сравнению с контролем. ПСЭО в ЭО через два часа после 6- часового ЭБС на 97,19% (P<0,05) превышал контроль; ППВМЭ через два часа после шестичасового ЭБС увеличился на 28,57% (P<0,05) по сравнению с шестичасовым стрессом и на 70,97% (P<0,05) стал ниже по сравнению с контролем. Общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО через 2 часа после шестичасового ЭБС на 28,39% (P<0,05) ниже по сравнению с контролем.

Через сутки после шестичасового ЭБС абсолютное число ЭО₁ увеличилось в два раза (P<0,05), ЭО₂ на 58,19% (P<0,05), ЭОрек - в 5,9 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС на фоне недостоверного изменения абсолютного количества ЭО₃ и ЭОинв. (рис.1,2). Через сутки после шестичасового стресса возрастало количество ЭО 1,2 классов зрелости и ЭОрек, что свидетельствовало об активации эритропоэза в этот период после стресса.

Показатель интенсивности вовлечения КОЕ_Э в дифференцировку в ЭО через сутки после шестичасового ЭБС увеличен в 3,3 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 34,77% (P<0,05) по сравнению с контролем. ПСЭО в ЭО через сутки после 6- часового ЭБС на 53,95% (P<0,05) снизился по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 7,48% по сравнению с контролем. ППВМЭ через сутки после шестичасового ЭБС увеличился в шесть раз (P<0,05) по сравнению с шестичасовым стрессом и на 38,71% (P<0,05) по сравнению с контролем. Общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО через сутки после шестичасового ЭБС на 49,97% (P<0,05) повысилось по сравнению с шестичасовым ЭБС.

Через двое суток после шестичасового ЭБС абсолютное число ЭО₁ увеличилось в 2,1 раза (P<0,05), ЭО₂ на 54,89% (P<0,05), ЭОрек - в 7,2 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС. В результате этого произошло уменьшение количества ЭО₃ на 7,17%, ЭОинв - на 12,79% (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС (рис.1,2).

ПИЭПД в ЭО через двое суток после шестичасового ЭБС увеличен в 3,7 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 53,74% (P<0,05) по сравнению с контролем. Показатель длительности созревания эритроидных клеток в ЭО через двое суток после 6- часового ЭБС на 60,93% (P<0,05) снизился по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 21,49% (P<0,05) по сравнению с контролем; ППВМЭ через двое суток после шестичасового ЭБС увеличился в 8,6 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым стрессом и на 93,55% (P<0,05) по сравнению с контролем. Общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО через двое суток после шестичасового ЭБС на 51,71% (P<0,05) повысилось по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 15,05% (P<0,05) по сравнению с контролем.

Через пять суток после шестичасового ЭБС абсолютное число ЭО₁ увеличилось на 74,45% (P<0,05), ЭО₂ - на 52,23% (P<0,05), ЭОрек - в 6,2 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС. В результате этого произошло уменьшение количества ЭО₃ на 39,16% (P<0,05), ЭОинв на 5,67% (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС (рис.1,2).

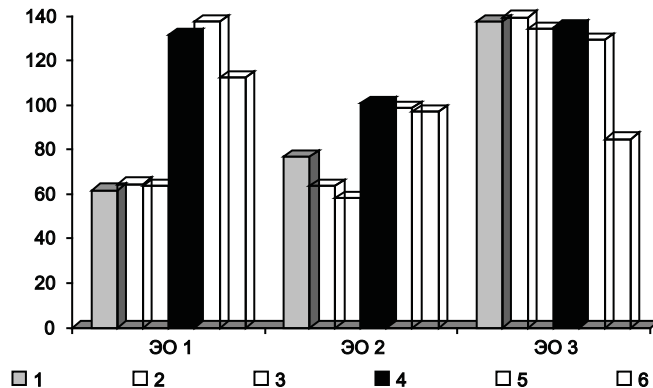


Рис. 1 Формула эритробластических островков 1–3 классов костного мозга крыс при действии эмоционально-болевого стресса

Примечание: на рисунке показано число ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости (в % от абсолютного числа ЭО каждого класса зрелости); содержание ЭО каждого класса зрелости в контроле принято за 100%. 1 – ЭБС 1 час; 2 – ЭБС 6 час; 3 – ЭБС 6 часов + 2 часа восп.; 4 – ЭБС 6 час + 1 сут. восп.; 5 – ЭБС 6 час. + 2 сут. восп.; 6 – ЭБС 6 час. + 5 сут. восп.

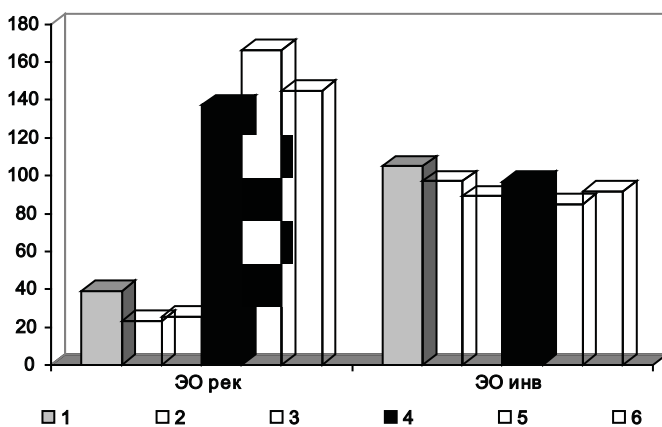


Рис. 2 Формула эритробластических островков костного мозга крыс при действии эмоционально-болевого стресса

Примечание: на рисунке показано число ЭОрек и ЭО инв (в % от абсолютного числа ЭО каждого класса зрелости); содержание ЭО каждого класса зрелости в контроле принято за 100%. 1 – ЭБС 1 час; 2 – ЭБС 6 час; 3 – ЭБС 6 часов + 2 часа восп.; 4 – ЭБС 6 час + 1 сут. восп.; 5 – ЭБС 6 час. + 2 сут. восп.; 6 – ЭБС 6 час. + 5 сут. восп.

Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО через пять суток после шестичасового ЭБС увеличился в 3,2 раза (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 30,56% (P<0,05) по сравнению с контролем. ПСЭО в ЭО через пять суток после 6- часового ЭБС снизился на 60,00% (P<0,05) по сравнению с шестичасовым ЭБС и на 19,63% (P<0,05) по сравнению с контролем; ППВМЭ через пять суток после шестичасового ЭБС увеличился в 6,9 раза (p<0,001) по сравнению с шестичасовым стрессом и на 54,84% (P<0,05) по сравнению с контролем. Общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку в ЭО через пять суток после шестичасового ЭБС на 38,49% (P<0,05) превышало показатели шестичасового ЭБС и на 5,03% показатели контроля.

На фоне увеличения количества ЭОрек в течение 1-5 суток после стресса происходил процесс реконструкции эритропоэза, а показатели вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию и повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз достигали максимальных значений по сравнению с контролем. Возможно, увеличение ЭОинв во время острого ЭБС создавало предпосылку для увеличения ЭОрек через 1–5 суток после него.

Количество эритроидных прекурсоров в ЭО₁ и ЭОрек в течение двух часов после 6- часового ЭБС достоверно падало до 42,41% (P<0,05) по отношению к контролю, очевидно, за счёт увеличения показателя созревания всех типов островков в костном мозге крыс до 197,19% (P<0,05). Иными словами, эритроидные прекурсоры дифференцировались в более зрелые формы в виде эритробластов, нормобластов и ретикулоцитов. Затем на 1-2 сутки после стресса проис-

ходила активация эритропоэза, которая сопровождалась ростом общего количества ЭО₁, ЭО₂ и ЭОрек. Это могло происходить за счёт хоуминга в островки менее дифференцированных гемопоэтических прекурсоров, которые присутствовали в костном мозге [11,17,19]. Одновременно через двое суток после стресса наблюдалось повторное вовлечение макрофагов в эритропоэз до 193,55% (P<0,05) по сравнению с контролем за счёт реконструкции имеющихся островков и образования ЭО₁ и ЭО₂ типов. К 5 суткам опыта количество ЭО₁, ЭО₂, ЭОинв постепенно нормализовалось, количество ЭО₃ и показатель созревания снижались, хотя оставалось повышенным в костном мозге содержание эритроидных прекурсоров и количество макрофагов, повторно вовлечённых в эритропоэз. Следует отметить, что такие изменения с помощью классических гематологических методов (эритрограмма, клеточность костного мозга, миелограмма, определение числа ретикулоцитов в крови) не определяют [10].

Проявление стимуляции эритропоэза с увеличением относительного и абсолютного количества ЭО 1-го, 2-го классов и ЭОрек было выявлено на первые сутки от начала ЭБС. Увеличенное число ЭО пролиферирующих классов (1-го, 2-го и ЭОрек) сохранялось и на вторые сутки. Через 1 и 2 суток от начала ЭБС темпы пролиферативных процессов в костном мозге повысились по сравнению с предыдущими сроками (рис.1,2).

В результате действия одночасового и шестичасового ЭБС на фоне активации гипофиз-адреналовой системы, увеличении продукции глюкокортикоидов надпочечниками, нейропептидов в головном мозге, а также эритропоэтина, гранулоцитарных, макрофагальных колониестимулирующих факторов, пирогенов наблюдалось угнетение эритроидного роста кроветворения на фоне снижения числа эритробластических островков костного мозга. Синхронное снижение числа ЭО1-2 классов, ЭОрек на фоне увеличения количества ЭО₃ класса и ЭОинв свидетельствует об ускоренном созревании эритроидных клеток, активно поступающих в периферическую кровь, а также о нарушении реконструкции эритропоэза [5,6,11,12,16-19].

Изменение эритропоэза при остром ЭБС является проявлением «цены» адаптации, так как это снижает диапазон приспособительных реакций организма животных. В течение двух-пяти суток после стресса в определённой степени устраняются проявления «цены» адаптации системы крови [4,9,10].

В течение двух суток после острого ЭБС произошли количественные и качественные изменения в ЭО костного мозга крыс, отражающие участие этих морфофункциональных единиц эритропоэза в восстановлении эритрона. Это участие проявлялось увеличением абсолютного количества ЭО в бедренной кости; количества эритроидных клеток-предшественников, вступивших в дифференциацию в эритробластические островки; макрофагов, впервые и повторно поддерживающих эритропоэз в ЭО; синхронным увеличением ЭО 1-2-го классов; снижением содержания созревающих классов ЭОинв и ЭО 3 класса зрелости, т.е. смещением баланса между пролиферативными процессами и созреванием в эритробластических островках в сторону пролиферации эритроидных клеток.

После 1 и 6 - часового ЭБС происходил рост числа ЭОинв за счёт падения числа всех остальных типов островков и переход клеток, способных к делению, в более дифференцированные формы. В это время наблюдался ретикулоцитоз и эритроцитоз за счёт выброса эритроидных элементов из костного мозга в периферическую кровь. Затем, начиная с первых суток, происходила активация эритропоэза. Число эритроидных прекурсоров, ЭО₁, ЭО₂, ЭОрек, количество макрофагов, повторно вовлечённых в образование новых островков, постепенно увеличивалось.

Таким образом, выявленные закономерности, очевидно, являются проявлением защитно-приспособительных реакций эритропоэза на действие экстремальных факторов, которые инициируют повышение устойчивости организма к развитию гипоксии и активации тканевого метаболизма. Недостаток энергетических и пластических ресурсов кроветворения в результате острого стресса, быстрое исчерпание резерва костномозговых эритроидных клеток, поступающих на периферию, частично компенсирует сопровождающую острый стресс гипоксию организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровиков, В. Statistica: искусство анализа данных на компьютере + CD /В. Боровиков.- СПб.: Питер, 2010.- 656 с.
2. Воргова, Л.В. Об изменении эритробластических островков костного мозга при сочетании тепловых и мышечных нагрузок /Л.В. Воргова, Ю.М. Захаров //Физиол. журн. СССР. - 1990. - Т.76. - №2. - С. 200-206.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика /С. Гланц.- М.: Практика.- 1999.- 460 с.

4. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови /П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова.- М.: Медицина, 1983.- 238 с.

5. Захаров, Ю.М. Эритробластический островок / Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин. - М.: Медицина, 2002. - 281с.

6. Захаров, Ю.М. Роль обратных связей в регуляции эритропоэза /Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2006. -Т.92. - № 9. - С. 1033-1043.

7. Захаров, Ю. М. Классификация эритробластических островков костного мозга с учетом изменения их клеточного состава / Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников, А.Г. Рассохин // Арх. анат., гистол. и эмбриол. - 1990. - № 5.-С. 38-42.

8. Захаров, Ю.М. О влиянии эритропоэтина и Т- лимфоцитов на эритропоэз в культуре эритробластических островков костного мозга полицитемичных крыс / Ю.М. Захаров, И.В. Фекличева // Вестник Уральской Медицинской Академической науки. - 2009.- №1.- С. 81-84.

9. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам /Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшеничникова - М.: Медицина, 1988. - 256 с.

10. Цейликман, В.Э. Влияние серии коротких иммобилизаций на показатели периферического отдела эритрона и эритробластические островки костного мозга крыс /В.Э. Цейликман, В.П. Пушкарев, Ю.М. Захаров, В.И. Павлова, А.Г. Рассохин //Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1991. - Т.77. - № 3.- С.41-46.

11. Шахов, В.П. К вопросу о роли гемопоэтических островков в развитии феномена стимуляции костномозгового кроветворения при стрессе /В.П. Шахов //Гематология и трансфузиология. - 1988. - Т.33. - № 5. - С. 19-21.

12. Юшков, Б.Г. Система крови и адаптация организма к экстремальным воздействиям / Б.Г.Юшков // Вестник РАМН. - 2006. - № 3. - С.3-5.

13. Desiderato, O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination /O. Desiderato, J.R. Mac Kinnon, H.J. Hisson //Comp. physiol. Psychol. - 1974.- V. 87.- P. 208-214.

14. Bessis, M.C. Erythropoiesis: Comparitition of in vivo and in vitro amplification / M.C. Bessis, C. Mize, M.Prenant //Blood Cells. - 1978. -Vol. 4. N 1-2. - P. 155-174.

15. Bessis, M.C. Iron metabolism in the bone marrow as seen by electron microscopy: a critical review /M.C. Bessis, J. Breton-Gourius // Blood.- 1962.- Vol. 19.- P.635-663.

16. Bernard, J. The erythroblastic island: past and future /J.Bernard // Blod Cells.- 1991.- Vol. 17.- P. 5-10.

17. Ganong, Review of medical physiology /Ganong, F. William. - New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2001.- 518 p.

18. Sonoda, Y. Surface morphology of the central macrophages of erythroblastic islets in the spleen of aged and pregnant mice: an immunohistochemical light microscopic study /Y. Sonoda, K. Sasaki // Archives of Histology and Cytology.- 2008.- Vol. 71, No. 3.- P. 155-161.

19. Wojchowski, D.M. Erythropoietin-dependent erythropoiesis: New insights and questions / D.M. Wojchowski, M.P. Menon, P. Sathanaryana // Blood Cells Mol Dis.- 2005.- Vol. 36.- P. 232-238.

Pavlova V.I., Mamylyna N.V., Shahov V.P. **DYNAMICS OF CHANGES ERYTHROBLAST ISLETS OF BONE MARROW AT THE EMOTIONALLY-PAINFUL STRESS**

Abstract. There are the results of experimental research of influence of emotionally-painful stress on a number of indicators of hematosis in rats' marrow, in particular, erythropoiesis's condition, in this article. Also, there are the quantitative and quantitative changes of erythropoiesis in a marrow by the influence of painfull stress, and its normalisation within five days after stress.

Key words: emotionally-painful stress, bone marrow, erythroblastic islets, reconstructing islets, involuating islets, erythropoiesis.

Авторская справка.

Павлова Вера Ивановна

Челябинский государственный педагогический университет, доктор биологических наук, профессор кафедры Теории и методики физической культуры и спорта (Челябинск, Россия)

e-mail: abdrahimoaod@cspu.ru

Мамылына Наталья Владимировна

Челябинский государственный педагогический университет, кандидат биологических наук, доцент кафедры Теории и методики физической культуры и спорта

e-mail: abdrahimoaod@cspu.ru

Порядина И. А., Шардин С. А.
**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У МУЖЧИН ПРИ СОМАТИЧЕСКОЙ
ПАТОЛОГИИ И ПЕРВИЧНОМ БЕСПЛОДИИ**

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Обследовано 88 мужчин с соматической и репродуктивной патологией и здоровые лица (n=23). Всем проведено комплексное исследование, включавшее изучение половых стероидов, липидов, глюкозы, трансаминаз и т.д. Избыточная масса тела и абдоминальный тип ожирения, а также злоупотребление алкоголем рассматриваются как общие факторы риска соматической и репродуктивной патологии.

Ключевые слова: мужчины, функциональная система, соматическая патология, первичное бесплодие.

За последние годы нарушение репродуктивной функции у мужчин, состоящих в бесплодном браке, приобрело особую медицинскую и социальную значимость. В качестве объединяющего звена между развитием сердечно-сосудистых заболеваний, с одной стороны, эректильной дисфункцией и андрогено-дефицитным состоянием – с другой, выступают метаболические факторы риска [14,12,13].

Метаболический синдром (МС) – имеет высокую распространённость среди населения. Около 24% населения экономически развитых стран страдают МС. Это одна из наиболее спорных проблем в современной терапевтической науке, поскольку до настоящего времени не установлен ведущий этиологический фактор, инициирующий его развитие. Патогенез МС представляет собой процесс сложного и комплексного взаимодействия самоподдерживающихся патофизиологических механизмов. МС – кластер метаболических и гормональных нарушений [8,11,17]. Известные проспективные исследования MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) и MMAS (Massachusetts Male Aging Study) показали взаимосвязь между низким уровнем тестостерона (Тс) и всеми компонентами МС [9,4].

Как известно, единицей деятельности целостного организма, с помощью нервной и гуморальной регуляции избирательно объединяющей различные органы и ткани для обеспечения организма приспособительными реакциями, является функциональная система [1]. Особое место среди функциональных систем организма занимает репродуктивная система (РС), так как её главная роль заключается в воспроизводстве потомства в количествах, необходимых для сохранения вида [7]. Нормальное отправление основных функций РС – это интегрированный результат деятельности всего организма, в который весомый вклад, наравне с генитальным аппаратом, вносят многочисленные внеполовые функциональные системы.

Полиэтиологичность мужского бесплодия, сложность его развития, функциональная связь мужских половых желез со всеми внегенитальными органами и тканями создают большие трудности в разработке адекватных методов лечения. В связи с этим, вопросы раннего выявления и профилактики заболеваний репродуктивного аппарата являются актуальной медицинской проблемой.

Касаясь пациентов с проблемами в генеративной системе, необходимо отметить, что мало кто из них представляет себе существование взаимосвязи между нарушениями половой функции и соматическими заболеваниями. Между тем, одним из врачей, с которыми можно и нужно обсуждать репродуктивную патологию, должен быть интернист, тем более, что к нему пациент обращается гораздо чаще, чем к другим специалистам. Однако до настоящего времени межсистемные гонадо-висцеральные отношения в условиях нормы и патологии у мужчин репродуктивного возраста остаются далёкими от своего окончательного выяснения, а вопросы терапевтической защиты репродуктивного здоровья мужского населения находятся вне поля внимания большинства исследователей и практикующих врачей [6].

Цель исследования

Выявление факторов, отягощающих одновременно как соматическую, так и репродуктивную патологию, для своевременных диагностики и коррекции нарушений в гонадо-висцеральных связях.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 88 пациентов (мужчин) в возрасте от 18 до 55 лет. С учётом клинических данных, результатов инструментальных и лабораторных исследований больные распределены на 2 группы. Первая группа (n=65) – основная – включала мужчин с патологией внутренних органов (гипертоническая болезнь, дислипидемия, избыточная масса тела, синдром Жильбера, стеатогепатит и т.д.) и генитального аппарата (первичное бесплодие, ранний андрогенодефицит, эректильная дисфункция), наблюдавшихся у андролога, во вторую – группу сравнения (n=23) – вошли мужчины с соматическими заболеваниями (гипертоническая болезнь, язвенная болезнь желудка и ДПК, избыточная масса тела, дислипидемия), но без патологии репродуктивной системы, наблюдавшиеся у терапевта. Контрольную (третью) группу составили здоровые лица (n=23), сопоставимые по возрасту и полу с пациентами основной группы и группы сравнения. От всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Из исследования исключались лица старше 55 лет, пациенты с соматическими заболеваниями в фазе декомпенсации и больные, страдающие хроническим алкоголизмом.

Обследование включало осмотр терапевтом и анкетирование с использованием опросников, в частности, опросника возрастных симптомов мужчины (AMS) и опросника международного индекса эректильной функции (МИЭФ). Применялись инструментальные (УЗИ органов брюшной полости, ЭКГ, ЭхоКГ) и лабораторные (общий и биохимический анализы крови, определение уровня тестостерона, эстрадиола, оценка семенной жидкости) методы исследования.

Обработка данных проводилась на персональном компьютере с помощью статистической программы Atte Stat. Результаты анализа представлены средним значением (M), стандартным отклонением (S), доверительным интервалом (ДИ) при нормальном распределении признака и медианой (Me), квартилями (LQ-UQ) при ненормальном распределении признака. Достоверность различий определялась с помощью двухвыборочного критерия Стьюдента (two-sample t-Test), критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney rank test) с учётом множественных сравнений и метода сравнения долей, основанного на нормальной аппроксимации биномиального распределения. Различия считались достоверными при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

Более 2/3 (83%) пациентов из первой группы употребляют алкоголь (водка) в количестве, статистически значимо большим по сравнению со второй и контрольной группами (табл. 1). Достоверно значимых различий между второй группой и третьей группами нет. По злоупотреблению табаком в первой, второй и третьей группах практически нет отличий.

Возраст начала половой жизни существенного влияния на исследуемые параметры не оказывал.

Антропометрическая характеристика выборки представлена в таблице 2. Из последней видно, что среди пациентов основной группы преобладает гиперстенический тип конституции с абдоминальным ожирением. Показатели индекса массы тела (ИМТ) и окружности талии (ОТ) найдены достоверно большими в первой группе по сравнению с контрольной группой. В группе сравнения показатели ИМТ и

Таблица 1

Вредные привычки

Признаки	1 группа n= 65	2 группа n= 23	3 группа n= 23	P _{1,2}	P _{1,3}	P _{2,3}
Возраст*	33 (7,4) ДИ (31,51-35,13)	36,8 (8,33) ДИ (33,26-40,47)	23,7 (4,51) ДИ (21,80-25,50)	0,0603	0,0000008	0,0000003
Злоупотребление табаком ** - частота % от общего - количество (штук) на 1 человека в день Me(LQ-UQ)	40%	47,8%	39%	0,52	0,97	0,55
	17 (10 – 20) межквартильный размах - 10	15 (10 – 15) межквартильный размах - 5	15 (5 – 19) межквартильный размах - 14			
Употребление алкоголя**	83%	33%	45%	0,0001	0,007***	0,41
а) Водка - частота % от общего - в месяц (мл) Me(LQ-UQ)	800 (400-1000) межквартильный размах-600	300 (175-450) межквартильный размах-275	400 (100-1000) межквартильный размах-900			
б) б) Пиво - частота % от общего - в месяца (мл) Me(LQ-UQ)	41%	33%	45%	0,50	0,74	0,41
	4000(2000-8000) межквартильный размах-6000	4000(2000-4000) межквартильный размах-2000	3500(2000-4000) межквартильный размах-2000			

* Описательная статистика с помощью - M(S) и ДИ, р рассчитано с использованием двухвыборочного критерия Стьюдента с учётом множественных сравнений ** Описательная статистика с помощью - Me(LQ-UQ), р рассчитано методом сравнения долей, основанным на нормальной аппроксимации биномиального распределения *** Значения р, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы

Таблица 2

Антропометрические данные и результаты анкетирования

Признаки	1 группа n= 65	2 группа n= 23	3 группа n= 23	P _{1,2}	P _{1,3}	P _{2,3}
Возраст*	33 (7,4) ДИ (31,51-35,13)	36,8 (8,33) ДИ (33,26-40,47)	23,7 (4,51) ДИ (21,80-25,50)	0,0603	0,0000008	0,0000003
ИМТ*	29 (9,3) ДИ(26,76-31,30)	26 (4,1) ДИ(24,73-28,30)	23 (2,0) ДИ(22,33-24,07)	0,2165	0,0039	0,0012
Окружность талии (см)*	97 (11,54) ДИ(94,35-100,07)	93 (8,19) ДИ(89,43-96,52)	84 (4,27) ДИ(82,15-85,85)	0,09	0,0000007	0,000029
Окружность талии/рост*	0,55 (0,06) ДИ(0,53-0,56)	0,54 (0,04) ДИ(0,51-0,55)	0,47 (0,02) ДИ(0,46-0,48)	0,4315	0,00000040	0,0000002
Опросники (баллы)** а) AMS	27 (21,5-33,5) межквартильный размах-12	24 (20-25) межквартильный размах-5	22 (17-25) межквартильный размах-8	0,013	0,00093***	0,239
б) МИЭФ	21 (20-24) межквартильный размах-4	24 (22-24) межквартильный размах-2	24 (21-25) межквартильный размах-4	0,0440	0,03001	0,7920

* Описательная статистика с помощью - M(S) и ДИ, р рассчитано с использованием двухвыборочного критерия Стьюдента с учётом множественных сравнений ** Описательная статистика с помощью - Me(LQ-UQ), р рассчитано с использованием критерия Манна-Уитни с учётом множественных сравнений *** Значения р, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы

Таблица 3

Результаты лабораторного обследования лиц основных и контрольной групп

Признаки*	1 группа n= 65	2 группа n= 23	3 группа n= 23	P _{1,2} **	P _{1,3} **	P _{2,3} **
Холестерин	5,49(1,06) ДИ (5,22-5,75)	5,53(0,36) ДИ (5,16-5,87)	4,3(0,73) ДИ (4,07-4,71)	0,877	0,0000339	0,0000319
Триглицериды	1,85 (1,57) ДИ (1,46-2,24)	1,19 (0,49) ДИ (0,98-1,41)	0,82 (0,86) ДИ (0,70-0,94)	0,0531	0,00506	0,0051
Индекс атерогенности	3,81 (1,29) ДИ (3,38-4,23)	4,03 (1,21) ДИ (3,50-4,55)	2,79 (0,44) ДИ (2,60-2,99)	0,5091	0,000543	0,0000409
Билирубин общий	18 (10,45) ДИ(15,90-20,99)	15 (8,04) ДИ(11,37-18,14)	16 (6,29) ДИ(18,79-34,47)	0,1185	0,2574	0,5952
- свободный	12 (10,01) ДИ (9,63-14,50)	13,2 (6,63) ДИ (10,45-15,87)	14 (5,38) ДИ (13,07-18,37)	0,6279	0,03182	0,53509
- конъюгированный	6,14 (5,27) ДИ (4,86-7,43)	1,5 (2,34) ДИ (0,48-2,51)	1,8 (1,75) ДИ (1,08-2,52)	0,0001	0,00022	0,62021
АлАТ	37 (23,22) ДИ(31,88-43,18)	30 (20,53) ДИ(21,73-38,57)	20 (6,97) ДИ(17,11-23,14)	0,183	0,00068	0,0313
АсАТ	32 (20,58) ДИ(26,63-36,64)	27(18,12) ДИ(18,79-34,47)	20 (5,36) ДИ(17,81-22,44)	0,305	0,0098	0,1121
Глюкоза	5,4(0,68) ДИ (5,23-5,57)	5,3(0,62) ДИ(5,09-5,65)	4,9(0,44) ДИ(4,74-5,13)	0,215	0,0034	0,00942
Гемоглобин	149(12,57) ДИ(145,91-153,14)	148(11,1) ДИ(143,80-153,41)	148(9,45) ДИ(144,17-152,35)	0,7645	0,66853	0,9094
Тестостерон (нмоль/л)	16,06 (8,42) ДИ(14,66-17,32)	20,86 (8,42) ДИ(17,42-24,30)	19,27 (4,12) ДИ(17,48-21,05)	0,002	0,013	0,419
Эстрадиол (пгмоль/л)	58,87 (118,43) ДИ(28,90-89,73)	43,48 (63,04) ДИ(17,71-69,24)	45,91 (41,42) ДИ(28,98-62,84)	0,556	0,610	0,8776
Tc/Э ₂	0,89 (2,11) ДИ(0,35-1,44)	0,52 (1,13) ДИ(0,05-0,98)	0,71 (1,37) ДИ(0,15-1,27)	0,4190	0,701	0,600

* Описательная статистика с помощью M(S) и ДИ ** р рассчитано с использованием двухвыборочного критерия Стьюдента с учётом множественных сравнений *** Значения р, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы

ОТ также оказались статистически значимо выше, чем в контрольной группе, однако различия в величинах этих показателей между первой и второй группами недостоверны. Нами рассчитан коэффициент «окружность талии/рост», при анализе величин которого выявлены значительные статистически достоверные различия $p_{1,2} < 0,000001$, $p_{2,3} < 0,000001$.

В ходе анкетирования (опросники AMS, МИЭФ) в основной группе установлены достоверно значимые признаки раннего андрогенодефицита и эректильной дисфункции лёгкой степени тяжести ($p_{1,2} < 0,05$; $p_{1,3} < 0,05$).

Согласно данным таблицы показатели липидного спектра (холестерин, триглицериды, коэффициент атерогенности) статистически значимо выше в первой и второй группах по сравнению с контрольной группой. В свою очередь, первая и вторая группы различаются по показателю триглицеридов, значение которого в основной группе достоверно больше по сравнению с таковым во второй группе.

Другие биохимические показатели (АлАТ, АсАТ, глюкоза, общий билирубин) были в пределах нормы во всех трёх группах, но в пер-

вой и второй группах их значения оказались статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Превысил норму лишь показатель фракции конъюгированного билирубина в первой группе ($p_{1,2} < 0,001$, $p_{1,3} < 0,001$).

Содержание тестостерона (Тс) найден достоверно сниженным в первой группе по сравнению со второй и контрольной группами, хотя и не выходящим за пределы нормы. Уровень эстрадиола в первой и второй группах не отличается от контроля.

В соответствии с материалами графика 1, у пациентов основной группы (n=61) по данным ультразвукового исследования органов брюшной полости наблюдается наибольшее количество случаев диффузных изменений печени ($p_{1,2} = 0,042$), различия показателей в группах статистически значимы на уровне значимости $\alpha = 0,05$ по двустороннему критерию сравнения долей, основанному на нормальной аппроксимации нормального распределения; при сравнении двух групп по частоте обнаружения признаков гепатомегалии различия статистически недостоверны ($p_{1,2} = 0,39$). В первой группе у 15% больных диагностирован стеатогепатит, который отсутствует у пациентов группы сравнения (n= 21; $p_{1,2} = 0,063$).



График 1

Обсуждение

Образ жизни современного человека, особенности среды его обитания, злоупотребление алкоголем и табаком и т.д. предполагают развитие хронической неспецифической интоксикации, оказывающей отрицательное влияние на реализацию всех функций организма, в том числе репродуктивную. По данным нашей работы, более 2/3 (83%) пациентов из первой группы употребляли водку в количестве, статистически значимо большем по сравнению со второй и контрольной группами. Достоверно значимой разницы между второй и контрольной группами нет. Результаты проведенного исследования подтверждают данные литературы [16] о негативном влиянии алкоголя (этанол) на репродуктивную систему мужчин.

В соответствии с материалами работы, в первой и второй группах преобладали пациенты с гиперстеническим типом конституции и абдоминальным ожирением. При анализе коэффициента «окружность талии/рост» обнаружены статистически достоверные различия между основной и контрольной группами, группой сравнения и контролем. Это свидетельствует о том, что избыточная масса тела и абдоминальное ожирение – факторы риска как соматической, так и репродуктивной патологии.

Согласно материалам отечественной и иностранной литературы, для мужчин характерно развитие наиболее опасного типа ожирения – абдоминального [3]. А. Kissebah и P. Bjorntorp обнаружили, что при одинаковом показателе ИМТ абдоминальное ожирение сопровождается более высоким риском развития сопутствующих заболеваний, чем периферическое [10,15]. Жировые клетки (адипоциты) рассматриваются в настоящее время как активные биологические субстанции с прессорными и противовоспалительными эффектами. Даже незначительное увеличение массы тела существенно повышает риск возникновения таких заболеваний и синдромов, как артериальная гипертензия, кардиоваскулярные изменения, нарушения липидного обмена и т.д., увеличивает риск смертности и снижает продолжительность жизни [2].

Как известно, изначально в формировании метаболического синдрома выступает один фактор, чаще всего это абдоминальное ожирение, к которому последовательно присоединяются другие компоненты, а сочетание последних способствует увеличению выраженности каждого из них [5].

В основной группе пациентов выявлены достоверно значимые нарушения метаболизма липидов, билирубина и патология гепатобилиарной системы (диффузные изменения печени в 64%, стеатогепатит в 15%). В группе сравнения показатели липидного спектра (холестерин, триглицериды, коэффициент атерогенности) были также статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Однако основная группа и группа сравнения достоверно различались только по показателю триглицеридов, значение которого в первой группе статистически значимо больше по сравнению со второй.

В ходе исследования гормонального профиля у больных из первой группы обнаружено статистически значимое снижение тестостерона по сравнению со второй и контрольной группами. Уровень эстрадиола в первой и второй группах не отличались от контроля.

По результатам анкетирования по опросникам AMS, МИЭФ в первой группе установлены достоверно значимые (по сравнению со второй и контрольной группами) признаки раннего андрогенодефицита и эректильной дисфункции легкой степени тяжести.

В заключение отметим, что установить у наших больных точную хронологию анализируемых событий не представляется возможным. Однако, основываясь на наших данных и материалах литературы, мы полагаем, что инициирующим фактором в ансамбле с другими позже присоединившимися негативными обстоятельствами (вредные привычки, несбалансированное питание, малоподвижный образ жизни, стрессогенные ситуации и т. д.), было абдоминальное ожирение, типичное для лиц мужского пола. В итоге – повышенный у таких лиц риск сердечно-сосудистых заболеваний, атерогенных сдвигов липидного метаболизма, стеатогепатита, дисбаланса половых гормонов и бесплодия. У большинства наших пациентов этот риск реализуется.

Выводы

1. Злоупотребление алкоголем относится к отягощающим репродуктивную патологию обстоятельствам.
2. Избыточная масса тела и абдоминальный тип ожирения, установленные по результатам антропометрического исследования (окружность талии, коэффициент «окружность талии/рост»), являются факторами риска соматической и репродуктивной патологии.
3. Для мужчин с патологией генитального аппарата и с заболеваниями внутренних органов характерен заметно увеличенный показатель коэффициента атерогенности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохин П. К. Очерки по физиологии функциональных систем / П. К. Анохин // М.: Медицина, 1975. – 447 с.
2. Гуревич М. А. Место современных диуретиков в лечении артериальной гипертензии у пациентов с ожирением // Справочник поликлинического врача – 2010. №8 С.43.
3. Ивлева А. Я., Старостина Е. Г. Ожирение – проблема медицинская, а не косметическая / А. Я. Ивлева // М.: 2002; с. 22.
4. Нарушения половой функции при сахарном диабете / Под редакцией М. И. Коган Москва. 2005. С.224.
5. Мамедов М. Н. Эректильная дисфункция, андрогенодефицитное состояние и сердечно-сосудистые заболевания: комплексный подход к проблемам мужского здоровья / М. Н. Мамедов // М.: 2008. С.15.
6. Шардин С. А., Порядина И. А. Соматическая патология и дисбаланс половых гормонов у мужчин // Уральский медицинский журнал – 2010 №13. С. 66-67.
7. Шардин С. А., Шардина Л. А. Внутренняя патология у беременных: фармакотерапия и вопросы тактики. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета 2000. С. 8-9.
8. Barbato J. E., Zuckerbraun B. S., Overbaus M. et al Nitric oxide modulates vascular inflammation and intimal hyperplasia in insulin resistance and metabolic syndrome // J. Physiol. Heart. Circ. 2005. 289, 228-236.
9. Boulton A. J., Selam J. L., Sweeney M. et al. Sildenafil citrate for treatment of erectile dysfunction in men Type II diabetes mellitus// Diabetologia. 2001; 44 (10): 1296-301.
10. Bjorntorp P. Visceral fat accumulation: the missing link between psychosocial factors and cardiovascular disease. J Intern Med 1991;230: 195-201.
11. Caballero A. E. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. Obes. Res. 2003. 11, 1278-1289.
12. Chew K.K., Earle C. M., Stuckey B. G. et al. Erectile dysfunction in general medicine practice: prevalence and clinical correlates.//Int J Impot Res – 2000 – Vol. 12 – P. 41 – 5.
13. Demir T. Prevalence of erectile dysfunction in patients with metabolic syndrome. Int J Urol. 2006 Apr; 13(4):385 – 8.
14. Gerald B. Phillipsrmones and gl. Relationship between serum sex hormones and glucose, insulin and lipid abnormalities in men with myocardial infarction. PNAS 1977; 74:1729-1733.
15. Kissebah AH, Krakower GR. Regional adiposity and morbidity. Physiol Rev 1994; 74: 761-811.
16. Payarinen J., Karhunen P. J.Int.J. Androl. 1994, v. 17, p. 292-299.
17. Seelig M. S. Metabolic Sindrom – X. A complex of common diseases – diabetes, hypertension, heart disease, dyslipidemia and obesity – marked by insulin resistance and low magnesium/high calcium. Mineral Res. Intern. Prod. Infor. 2003. 1-11.

Poryadina I. A., Shardin A.
PECULIARITIES OF THE METABOLIC CHANGES IN MEN WITH SOMATIC PATHOLOGY AND PRIMARY INFERTILITY

Abstract. The study involved 88 males with somatic and reproductive disorders as well as healthy individuals (n = 23). All of them underwent a comprehensive study, which included the study of sex steroids, lipids, glucose, transaminases, etc. Excessive body weight and abdominal obesity as well as alcohol misuse are considered common risk factors of somatic and reproductive pathology.

Keywords: men, functional system, somatic pathology, primary infertility, abdominal obesity.

Авторская справка
Порядина Инга Александровна
Шардин Станислав Андреевич

ГОУ ВПО "Уральская государственная медицинская академия" Минздравсоцразвития Российской Федерации, г. Екатеринбург, кафедра сестринского дела
Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. Репина 3
e-mail: iporyadina@list.ru

Authors
Poryadina Inga A.
Shardin Stanislav A.
Department of Nursing, UGMA
Russia, 620000, Ekaterinburg, Repin street 3

УДК 616.72 – 002.772

Соколова Л.А., Валамина И.Е., Крохина Н.Б., Хрюстов А.А.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

МУ Центральная городская клиническая больница №6, г. Екатеринбург, Россия; ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия; Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Проведен анализ историй заболеваний 40 пациентов с ревматоидным артритом (РА), которым провели чрескожную пункционную биопсию почек. При морфологическом исследовании 40 нефробиоптатов выявлено два основных вида структурных нарушений в почках: у 20 (50%) больных диагностирован АА-амилоидоз почек, морфологическая картина мезангиопролиферативного гломерулонефрита (МезПГН) наблюдалась у 16 (40%) пациентов. В 2 (5%) случаях встретилось сочетание АА-амилоидоза почек и МезПГН и у 2 больных (5%) – мембранозная нефропатия (на фоне лечения препаратами золота). Для морфологического подтверждения диагноза АА-амилоидоза использовалась окраска Конго красным нефробиоптата, с целью типирования амилоида АА применялось иммуногистохимическое исследование.

Ключевые слова: АА-амилоидоз, мезангиопролиферативный гломерулонефрит, мембранозная нефропатия, нефробиопсия, иммуногистохимия.

Введение.

Ревматоидный артрит (РА) относится к наиболее тяжелым аутоиммунным ревматическим заболеваниям, которым страдают лица трудоспособного возраста, распространенность последнего в популяции достигает 1,0% [2]. Среди внесуставных проявлений РА наиболее прогностическое значение имеет поражение почек [4,5], а терминальная почечная недостаточность является одной из самых частых причин смерти [12]. Вторичный амилоидоз почек – это самое грозное осложнение, которое определяет исход заболевания. Частота вторичного амилоидоза у больных РА составляет: по клиническим данным – 5 - 10%, по секционным – 50 – 60% [3]. АА-амилоидоз почек быстро приводит к летальному исходу от хронической почечной недостаточности (ХПН) у 25-30 % больных РА [1,11]. Вместе с тем, структура поражения почек у больных РА изучена недостаточно.

Цель работы.

В одномоментном исследовании оценить морфологические варианты поражения почек у больных РА.

Материалы и методы.

Нами проанализировано 40 историй болезней пациентов с достоверным РА и мочевого синдромом, находившихся на лечении в нефрологическом отделении МУ ЦГКБ №6 г. Екатеринбурга. Диагноз РА ставился на основании диагностических критериев американской коллегии ревматологов (1987). Для достижения поставленной цели проводилась чрескожная пункционная биопсия почек (ЧПНБ). Протокол исследования одобрен этическим комитетом МУ ЦГКБ №6 г. Екатеринбурга, пациенты были включены в исследование с их письменного добровольного согласия.

Гистологические и иммуногистохимические исследования проводились в ЦНИЛе ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России. Нефробиоптаты подвергались стандартной гистологической обработке, в последующем изготовленные парафиновые срезы окрашива-

ли гематоксилином и эозином, трихромом, Конго-красным, ставилась шик-реакция, серебрение по Джонсу-Моури. Также проводилось иммуногистохимическое исследование нефробиоптатов с целью выявления экспрессии иммуноглобулинов и АА-амилоида. Панель для иммуногистохимического исследования включала следующие моноклональные антитела: amyloid A (cl mc 1), IgA F(ah')₂, IgG (cl A57H), IgM (M u Chains), C_{3c} complement (DACO), с системой визуализации En Vision, HRP (ДАВ)).

Результаты.

При морфологическом исследовании 40 нефробиоптатов больных РА выявлено два основных вида структурных нарушений в почках. Так, у 20 (50%) больных в нефробиоптате выявлен АА-амилоидоз, в различных структурах обнаружено отложение аморфных масс, которые при проведении гистохимической окраски по Конго-Рот проявили положительную реакцию на амилоид. Морфологическая картина МезПГН наблюдалась у 16 (40%) пациентов, у 2 (5%) выявлено сочетание МезПГН и АА-амилоидоза почек, и в 2 случаях (5%) – мембранозная нефропатия (в обоих случаях в анамнезе зафиксировано лечение препаратами золота).

Характеристика отложения амилоида в почке у больных РА представлена на рис. 1.

Как следует из рис.1, у 17 из 20 больных выявлено отложение амилоида в клубочках, которое имело различную распространенность в биоптате, в частности, диффузно-глобальную (д/г) – в 8 случаях, диффузно-сегментарную (д/с) в 5, и очагово-сегментарную (о/с) у 4 пациентов. Во всех нефробиоптатах (100%) установлено отложение амилоида в стенке сосудов мышечно-эластического типа и сосудов микроциркуляторного русла интерстиция почки. Непосредственно поражение интерстициальной соединительной ткани имеет место в 8 случаях, у 3 больных выявлено отложение амилоида в канальцах. Положительная реакция на амилоид в базальных мембранах канальцев почки не определялась ни у одного из обследуемых больных.

Вторичный характер амилоидоза верифицирован с использованием иммуногистохимического исследования у 8 больных изучаемой группы на основании выявления у них амилоида АА в нефробиоптатах.

Отложение амилоида в структурах почки сопровождалось лимфоцитарной инфильтрацией стромы, формированием диффузного или диффузно-очагового склероза интерстиция, дистрофическими и атрофическими изменениями в канальцах коркового и мозгового вещества почки. Так, тубулоинтерстициальный компонент (ТИК) обнаружен у 15 больных данной группы. Морфологические проявления гипертонической нефроангиопатии (ГНАП) установлены у 7 пациентов.

Гистологические признаки гломерулосклероза (ГС) различной степени выраженности выявлены у всех обследованных нами больных с АА-амилоидозом почек и составил: 41,2; 13,05±51,5%. При этом гломерулосклероз, равный 50% и более, определялся у 8 из 20 пациентов, что указывало на большую распространенность фибропластической

стадии. У одной пациентки имел место выраженный интерстициальный склероз, который поражал 60% интерстиция.

Морфологическая характеристика МезПГН у больных РА представлена на рис.2.

Хронический гломерулонефрит у больных РА при гистологическом исследовании нефробиоптата выявлен в 16 (40%) случаях. При этом, у всех пациентов установлен МезПГН, распространенность процесса была различной: диффузно-глобальная у 5 больных, диффузно-сегментарная в 6 случаях, очагово-сегментарная у 5 человек (рис.2). Выраженное обострение наблюдалось у 11 больных, у 3 - слабовыраженное и только у 2 пациентов зафиксирован МезПГН вне обострения, что указывает на преобладание активного процесса в почках. Формирование экстракапиллярного компонента, в виде клеточно-фиброзных полулуний в клубочках, наблюдалось только в одном случае.

Иммуногистохимическое исследование нефробиоптатов выполнено у 9 из 16 пациентов. Иммунонегативных реакций не наблюдалось. Отложение IgA в клубочках почек выявлено у 7 из 9 больных ХГН, при этом в половине биоптатов наблюдалась диффузно-сегментарная распространенность окрашивания, указывающая на значительную экспрессию этого иммуноглобулина. IgM выявлен у всех обследованных больных с преобладанием диффузно-сегментарной, очагово-сегментарной и диффузно-глобальной распространенности экспрессии. Отложение в клубочках IgG встречалось у 4 больных. Экспрессия C₃ комплемента в почках выявлено у 3 пациентов. ХГН с отложением иммуноглобулинов A, M, G и C₃ комплемента наблюдалось в 2 случаях, IgA, IgM и C₃ комплемента у 1 человека, сочетание IgA и IgM у 4, IgM и IgG у 2 пациентов.

При гистологическом исследовании почек больных РА с ХГН установлено формирование тубулоинтерстициального компонента в 5 случаях из 16 в виде лимфогистиоцитарной инфильтрации стромы, диффузного или диффузно-очагового склероза интерстиция, дистрофических и атрофических изменений в канальцах коркового и мозгового вещества почки. Морфологические признаки гипертонической нефроангиопатии отмечались у 5 больных. Гломерулосклероз диагностирован в 8 нефробиоптатах из 16, распространенность составила: 4,3; 0÷11,8% (рис.5).

Сочетание АА-амилоидоза почек с МезПГН выявлено у 2 (5%) больных. Отложение амилоида в клубочках имело следующую распространенность: диффузно-глобальную и очагово-сегментарную. В обоих нефробиоптатах установлено отложение амилоида в стенке сосудов мышечно-эластического типа и сосудов микроциркуляторного русла интерстиция почки. Отложение амилоида в интерстиции установлено в одном случае, а тубулоинтерстициального компонента в обоих, в виде лимфогистиоцитарной инфильтрацией стромы, диффузного или диффузно-очагового склероза интерстиция, дистрофических и атрофических изменений в канальцах коркового и мозгового вещества почки. МезПГН имел следующую распространенность: диффузно-сегментарную и очагово-сегментарную, в одном случае зафиксировано обострение гломерулонефрита. Морфологические проявления гипертонической нефроангиопатии выявлены у одной пациентки, а гломерулосклероз обнаружен в обоих нефробиоптатах, распространенность которого составила: 10,4; 5÷15,8%.

Обсуждение.

Поражение почек является одним из самых тяжёлых внесуставных проявлений РА, которое определяет прогноз заболевания и лечебную тактику [10] и до сих пор остается актуальной как для науки, так и практического здравоохранения [8,9]. Следует отметить, что патология почек у данной категории больных может быть связана с развитием вторичного амилоидоза, в виде различных морфологических форм гломерулонефрита, а также с нефротоксичным воздействием нестероидных противовоспалительных средств, и даже современных препаратов, таких как лефлуномид и ингибиторов фактора некроза опухоли (и-ФНО) [8]. По данным ряда авторов, исследование аутопсии почек показывает, что АА-амилоидоз часто остается не выявленным у больных с активным и длительным течением РА [9]. Невозможно точно высказаться о наличии вторичного амилоидоза почек у больных РА с изолированной протеинурией и микрогематурией, единственным методом достоверной диагностики является биопсия почки, менее достоверна биопсия слизистой оболочки кишки и десны [7]. В нашем исследовании он встретился у 50% больных, что согласуется с результатами других авторов [1,8]. На основании результатов проведенного морфологического исследования нефробиоптатов больных РА с АА-амилоидозом почек, выявлены следующие особенности поражения: у всех больных отмечалось отложение амилоида в стенке сосудов интерстиция почки, также преобладающим являлось поражение клубочков почки преимущественно диффузно-глобальной распространенности. При развитии амилоидоза почек у больных РА в исследу-

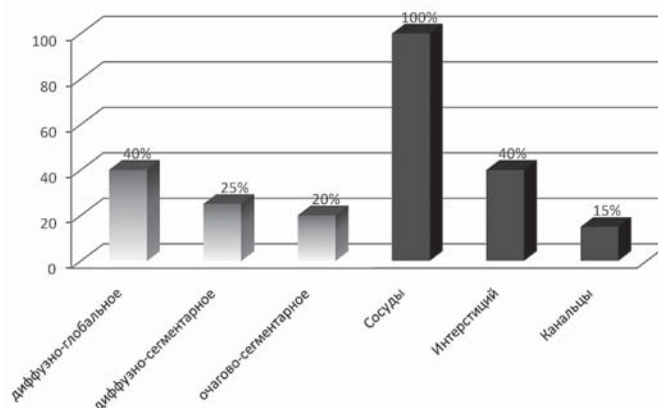


Рис.1 Распространенность отложения амилоида (в %) в нефробиоптатах больных РА

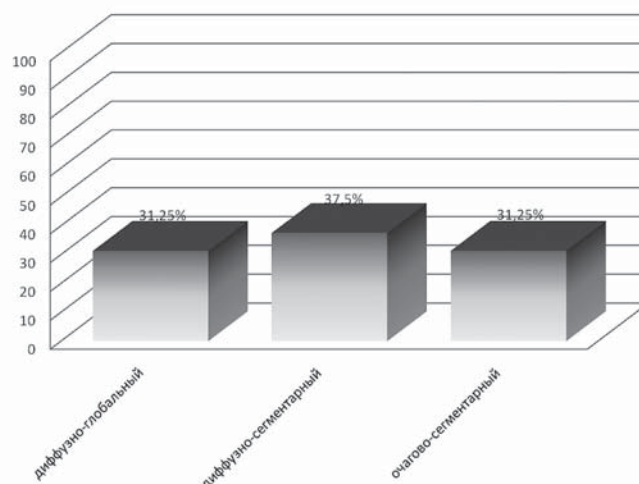


Рис.2 Гистологическая распространенность МезПГН у больных РА

емой группе не выявлено поражение базальных мембран канальцев почки. Вторичный амилоидоз почек верифицирован у 50% больных РА. При этом характерными особенностями являются большая распространенность тубулоинтерстициального компонента и высокие темпы фибропластической трансформации почки.

Другой по значимости патологией почек при РА является хронический гломерулонефрит, который также может привести к развитию почечной недостаточности. В клинко-морфологическом исследовании, проведенном М.З. Каневской и В.А. Варшавским в 2003г., по результатам биопсии почки в 1/3 случаев диагностирован гломерулонефрит [1]. МезПГН – самое частое гистологическое поражение (35-60% из биопсий у пациентов РА с мочевыми расстройствами и/или ухудшением функции почек), иногда с экстракапиллярным компонентом [11]. В нашем исследовании по результатам нефробиопсии МезПГН встретился в 40% случаев. Анализ результатов гистологического исследования нефробиоптатов больных РА с ХГН позволил выявить некоторые морфологические особенности. Формирование ХГН при РА проявилось мезангиальной пролиферацией и экссудативной реакцией в клубочках почек без деструктивно-пролиферативных изменений мембран капилляров, в большинстве случаев с признаками активности процесса. При этом в данной группе ХГН в условиях РА выявилась экспрессия в мезангиуме клубочков иммуноглобулинов А, М и G в различных сочетаниях, наиболее часто встречалось сочетание IgA и IgM. Распространенность таких морфологических проявлений ХГН как тубулоинтерстициальный компонент, гипертоническая нефроангиопатия и гломерулосклероз была ниже по сравнению с больными АА-амилоидозом. В одном случае выявлен экстракапиллярный компонент, в виде клеточно-фиброзных полулуний в клубочках, который составил 3%.

Nonna M., Toyoda M. et al. в 2006г. описали случай диагностики АА-амилоидоза, IgA-нефропатии (МезПГН) у больного РА [6]. В нашем исследовании у пациентов РА сочетание вторичного амилоидоза с МезПГН встретилось в 2 случаях, тяжесть течения заболевания обусловил АА-амилоидоз почек.

Выводы.

1. Морфологический анализ нефробиоптатов больных РА выявил высокую распространенность вторичного амилоидоза, характерными особенностями которого являлись большая распространенность тубулоинтерстициального компонента и продвинутые стадии фибропластической трансформации почки.

2. Формирование ХГН при РА проявилось мезангиальной пролиферацией и экссудативной реакцией в клубочках почек, в большинстве случаев с признаками активности процесса.

3. Распространенность морфологических проявлений в виде тубулоинтерстициального компонента, гипертонической нефроангиопатии и гломерулосклероза значительно чаще встречаются при АА-амилоидозе почек по сравнению с МезПГН у больных РА. Экстракапиллярный компонент в виде клеточно-фиброзных полулуний в клубочках при ХГН встретился в единичном случае.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Каневская М.З., Варшавский В.А. К проблеме ревматоидной нефропатии. Тер. Архив, 2003; 5: 24-29.
2. Насонов Е.Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита – взгляд в 21 век. Клиническая медицина, 2005; 6: 8-12.
3. Сорока Н.Ф., Ягур В.Е. Ревматоидный артрит: проблемы диагностики и лечения. Справочное пособие. Мн.: Беларусь, 2000; 190: 158-159.
4. Шулуто Б. И. Болезни печени и почек. Почки при ревматоидном артрите. СПб.: Издательство Санкт-Петербургского санитарно-гигиенического мединститута, 1993, 480: 449.
5. Boers M., Croonen A.M., Dijkmans B.A.C., Breedveld F.C. et al. Renal findings in with rheumatoid arthritis. arthritis: clinical aspects of 132 necropsies. Ann Rheum Dis 1987; 46: 658-663.
6. Honma M, Toyoda M, Miyauchi M, Yamamoto N, Kimura M, Maruyama M, Nishina M, Yagame M, Endo M, Sakai H, Suzuki D. Case of rheumatoid arthritis with various histological lesions of the kidney. Nippon Jinzo Gakkai Shi. 2006; 48 (2):67-73.
7. Helin HJ, Korpela MM, Mustonen JT, Pasternack AI. Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1995; 38 (2): 242-247.
8. Icardi A., Araghi P., Ciabattini M., Romano U., Lazzarini P., G. Bianchi. Reumatismo. 2003; 55 (2): 76-85.
9. Koivuniemi R., Paimela L., Suomalainen R., Leirisalo-Repo M. Amyloidosis as a cause of death in patients with rheumatoid arthritis. Clin. Exp. Rheumatol. 2008; 26 (3): 408-413.
10. Lee D. M., Weinblatt M. E. Rheumatoid arthritis // Lancet. 2001; 358: 903-911.
11. Sihvonen S., Korpela M., Mustonen J., Laippala P., Pasternack A. Renal disease as a predictor of increased mortality among patients with rheumatoid arthritis. Nephron Clin Pract. 2004; 96(4): 107-114.
12. Wakblu A., Krisnani N., Hissaria P., Aggarwal A., Misra R. Prevalence of secondary amyloidosis in Asian North Indian patients with rheumatoid arthritis. Journal of Rheumatology, 2003; 30(5): 948-951.

Sokolova L.A., Valamina I.E., Krokchina N.B., Khryustov A.A.

MORPHOLOGICAL VARIANTS OF RENAL LESION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract. We analyzed 40 charts of patients with rheumatoid arthritis, who underwent transcutaneous renal biopsy. The two basic structure disorders were revealed after morphological examination of 40 biopsies: AA-amyloidosis was diagnosed in 20 (50%) patients and 16 (40%) patients had a morphological picture of mesangioproliferative glomerulonephritis. The combination of AA-amyloidosis and mesangioproliferative glomerulonephritis was found in 2 (5%) cases, membranous nephropathy - in 2 patients (5%) (after gold compounds treatment). The painting of Congo red of specimens of kidney biopsy, with the purpose of revealing of amyloid AA immunohistochemical research was carried out, for morphological confirmation of amyloidosis diagnosis.

Key words: AA-Amyloidosis, mesangioproliferative glomerulonephritis, membranous nephropathy, renal biopsy, immunohistochemistry.

Авторская справка

Хрюстов Алексей Анатольевич
МУ ЦГКБ №6 г. Екатеринбурга, врач нефрологического отделения, соискатель кафедры внутренних болезней №2 ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия.

Соколова Людмила Александровна

ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, д.м.н., профессор, зав. кафедрой СМП

Валамина Ирина Евгеньевна

ЦНИЛ ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России, к.м.н., ведущий научный сотрудник, г. Екатеринбург, Россия

Крохина Наталья Борисовна

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия, к.м.н., старший научный сотрудник

E-mail: alexr88kh@gmail.com.

620073, Россия, г. Екатеринбург, ул. Крестинского, д.53, кв.122.

Auhtors

Khryustov Aleksey A.
the competitor of the chair of internal diseases №2 SEE HPE USMA SEE HPE, doctor-nephrologists ME CSCH № 6, Yekaterinburg, Russia

Sokolova L.A.

professor Ph. D., Yekaterinburg, Russia.

Valamina I.E.

c.m.s., the leading scientific employee CSRL SEE HPE USMA Rh, Yekaterinburg, Russia

Krokchina N.B. - c.m.s., the senior scientific employee of Institute of immunology and physiology of UrO of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia.

УДК 612.117

Сашенков С.Л., Журило О.В., Зурочка А.В., Шевцов А.В., Черешнев В.А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ОТДЕЛА ЭРИТРОНА У СПОРТСМЕНОВ РАЗЛИЧНЫХ СПЕЦИАЛИЗАЦИЙ

ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздрава, г. Челябинск, Россия; Институт физиологии и иммунологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры, г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Обследованы квалифицированные спортсмены с преимущественно аэробной (лыжники, пловцы) и анаэробной (борцы, боксеры) направленностью тренировочного процесса. Выявлены особенности морфо-функциональных характеристик показателей “красной крови”, связанные с особенностями физических нагрузок у представителей различных видов спорта.

Ключевые слова: спортсмены, эритроциты.

Введение

Клетки “красной крови” являются одним из важных компонентов систем транспорта кислорода и играют значимую роль в обеспечении кислородного запроса тканей [4, 6, 9 и другие].

Снижение содержания эритроцитов и гемоглобина сопровождается снижением работоспособности, что может являться следствием развития гемической гипоксии и недостаточной удовлетворенности кислородного запроса [1, 10, 11 и другие]. С другой стороны, чрезмерное повышение показателей “красной крови” снижает реологические характеристики крови и создает дополнительные трудности для системы кровообращения, что также может приводить к снижению спортивной результативности и нарушениям состояния здоровья спортсменов [5, 11 и другие].

В связи с этим мы посчитали необходимым провести анализ состояния периферического отдела эритрона (ПОЭ) у лыжников, пловцов, борцов и боксеров. Согласно McArdle et al (1986), по преимуществен-

Показатели периферического звена эритрона у спортсменов различных специализаций. (M ± m).

Специализация	Группы	Hb	Rt	Rt абс.	Ht	Эритр	ЦП
		г/л	%	*10 ¹² л	%	*10 ¹² л	у.е.
Лыжники	1	150,92 ± 1,18	6,79 ± 0,33	34,4 ± 1,3	46,27 ± 0,38	5,07 ± 0,051	0,897 ± 0,009
Пловцы	2	145,60 ± 1,47	5,72 ± 0,26	27,4 ± 1,2	45,12 ± 0,39	4,79 ± 0,057	0,916 ± 0,009
Борцы	3	153,62 ± 0,92	3,87 ± 0,36	15,0 ± 0,98	42,90 ± 0,36	4,13 ± 0,059	1,12 ± 0,016
Боксеры	4	149,69 ± 1,561	6,00 ± 0,47	23,9 ± 1,2	43,22 ± 0,60	3,99 ± 0,09	1,19 ± 0,024
p < 0,05 между группами		1-2	1-3,4	1-3,4	1-3,4	1-2,3,4	1-,3,4
		2-3	2-3,4	2-3,4	2-3,4	2-3,4	2-3,4
						3-4	3-4

Таблица 2.

Морфометрические показатели эритроцитов у спортсменов различных специализаций.

Специализация	группы	V Эритр	Конц Hb	Сод Hb	Д Эр	Толщ Эр	ИКУК	ЭЛФК
		мкм ³	%	пг	мкм	мкм	у.е.	%
Лыжники n=77	1	91,65 ± 0,96	32,69 ± 0,25	29,90 ± 0,31	7,06 ± 0,02	2,34 ± 0,01	0,94 ± 0,00	60,92 ± 0,60
Пловцы n=34	2	94,84 ± 1,00	32,33 ± 0,26	30,57 ± 0,31	7,14 ± 0,02	2,36 ± 0,01	0,94 ± 0,00	65,49 ± 0,76
Борцы n=61	3	104,40 ± 1,42	35,84 ± 0,19	37,42 ± 0,55	7,37 ± 0,03	2,44 ± 0,01	0,94 ± 0,01	60,10 ± 1,41
Боксеры n=32	4	115,36 ± 2,90	34,71 ± 0,32	39,89 ± 0,80	7,61 ± 0,06	2,52 ± 0,02	0,91 ± 0,01	68,33 ± 0,74
P < 0,05 между группами		1-3,4	1-3,4	1-3,4	1-3,4	1-3,4	1-4	1-2,4
		2-3,4	2-3,4	2-3,4	2-3,4	2-3,4	2-4	2-3
		3-4	3-4			3-4	3-4	3-4

ной направленности физических нагрузок лыжники находятся на "аэробном полюсе" (около 80% "медленных" волокон и МПК 70-80 мл/кг/мин), в центре распределения по виду нагрузок, содержанию "медленных" волокон и МПК располагаются пловцы и тяжелоатлеты, а на противоположном - "анаэробном полюсе" располагаются борцы, затем боксеры и спринтеры (бег 100-200 метров). Содержание "медленных" волокон у этих групп спортсменов примерно одинаково и составляет 45-50%, а МПК - 50-60 мл/кг/мин.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на здоровых мужчинах-добровольцах, профессионально занимающихся лыжным спортом (n=77), плаванием (n=34), борьбой (самбо и дзюдо n=61) и боксом (n=32) и достигших определенной квалификации в этих видах деятельности. Спортсмены обследовались в осенне-зимний период (ноябрь, декабрь, январь, февраль). Обследование проводилось после 2-3-х дневного отдыха в отсутствии тренировочно-соревновательных нагрузок.

Исследование показателей периферической крови проводилось в соответствии с требованиями клинико-гематологического обследования [8].

Из показателей периферического отдела эритрона исследовали: концентрацию гемоглобина стандартным цианметгемоглобиновым методом по Drabkin на спектрофотометре СФ - 26 в кювете с рабочей шириной 10 мм при длине волны 540 нм, количество эритроцитов - унифицированным методом подсчета в счетной камере Горяева, гематокрит (Ht) - микрометодом с использованием стандартных гепаринизированных капилляров и центрифуги МЦГ - 8. Количество ретикулоцитов (Rt) определяли в мазках суправитально окрашенных бриллианткрезилблау (рассчитывалось абсолютное и относительное количество ретикулоцитов).

Полученные значения Hb, Ht и количества эритроцитов позволили рассчитать дополнительно некоторые морфо-функциональные характеристики клеток красной крови: средний объем эритроцита (V Эр), среднюю концентрацию Hb в 1 эритроците (Hb Конц), среднее содержание Hb в отдельном эритроците, средний диаметр эритроцита, среднюю толщину единичного эритроцита, цветной показатель [8].

В данной работе используются два показателя: интегральный коэффициент ухудшения крови (ИКУК) и энтропия лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК).

ИКУК основан на способе определения обобщенного показателя по множеству использованных тестов. С увеличением отклонений в организме человека, вызванных различными факторами, ИКУК будет уменьшаться. Это будет соответствовать снижению устойчивости системы показателей крови, который в оптимальном состоянии стремится к 1.

Информация о лейкоцитах в формуле крови для каждого человека количественно определяется как энтропия лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК). Нормальной лейкоцитарной формуле соответствует диапазон относительной энтропии от 56 до 67%, обратимым реакциям адаптации к внешним условиям или предположительно состоянию соответствует диапазон от 67 до 75%, при значении относитель-

ной энтропии свыше 75% можно диагностировать патологическое состояние системы кроветворения [7].

Статистическая обработка проводилась с использованием статистического программного пакета Statistica for Windows 6.0. Все данные представлены в виде средних значений с указанием стандартного отклонения в формате M ± m. До статистического анализа данных была произведена проверка количественных показателей на соответствие нормальному распределению значений при помощи сопоставления критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Ни в одной из изученных групп нормальность распределения не была доказана, в связи с чем для статистической обработки применялись непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса, статистическая достоверность различий соответствовала критерию p < 0,05.

Результаты и обсуждение

Как видно (табл. 1), у лыжников отмечалось повышенное количество эритроцитов (Эр), гемоглобина (Hb) и содержание ретикулоцитов (Rt) периферической крови по сравнению с борцами и боксерами.

При этом количество эритроцитов закономерно снижалось от лыжников к боксерам, хотя только у боксеров содержание ретикулоцитов было сравнимо с данным показателем у представителей циклических видов спорта, что, по-видимому, отражает повышенную продукцию эритропоэтина у этих спортсменов. Данный факт может свидетельствовать о появлении в крови данной группы спортсменов эритропоэтина внепочечного происхождения, обладающего протекторным эффектом на ткани головного мозга при их неоднократных повреждениях [3]. Однако абсолютное количество Rt у данной группы спортсменов было достоверно ниже, чем у лыжников и пловцов (но выше, чем у борцов). Содержание гемоглобина было наибольшим у борцов и лыжников, хотя ЦП у представителей циклических видов спорта был ниже 1, а у борцов и, особенно, у боксеров - выше. Показатель гематокрита оказался наибольшим у лыжников и пловцов.

Все вышесказанное позволяет заключить, что функциональное состояние ПЮЭ у лыжников и пловцов значительно лучше, чем у спортсменов со скоростно-силовой направленностью тренировочного процесса.

Важно отметить (табл. 2), что боксеры и борцы превосходили лыжников по объему эритроцитов (V Эр), среднему диаметру эритроцитов (Д Эр) и средней толщине эритроцита (Толщ Эр). Таким образом, эритроциты спортсменов ациклических видов спорта были склонны к макроцитозу, хотя их размеры и не выходили за пределы физиологической нормы. По нашему мнению, данный факт может быть связан с периодическими колебаниями осмотического давления плазмы крови при периодических "сгонах веса". Точно такая же картина наблюдалась и в концентрации (Конц Hb) и содержании гемоглобина в отдельном эритроците (Сод Hb). По нашему мнению, в связи с меньшей мощностью периферического отдела эритрона у боксеров и борцов, у данных групп спортсменов активируются приспособительные механизмы, которые проявляются относительным приростом объема эритроцитов и повышением содержания гемоглобина в отдельной клет-

ке. Следует отметить, что подобные сдвиги могут быть связаны с дефицитом витаминов В₉ и В₁₂ и по своему характеру качественно напоминают гиперхромную макроцитарную анемию [2].

Таким образом, выявленные нами изменения в периферическом звене эритрона у представителей циклических и ациклических видов спорта, скорее всего, обусловлены метаболическими сдвигами в организме, связанными с направленностью тренировочного процесса (повышенное образование молочной кислоты в мышцах и большее ее поступление в кровь). Не исключено, однако, что изменения некоторых характеристик периферического отдела эритрона могут быть обусловлены, как это показано ранее, и особенностями воспроизводства эритропоэтина [6].

Особо следует остановиться на интегральных показателях периферической крови (табл. 2): интегральный коэффициент ухудшения крови (ИКУК) и энтропия лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК).

Биологический смысл ИКУК заключается в том, что с увеличением отклонений в организме человека, вызванных различными факторами, этот показатель будет уменьшаться, что будет соответствовать снижению устойчивости системы показателей крови (в оптимальном состоянии индекс стремится к 1). Из всех обследованных групп спортсменов только в группе боксеров данный показатель достоверно снижен (по сравнению с другими группами спортсменов), что свидетельствует об отклонении в функциональном состоянии организма боксеров и накоплении нежелательных факторов в процессе их тренировочно-соревновательной деятельности, что, по видимому, отражает специфику этого вида спорта.

Судя по значениям показателя ЭЛФК, лыжники, пловцы и борцы укладываются в диапазон нормы (от 56% до 67%), что является критерием хорошей адаптации системы крови к физическим нагрузкам.

Группе боксеров соответствует диапазон относительной энтропии от 67% до 75%, что свидетельствует о развитии обратимых реакций адаптации к внешним условиям или предпатологическому состоянию. При значении относительной энтропии свыше 75% можно диагностировать патологическое состояние системы кровотока.

Относительная энтропия лейкоцитарной формулы (ЭЛФК) обладает достаточно высокой чувствительностью и избирательностью, способна определять тенденцию к патологии в условиях нормы отдельных составляющих гемограммы. При оценке состояния здоровья в динамике рост относительной энтропии свидетельствует о постепенном ухудшении состояния здоровья, а ее величина – о необходимости проведения реабилитационных мероприятий.

Выводы

1. При сопоставлении общей совокупности обследованных спортсменов четырех специализаций установлено, что функциональное состояние периферического отдела эритрона лыжников и пловцов превосходит таковое у спортсменов со скоростно-силовой направленностью тренировочного процесса.

2. В связи с меньшей мощностью периферического отдела эритрона у боксеров и борцов, у данных групп спортсменов активируются приспособительные механизмы, которые проявляются относительным приростом объема эритроцитов и повышением содержания гемоглобина в отдельной клетке.

3. Выявленные нами изменения в периферическом звене эритрона у представителей циклических и ациклических видов спорта могут быть обусловлены метаболическими сдвигами в организме, связанными с направленностью тренировочного процесса, а также особенностями воспроизводства эритропоэтина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аулик В. И. Определение физической работоспособности в клинике и спорте. М.: Медицина, 1990. 192 с.
2. Васильев Н.В., Захаров Ю.М., Коляда Т.И. Система крови и неспецифическая резистентность в экстремальных климатических условиях. Новосибирск: Наука, 1992. 257 с.
3. Захаров Ю.М. Неэритропоэтические функции эритропоэтина // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 2007. Т. 93, № 6. С.592-608.
4. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. 130 с.
4. Мельников А.А., Викулов А.Д. Реологические свойства крови у спортсменов. Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2008. 491 с.
5. Сашенков С.Л. Состояние систем транспорта кислорода, особенности иммунного статуса и вероятность развития респираторных инфекций у спортсменов с аэробной и анаэробной направленностью тренировочного процесса: дис. ... д-ра мед. наук. Челябинск, 1999. 272 с.
6. Тихончук В.С., Ушаков И.Б., Карпов В.Н., Зуев В.Г. Возможности использования новых интегральных показателей периферической крови человека // Военно-медицинский журнал. 1992. № 3. С.27-31.

5. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии: пер. с болг. София: Медицина и физкультура, 1969. 1064 с.

7. Astrand P. O., Rodahl K. *Precis de physiologie de l'exercice musculaire*. Paris etc.: Masson, 1980. 507 p.

8. Eicher E. R. Sports anemia, iron supplements, and blood doping // *Med. Sci Sports Exerc.* 1992. № 13. P. 315-318.

9. McArdle W.D., Katch L.F., Katch L.V. *Exercise Physiology*. Philadelphia, 1986. 696 p.

Sashenkov S. L., Zhurilo O. V., Zurochka A. V., Shevtsov A. V., Chereshev V.A

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF ERYTHRON PERIPHERAL PORTION OF THE ATHLETES OF VARIOUS SPECIALIZATIONS

Abstract. There have been examined qualified sportsmen with predominantly aerobic (cross-country skiers, swimmers) and anaerobic (wrestlers, boxers) tendency of training process. It has been found out some peculiarities of morpho - functional characteristics of the parameters of "red blood" associated with the characteristics of physical activity in the different sports.

Key words: sportsmen, erythron

Авторская справка

Сашенков Сергей Львович

ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздора 454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, кафедра нормальной физиологии

e-mail: sashensl@yandex.ru

Журило Олег Владимирович

ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздора 454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, кафедра нормальной физиологии

sashensl@yandex.ru

Зурочка Александр Владимирович

Учреждение РАН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН

620049, Россия, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

e-mail: secretary@iip.uran.ru

Шевцов Анатолий Владимирович

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры

Россия 191040 Санкт-Петербург, Лиговский пр. 56, литера "Е"

Черешнев Валерий Александрович

Учреждение РАН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН

620049, Россия, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

e-mail: secretary@iip.uran.ru

Authors

Sashenkov Sergey. L.

State educational institution of higher education of the federal Agency for Healthcare and Social Development "Chelyabinsk State Medical Academy"

454092, Russia, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64, department of normal physiology

e-mail: sashensl@yandex.ru

Zhurilo Oleg V.

State educational institution of higher education of the federal Agency for Healthcare and Social Development "Chelyabinsk State Medical Academy"

454092, Russia, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64, department of normal physiology

e-mail: sashensl@yandex.ru

Zurochka Aleksandr. V.

Research Institute of Physiology and Immunology, UB RAS, Ekaterinburg, Russia

620049, Russia, Ekaterinburg, street 1-May Day, 106

e-mail: secretary@iip.uran.ru

Shevtsov Anatoly. V

St. Petersburg Research Institute of Physical Culture

Russia 191040 St.-Petersburg, Ligovsky avenue 56 "E"

Chereshev Valery.A.

Research Institute of Physiology and Immunology, UB RAS, Ekaterinburg, Russia

620049, Russia, Ekaterinburg, street 1-May Day, 106

e-mail: secretary@iip.uran.ru

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ ПРИ АДАПТАЦИИ ПОДРОСТКОВ К ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ В ТХЭКВОНДО

Челябинский государственный педагогический университет, г. Челябинск, Россия

Резюме. В работе показано увеличение уровня содержания провоспалительных (Ил-1 β , Ил-6) и противовоспалительных (Ил-4, Ил-10) цитокинов в сыворотке крови у подростков – тхэквондистов после 1,5 месячного предсоревновательного тренировочного этапа спортивной подготовки (занятия периодичностью 6 раз в неделю, длительностью 1,5 – 2 часа). После повышенной физической нагрузки (поединка длительностью около 8 минут) уровень Ил-1 β увеличился на 91% ($p < 0,01$), а Ил-4 снизился на 19% ($p < 0,05$) в слюне по сравнению с данными, которые были получены у спортсменов перед поединком.

Ключевые слова: тхэквондо, поединок, провоспалительные и противовоспалительные цитокины.

Актуальность

Типичной реакцией тхэквондиста в ходе тренировочной и соревновательной деятельности является стрессорная реакция организма, т.е. усиление активности симпатoadренальной и гипофизарно-адренортикаральной активности. Наличие таких механизмов позволяет спортсмену поддерживать в условиях эмоционального стресса высокую работоспособность достаточно длительное время. Недостаточная тренированность, быстрое истощение вышеуказанных физиологических механизмов является важнейшим фактором, лимитирующим спортивную деятельность единоборцев.

При адаптации к физическим нагрузкам большую роль совместно с нейроэндокринной занимает и активация иммунной системы с изменением содержания цитокинов, которые регулируют функции, а также обеспечивают развитие защитных реакций организма и осуществляют поддержание гомеостаза [2,4,6]. К настоящему времени имеющаяся информация в доступных нам источниках носит фрагментарный и часто противоречивый характер. В связи с этим целью данной работы явилось изучение влияния физической нагрузки на состояние содержания цитокинов в сыворотке крови и слюне тхэквондистов после 1,5 месячного предсоревновательного тренировочного этапа спортивной подготовки и в процессе соревновательного поединка.

Методы исследования

Исследования проводились на базе «СДЮСШОР Корё» по тхэквондо. В исследовании приняли участия юные спортсмены 14-17 лет в количестве 16 юношей спортивной квалификации кандидат в мастера спорта на предсоревновательном тренировочном этапе спортивной подготовки с проведением занятий 6 раз в неделю по 1,5 – 2 часа занятий. Контрольную группу составили 16 юношей с хорошим состоянием здоровья 14-17 лет. Взятие крови проводили в центре «Прогрессивные медицинские технологии». Уровень содержания цитокинов определяли на анализаторе «Multiscan Biotech» в сыворотке крови с помощью тест-систем производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). В слюне определение цитокинов проводилось с помощью иммуноферментного метода с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Забор слюны проводили после полоскания ротовой полости в стеклянные флаконы без стимуляции слюноотделения у спортсменов до поединка и через 24 часа после поединка, который длился около 8 минут и состоял из 3 раундов по 2 минуты каждый. Между раундами был перерыв по 1 минуте.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 6.0. Ввиду малого объема выборки для проверки гипотезы о наличии или отсутствия различий между опытными и контрольными группами использовали непараметрический метод – критерий Манна-Уитни с оценкой достоверности по критерию значимости p . Различия между группами признавались достоверными при $p < 0,05$ [1].

Результаты и обсуждение

На рис.1 представлены данные уровня содержания провоспалительных интерлейкинов (Ил-1 β , Ил-6) и противовоспалительных (Ил-10, Ил-4) у тхэквондистов на предсоревнователь-

ном тренировочном этапе спортивной подготовки. Из анализа результатов следует, что как провоспалительные, так и противовоспалительные интерлейкины под влиянием физической нагрузки повышаются. Так, уровень содержания Ил-1 β увеличился на 71% ($p < 0,01$), что составило $70,84 \pm 3,16$ пкг/мл по сравнению с контрольными данными $41,43 \pm 3,79$ пкг/мл. При физической нагрузке уровень содержания Ил-6 увеличился на 42% ($p < 0,01$) с $33,25 \pm 2,90$ пг/мл в контроле до $47,22 \pm 4,38$ пг/мл в опытной группе.

Физическая нагрузка является сильным стрессором, которая действует на организм тхэквондистов. Некоторые авторы считают Ил-1 эндогенным «сигналом тревоги» [8]. Е.А. Корневой и соавт. (2000) было показано, что повышение Ил-1, стресс индуцированная продукция лимфоцит-активирующий фактор макрофагами, компенсирует эффекты действия глюкокортикоидных гормонов на иммунокомпетентные клетки при стрессе, мобилизуют специфические защитные механизмы [3].

Повышение в 2 раза уровня содержания провоспалительного цитокина Ил-1 β в слюне у студентов при экзаменационном стрессе зафиксировала Теплова С.Н. и др. (2009) [5] В настоящее время известно, что на все раздражающие факторы окружающей среды в процессе эволюции выработались общие механизмы ответной реакции. Поэтому иммунная система отвечает активацией и при неинфекционных процессах [10].

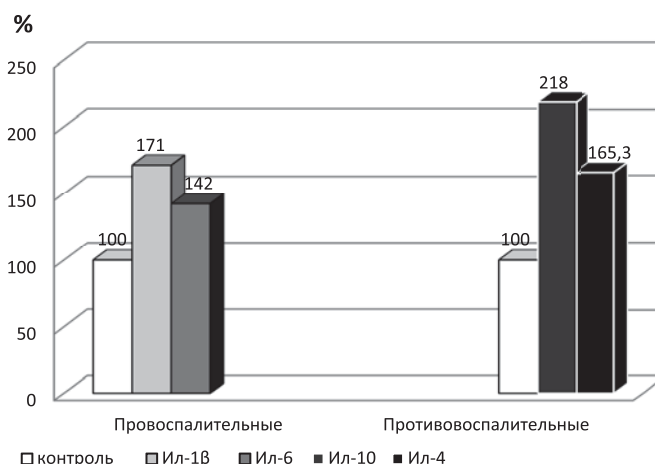


Рис. 1. Уровень содержания про- и противовоспалительных цитокинов у тхэквондистов на предсоревновательном тренировочном этапе спортивной подготовки в сыворотке крови.



Рис. 2. Уровень содержания Ил-1 β и Ил-4 у тхэквондистов в слюне до поединка и через сутки после поединка.

Интерлейкин Ил-6 при физической нагрузке увеличивается на 42% с $33,25 \pm 2,90$ пг/мл в контроле до $47,22 \pm 4,38$ пг/мл в опытной группе.

Противовоспалительные интерлейкины: Ил-10 и Ил-4 при физической нагрузке также увеличились. Так, уровень содержания Ил-10 поднялся на 118% ($p < 0,01$) с $8,63 \pm 0,73$ пг/мл в контрольной группе до $18,79 \pm 0,76$ пг/мл в опытной. Уровень содержания Ил-4 увеличился на 65,3% ($p < 0,01$) с $5,91 \pm 0,42$ пг/мл в контрольной группе до $9,77 \pm 0,40$ пг/мл в опытной.

На рис. 2 представлены данные интерлейкинов в слюне тхэквондистов после поединка. Из анализа данных рис.2 следует, что при повышенной физической нагрузке (поединок) уровень содержания провоспалительного Ил-1 β увеличился на 91% ($p < 0,01$), что составило $13,73 \pm 0,5$ пкг/мл по сравнению с данными до поединка $7,19 \pm 0,47$ пкг/мл, а уровень содержания Ил-4 снизился на 19% ($p < 0,05$) с $4,40 \pm 0,37$ пг/мл до поединка до $3,56 \pm 0,22$ пг/мл через сутки после поединка.

Существенно отметить, что повышение секреции Ил-6 при физической нагрузке зависит от низкого содержания гликогена. L. Spence et.al. (2007) показали угнетение Ил-6 при введении глюкозы в период физических упражнений [9]. В то же время повышенный уровень Ил-6 способствует высвобождению энергетических субстанций и их усвоению мышцами [9].

Следовательно, секреция цитокина при сократительной деятельности скелетных мышц определяется доступностью энергосистем [12].

Противовоспалительный интерлейкин-10 блокирует супероксидантные и нигроксидантные радикалы, стимулирует синтез TgE, тем самым защищая клетки организма [6,11]. Уровень Ил-10 при физической нагрузке зависит от ее интенсивности, а также от уровня провоспалительных цитокинов [12].

Интерлейкин-4 продуцируется популяцией Т-хелперных лимфоцитов, а также тучными клетками, макрофагами и клетками стромы, является фактором роста тучных клеток.

При физической нагрузке на уровне Ил-4 наибольшее влияние оказывает интенсивность упражнений и уровень тренированности организма. При умеренной нагрузке на предсоревновательном тренировочном этапе спортивной подготовки уровень содержания Ил-4 увеличился на 65,3% ($p < 0,01$), а при интенсивной нагрузке – в процессе соревновательного поединка уровень содержания Ил-4 снизился на 19% ($p < 0,05$). Ценой адаптации защитных механизмов организма к экстремальной (повышенной) физической нагрузке является снижение Ил-4.

Таким образом, цитокины осуществляют многофакторный контроль функций иммунной системы, выполняющий защиту организма; по-видимому, с одной стороны, для увеличения надежности работы систем, с другой – для обеспечения вариативности в реакциях организма [6,7,11]. Повышение про- и противовоспалительных цитокинов при умеренных физических нагрузках обеспечивают адаптацию организма спортсменов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровиков, В. Статистика: искусство анализа данных на компьютере + СД. – 2001. О СПб.: Питер. – 656 с.
2. Кетлинский, С.А. Эндогенные иммуномодуляторы / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев, А.Д. Воробьев. – СПб., 1992. – С. 3-6.
3. Корнева, Е.А. Интерлейкин – 1 в реализации стресс – индуцированных изменений функций иммунной системы / Е.А. Корнева, С.Н. Шанин, Е.Г. Рыбакина // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т 86. - № 3 – С. 292 – 302.
4. Симбирцев, А.С. Клиническое применение препаратов цитокинов / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 2004. Т. 25. - № 4. – С. 247 – 251.
5. Теплова, С.Н. Оценка стресс – индуцированных изменений гормональной, цитокин – и нитроксидазной регуляции у студентов в период экзаменационной сессии на основе иммунологического анализа слюны / С.Н. Теплова, Э.Х. Рахматуллина, Е.А. Чухарева // Вестник уральской медицинской академической науки. Тематический выпуск по аллергологии и иммунологии. – 2009. - № 2/1 (24). - С.301-302.
6. Фрейдлин, И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляции сети / И.С. Фрейдлин // Иммунология. – 1995. - №3. – С.44-48.
7. Ярилин, А.А. Система цитокинов и принципы её функционирования в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1997. - №5. С. 7-9.
8. Bianchi, M.E. DAMPs, PAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger / M. E. Bianchi // J. Leukocyte Biology. –

2007. Vol.81, № 1. – P. 1-5.

9. Incidence, etiology, and symptomatology of upper respiratory illness in elite athletes / L. Spence, W.J. Brown, D.B. Pyne et al. // Medicine and science in sports and exercise – 2007. – 39 (4). - P. 577-586.

10. Klune, J.R. HMGB1: Endogenous Danger Signaling. / J.R. Klune, R. Dhupar, J. Cardinal, T.R. Billiar, A. Tsung // J. Mol Med. – 2008. – Vol. 14, № 7-8. P. 476 – 484.

11. Natural killer cells in cross-regulation of IL-12 by IL-10 in Leishmania antigen-stimulated blood donor cell / H. Akuffo, A. Alexis, L. Eidsmo et al. // Clin. Exp. Immunol. – 1999. – Vol. 117. - P. 529-534.

12. Pedersen, B.K. Exercise and cytokines Immunology and cell biology, 2009 p. 532 – 535.

Saraykin D.A., Terzi M.S.

ROLE OF CYTOKINES IN ADAPTATION OF TEENAGERS TO PHYSICAL ACTIVITY IN TAEKWONDO

Abstract. In work it is shown increases in level of the maintenance pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines in blood serum at teenagers – taekwondoers after 1,5 monthly precompetitive training stages of sports preparation (employment periodicity 6 times a week, duration 1,5 – 2 hours). After heightened physical activity (a fight duration about 8 minutes) level of IL-1 β has risen by 91 % ($p < 0,01$), and IL-4 has decreased on 19 % ($p < 0,05$) in a spittle in comparison with the data, which have been received at sportsmen before a fight.

Keywords: taekwondo, a fight, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines.

Авторская справка

Сарайкин Д.А.

Челябинский государственный педагогический университет (Челябинск), аспирант кафедры Теоретических основ физической культуры e-mail: saraykind@cspu.ru

Терзи М.С.

Челябинский государственный педагогический университет (Челябинск), кандидат биологических наук, доцент кафедры Теоретических основ физической культуры e-mail: Terzims@yandex.ru

Authors

Saraykin D.A.

Chelyabinsk State Pedagogical University (Chelyabinsk). graduate student of department of Theoretical foundations of physical culture e-mail: saraykind@cspu.ru

Terzi M.S.

Chelyabinsk State Pedagogical University (Chelyabinsk), candidate of biological sciences, the assistant professor of Theoretical foundations of physical culture e-mail: Terzims@yandex.ru

ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ – ТЕСТ-ОБЪЕКТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия; Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь, Россия

Резюме. В работе проведена сравнительная оценка динамики роста, уровня пролиферативной и колониеобразующей активности, хромосомной и геномной нестабильности в клетках, полученных из образцов интраоперационного материала больных колоректальным раком (КРР). Показано, что клетки с разными цитогенетическими характеристиками имеют индивидуальный уровень чувствительности к действию 5-фторурацила, цисплатина, томудекса, лейковорина и к комбинациям цитостатиков с иммуномодулирующим препаратом. В работе представлены цитологические характеристики опухолевых эпителиальных клеток и результаты влияния терапевтических препаратов на первичные культуры клеток больных КРР.

Ключевые слова: колоректальный рак, первичные культуры клеток.

Эпителиальная ткань кишечника формируется в процессе роста и развития стволовых клеток. Нарушения механизма регуляции деления стволовых клеток вызывают появление гетерогенных «канцеринизирующих» стволовых клеток, которые образуют опухолевую ткань [1]. Клетки опухоли имеют разный уровень дифференциации и чувствительности к терапевтическим препаратам. Наследственная или приобретенная резистентность опухолевых клеток обуславливает их непредсказуемый *a priori* ответ на терапевтическое воздействие. Эффективное лечение получают только 40-50% больных колоректальным раком (КРР) [2]. В США каждый год регистрируют приблизительно 300000 ошибочных или неэффективных терапевтических назначений, а более 100000 человек умирают от побочного действия противоопухолевых препаратов [3]. Неодинаковая чувствительность к химиопрепаратам, даже в случае применения адекватной дозы, способа и сроков введения, свидетельствует о необходимости эмпирического подбора терапии с учетом индивидуального клеточного профиля опухоли.

Цель исследования – оценить *in vitro* влияние препаратов антиканцерогенного и иммуномодулирующего действия на эпителиальные опухолевые клетки.

Материалы и методы исследования. Первичные непереживаемые культуры клеток получали из биопсийного материала опухолевой ткани, отобранного во время операции 10-и больных КРР (“1”, “2”, “3”, “4”, “5”, “6”, “7”, “8”, “9”, “10”). Образцы ткани в среде культивирования MEM (Hyclone, Logan, UT) с добавлением 10% инактивированной эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (ЭС) и антибиотиков (пенициллин 100 Ед, цефазолин 5 Ед, канамицин 5 Ед на 1 мл среды), 15 мкг/мл ДНК-азы I (Sigma, St. Louis, MO) подвергали механической и ферментативной дезагрегации на шейкере при 100 об/мин в течение 20 мин при 37°C [4]. Клетки центрифугировали 10 мин при 1250 об/мин и 4°C, затем помещали в 100мм чашки для культивирования и инкубировали в термостате при 37°C в 5% атмосфере CO₂. Состав среды культивирования: 6.16 мл среды MEM; натрий-фосфатный буфер 7.5%; 1.6 мл ЭС; 0.08 мл L-глутамина; 0.08 мл раствора антибиотиков. Предотвращение преимущественного роста клеток других тканей достигали двойной обработкой трипсином культур эпителиальных клеток.

Анализ хромосомных aberrаций в клетках первичных культур эпителиальных клеток выполняли стандартным методом [5]. Клетки, обработанные лекарственными препаратами, инкубировали в термостате 48 час при 37°C. Митоз клеток блокировали на стадии метафазы добавлением 0.002 мкг/мл колхицина (Sigma) за 2 час до окончания инкубации. Затем клетки помещали в 0.75M раствор KCl, и после 15 мин инкубации фиксировали в растворе метилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). В каждом приготовленном и окрашенном по методу Гимза препарате анализировали 100 метафаз при помощи микроскопа «Leica» при увеличении ×1000. Подсчитывали количество клеток с распознаваемыми без карิโอטיפирования хромосомными aberrациями.

Формулу $P = M/K$ использовали для вычисления как митотического индекса, где M – количество делящихся клеток в популяции, так и для вычисления количества анеуплоидных клеток, где M – количество клеток с гиподиплоидным и гипердиплоидным набором хромосом; K – общее количество клеток не менее 1000.

В экспериментах использовали следующие препараты в конечных концентрациях: цитостатики – 5-фторурацил (5-ФУ), 18 мкг/мл; цисплатин (ЦП), 0.43 мкг/мл; томудекс (ТД), 2 мкг/мл; иммуномодулятор – лейковорин (ЛВ), 0.29 мкг/мл. В контрольном варианте экспериментов использовали деионизированную воду (H₂O) в объеме, соответствующем объему раствора исследуемого препарата.

Метод колониеобразования. Агаризованную 0.6% MEM среду объемом 20 мл с 1×10^5 клеток помещали в 100мм чашки для культивирования, которые инкубировали 7 дней в 5% атмосфере CO₂ в термостате при 37°C. Колониеобразующую активность вычисляли по формуле: $K/N \times 100\%$, где K – количество колоний на чашку, N – количество засеянных на чашку клеток [6].

Оценка резистентности клеток к химиопрепаратам. Суспензии первичных культур клеток в 90 мкл MEM среды помещали в 96-луночные стерильные иммунологические планшеты в концентрации 1×10^3 клеток на лунку и добавляли лекарственные препараты. В контрольном варианте в среду с клетками добавляли деионизированную дистиллированную воду в объеме 10 мкл, соответствующем объему раствора лекарственного препарата. Клетки инкубировали 24, 48, 72, 96 час при 37°C. Оптическую плотность клеток в MEM среде измеряли на UV-спектрофотометре Biospec-mini (Shimadzu, Япония) при длине волны 630 нм. Скорость роста опухолевых клеток рассчитывали по формуле: $R = \exp(-t) \approx \Delta N/N$, где N – оптическая плотность (ОП) суспензии клеток, необработанных препаратами, ΔN – ОП суспензии клеток, обработанных препаратами [7].

Все эксперименты проведены в трех повторностях.

Статистический анализ результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$) с указанием стандартного отклонения SD. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты исследования

Первичные культуры клеток, полученные из низкодифференцированной (НД, 3 больных), умереннодифференцированной (УД, 6 больных), высокодифференцированной (ВД, 1 больной) аденокарцином (А) были жизнеспособны в течение 50 – 60 дней. Овальные и перстневидные по форме клетки имели малую (3.6 ± 0.2 мкм, $n=25$, $SD=0.8$) и большую (12.0 ± 0.6 мкм, $n=25$, $SD=3.8$) полуоси. Площадь клеток НДА составляла 147.2 ± 10.5 мкм² ($n=25$, $SD=52.5$), УДА – 213.7 ± 3.4 мкм² ($n=25$, $SD=17$) и ВДА – 375.0 ± 17.0 мкм² ($n=25$, $SD=85$). В первичных культурах 80% клеток были эпителиальными. Согласно исследованиям Bartov [8], фактором, стимулирующим рост и развитие первичных культур эпителиальных клеток, является присутствие до 30% клеток других тканей.

Основными типами хромосомных aberrаций были дигетрические хромосомы ($0.57 \pm 0.03\%$), парные и непарные хроматидные делеции ($0.71 \pm 0.01\%$). Выявлено, что НДА (“1”, “2”, “9”), УДА (“3”, “5”) и ВДА (“8”) с большим количеством митозов и ядрышек в клетках обладали высокими хромосомной и геномной нестабильностями (рис. 1 и 2). Образцы УДА (“4”, “7”, “10”) с перстневидными и атипичными клетками, некрозами, ядерным полиморфизмом имели средний уровень хромосомной и геномной нестабильности. Клетки УДА с диффузным ростом из биоптата большого “6” отличались высокой как хромосомной нестабильностью, так и пролиферативной активностью, но низкой геномной (рис. 3).

Исследование влияния препаратов показали, что 5-ФУ ингибировал в культурах клеток от “5”, “9” больных геномную и от “1”, “2”, “3”, “6”, “9” хромосомную нестабильности; в комбинации с ЛВ препарат ингибировал геномную от “1”, “2”, “3”, “5”, “9”, хромосомную от “1”, “2”, “3”, “5”, “6”, “9” нестабильности и пролиферативную активность от “1”, “2”, “3”, “5”, “6”, “9” больных. Блокатор тимидилат-синтазы – ТД ингибировал нестабильности: геномную в клетках “3”, “5”, “6”, “7”, “9”, “10”, хромосомную в “3”, “5”, “6” и пролиферативную активность в “3”, “5”, “6”, “7”, “10”, но стимулировал нестабильности: геномную в клетках “4”, хромосомную – “1”, “8” больных. В комбинации с ЛВ ТД ингибировал нестабильности: геномную в клетках “3”, “6”, “10”, “8”, хромосомную – “9”, “5”, “6” и пролиферативную активность – “1”, “2”,

“3”, “6”, “8”, “9”, но стимулировал нестабильности: геномную – “7”, хромосомную – “1”, “10”. Индуцирующий в ДНК перекрестные сшивки ЦП ингибировал нестабильности: геномную в клетках “3”, “6”, “9”, “10”, хромосомную – “9” и пролиферативную активность – “4”, “9”, но стимулировал нестабильности: геномную – “2”, “4”, “7”, хромосомную – “1”, “3”, “5”, “7”, “8” и пролиферативную активность – “1”, “2”, “3”, “6”, “7”, “10” больных. В комбинации с ЛВ ЦП ингибировал нестабильности: геномную в клетках “1”, “3”, “5”, “6”, “8”, “9”, хромосомную – “5”, “6”, “9” и пролиферативную активность – “2”, “7”, стимулировал нестабильности: геномную – “2”, “7”, хромосомную – “1”, “8” и пролиферативную активность – “1”, “3”, “4”, “5”, “6”, “7”, “10” больных.

Результаты влияния исследуемых препаратов на колониобразующую активность опухолевых клеток представлены в таблице.

Таблица

Колониобразующая активность опухолевых клеток больных колоректальным раком

Препарат	Степень дифференциации аденокарцином									
	низкая			умеренная				высокая		
	1*	2	9	3	4	5	6	7	10	8
Контроль, H ₂ O	2.3	1.2	0	0.1	0	0	0.01	0	0	0.003
5-ФУ	2.8	0.06*	0.001*	0.02*	0	0	0	0	0.01*	0
ЦП	3.4	2.4	0	0.1	0.01*	0	0.19*	0	0	0.001*
ТД	1.9	0.82	0	0	0	0	0	0	0	0
ЛВ	0.98*	0.01*	0	0.1	0	0	0.02	0	0	0.003
5-ФУ+ЛВ	1.3*	0.018*	0.002*	0	0	0	0	0	0	0
ЦП+ЛВ	0.92*	1.1	0	0	0	0	0	0	0	0
ТД+ЛВ	0.83*	0.3*	0	0	0	0	0	0	0	0.0007*

a – пациенты “1”, “2”, “3”, “4”, “5”, “6”, “7”, “8”, “9”, “10”.

* – p < 0.05 по отношению к контролю.

Максимальная колониобразующая активность выявлена в культурах клеток “1”, “2” больных, минимальная – “4”, “5”, “7”, “8”, “10”. Выявлено, что 5-ФУ стимулировал активность клеток “1”, “9” больных, но ингибировал – “2”, а в комбинации с ЛВ – “1”, “2”; ТД как в моно-, так и в комбинации с ЛВ, ингибировал – “1”, “2”; ЦП стимулировал – “1”, “2”, “4”, “6”, ингибировал – “8”, в комбинации с ЛВ ингибировал колониобразующую активность клеток “1” больного.

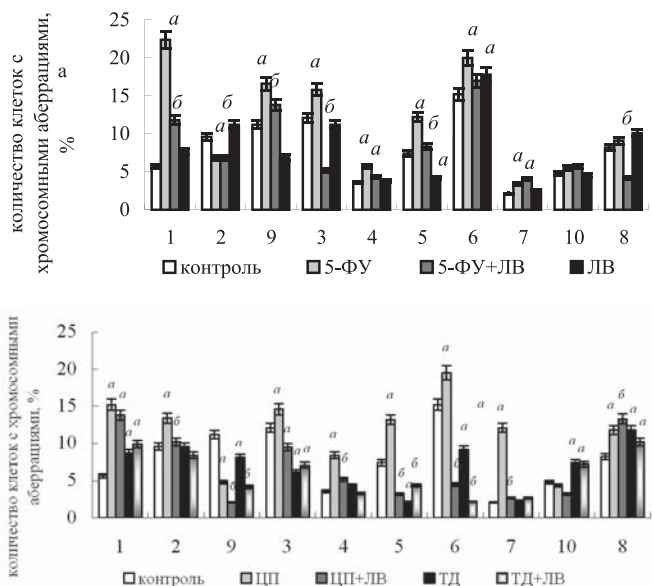
Динамика роста опухолевых клеток, обработанных препаратами *in vitro*, представлена на рисунке 4. Максимально чувствительными к цитотоксическому действию исследуемых противоопухолевых препаратов являются клетки, полученные из ВДА, не чувствительные – полученные из НДА; клетки из УДА чувствительны только к ТД.

Сопоставление результатов цитогенетического тестирования опухолевых клеток с данными клинических исследований у больных, получавших при лечении 5-ФУ и ЛВ. Больным КРР после резекции толстой кишки проведено пять курсов лечения в режиме Мейо (5-фторурацил – 425 мг/м² и лейковорин – 20 мг/м² в течение 5-и дней, каждые 4-5 недель). Прослежена связь комбинированного лечения пациентов в течение 3-5 лет с появлением метастазов. Солитарные метастазы появились в печени “1”, “9” больных с НДА и “4”, “5”, “6”, “10” с УДА, а множественные метастазы – в печени и забрюшинных лимфатических узлах “7” пациента с УДА. В культурах клеток этих больных 5-ФУ в комбинации с ЛВ не подавлял или незначительно снижал, например “1”, колониобразующую активность, скорость роста, но повышал геномную и хромосомную нестабильности.

Обсуждение

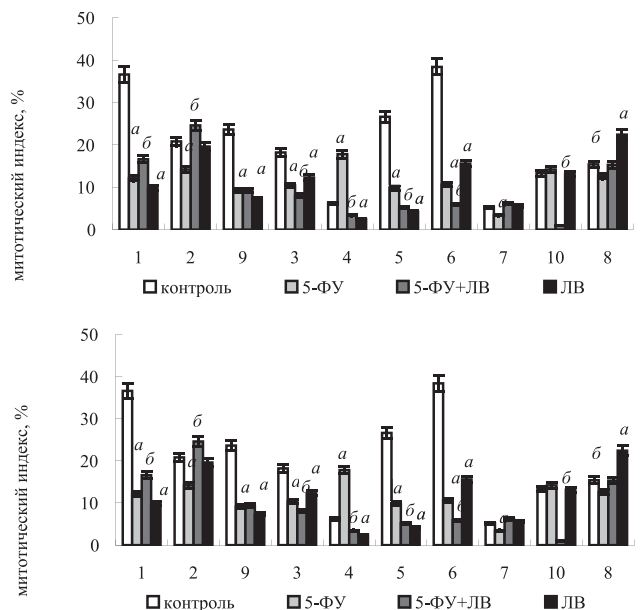
Согласно гипотезе Loeb [8], гетерогенность опухолевых клеток – следствие мутаторного фенотипа и дефектов механизмов, которые обеспечивают стабильность генома. Результаты экспериментальных исследований Anderson [1], Knox [3], Wang [10] и Siddik [11] подтвердили положение гипотезы о том, что активация мутагенеза, аккумуляция мутаций в геноме и селекция инициируют химиорезистентность. Клинические данные, проанализированные Hind с соавт. [12], свидетельствуют о том, что лечение 5-ФУ имеет неблагоприятный прогноз у 40% больных КРР с биохимически рефрактерными и у 60% с резистентными к 5-ФУ аденокарциномами. Экспериментальные и клинические исследования, не противореча основным положениям мутаторной гипотезы Loeb [9, 13], включая концепцию лекарственной резистентности, дали дополнительный импульс развитию перспективной стратегии оптимизации лечения солидных опухолей, основанной на предположении Pastor с соавт. [14] эмпирической оценке резистентности первичных культур опухолевых клеток.

В представленной работе при выборе хромосомной и геномной нестабильности, колониобразующей активности и динамики роста клеток аденокарцином в качестве показателей резистентности ори-



1. Влияние 5-фторурацила (5-ФУ), цисплатина (ЦП), томудекса (ТД), лейковорина (ЛВ) и комбинаций противоопухолевых препаратов с ЛВ на количество клеток с хромосомными aberrациями (%) в первичных культурах клеток, полученных из аденокарцином больных (“1”, “2”, “3”, “4”, “5”, “6”, “7”, “8”, “9”, “10”) колоректальным раком.

a – p < 0.05 по отношению к контролю; б – p < 0.05 по отношению к монопрепарату.



2. Влияние 5-фторурацила (5-ФУ), цисплатина (ЦП), томудекса (ТД), лейковорина (ЛВ) и комбинаций противоопухолевых препаратов с ЛВ на пролиферативную активность (%) первичных культур клеток, полученных из аденокарцином больных (“1”, “2”, “3”, “4”, “5”, “6”, “7”, “8”, “9”, “10”) колоректальным раком.

a – p < 0.05 по отношению к контролю; б – p < 0.05 по отношению к монопрепарату.

ентировались на данные Shah с соавт. [15], которые показали, что 85% злокачественных опухолей толстого кишечника развивается из-за хромосомной и геномной нестабильности на фоне нарушений апоптоза клеток. Микросателлитная нестабильность ДНК в соматических клетках, мутантных по генам ММР системы, имеет место у 15% больных КРР, аденокарциномы которых инфильтрированы лимфоцитами, содержат полосты, заполненные слизью, состоят из слабо дифференцированных клеток с диплоидным набором хромосом [9].

Изменения хромосомной и геномной нестабильности, количества клеток с субстрат-независимым ростом и динамики роста клеток нами оценивались при воздействии 5-фторурацила, томудекса и ци-

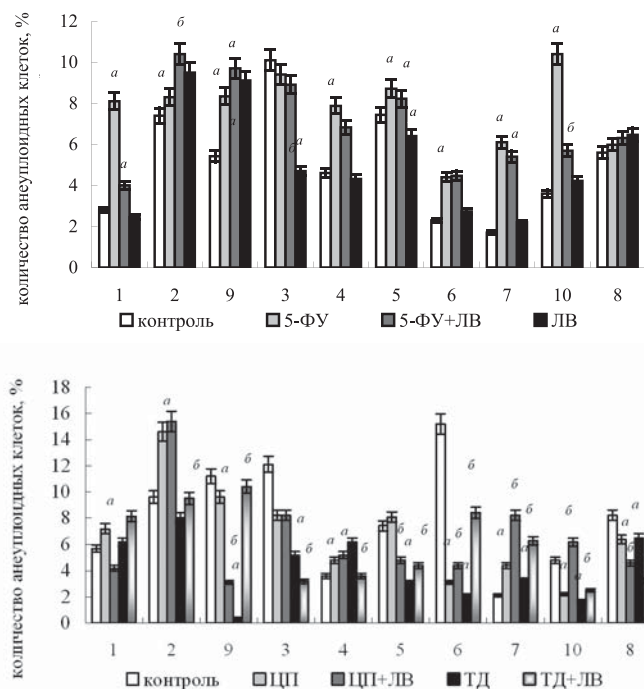


Рис. 3. Влияние 5-фторурацила (5-ФУ), цисплатина (ЦП), томудекса (ТД), лейковорина (ЛВ) и комбинаций противоопухолевых препаратов с ЛВ на количество анеуплоидных клеток (%) в первичных культурах клеток, полученных из аденокарцином больных ("1", "2", "3", "4", "5", "6", "7", "8", "9", "10") колоректальным раком.

а – $p < 0.05$ по отношению к контролю; б – $p < 0.05$ по отношению к монопрепарату.

сплатина, которые относятся к различным группам химических соединений и отличаются по механизму действия. Томудекс и 5-фторурацил ингибируют экспрессию гена, кодирующего тимидилатсинтеазу [16], которая катализирует реакцию метилирования дезоксиуридинмонофосфата. Конечный продукт реакции – дезокситимидинмонофосфат является прекурсором синтеза дезокситимидинтрифосфата (ТТФ), участвующего в синтезе ДНК. Томудекс, в отличие от 5-ФУ, специфически ингибирует тимидилатсинтеазу. Резистентность клеток к этим препаратам зависит от содержания фермента, однако экспрессия дигидропиримидин дегидрогеназы, p53, NF-kB (транскрипционный фактор) или инактивация репарации неправильно спаренных оснований (ММР) усиливают устойчивость к 5-ФУ, но не к ТД. Предполагают, что это является причиной варьирования чувствительности к ТД клеток, резистентных к 5-ФУ [16].

В ответ на образование межнитевых швов, индуцированных ЦП в ДНК, активируются сигнал-трансдукторные системы и апоптоз [11]. Резистентность к ЦП обеспечивают механизмы, отвечающие за глутатион-зависимую инактивацию химического соединения или снижение его концентрации в клетке. Кроме того, резистентность к цитотоксическому действию препарата повышается в результате экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и каспаз (цистеиновые протеазы), а также при активации системы эксцизионной репарации нуклеотидов и инактивации ММР системы [11]. Широкий диапазон резистентности клеток к ЦП определяется активностью перечисленных молекулярных механизмов, которые защищают опухолевую ткань от цитостатического и цитотоксического действия препарата.

В работе выявлено, что клетки низко- и умереннодифференцированных аденокарцином с инфильтрирующим ростом в мышечную стенку, лимфоцитарной инфильтрацией, присутствием полостей, заполненных слизью, с большим количеством митозов и ядрышек в ядрах имеют максимально высокую геномную и хромосомную нестабильность, резистентность к 5-ФУ, ЦП, ТД и к комбинациям цитостатиков с ЛВ. Клетки, полученные из части умереннодифференцированных аденокарцином с атипичными клетками, некрозами, ядерным полиморфизмом, отличаются средним уровнем геномной нестабильности, чувствительностью к 5-ФУ, ЦП, ТД и к комбинациям ЦП или ТД с ЛВ. Клетки высокодифференцированной аденокарциномы с инвазивным ростом, массивными некрозами, большим количеством митозов и полиморфизмом клеточного ядра чувствительны к действию 5-ФУ и ТД. Рутинные методы исследования не позволили определить

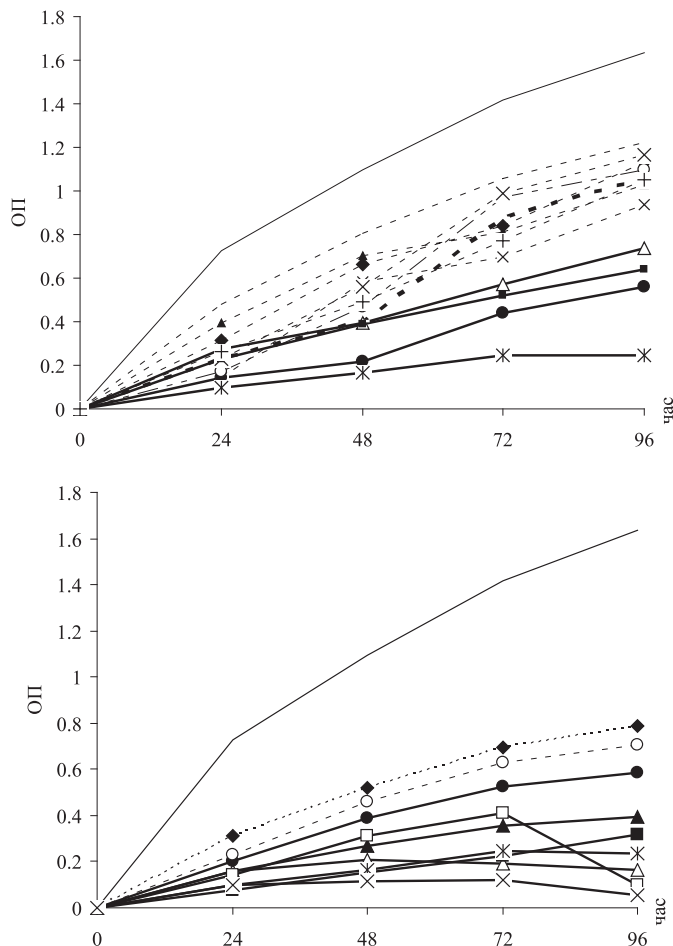


Рис. 4. Динамика роста культур клеток. А – Обработанные препаратами клетки аденокарцином: (-) контроль, УД; (○) 5-ФУ, НД; (□) 5-ФУ, УД; (△) 5-ФУ, ВД; (◇) ЦП, НД; (◇) ЦП, УД; (◇) ЦП, ВД; (◇) ТД, НД; (◇) ТД, УД; (◇) ТД, ВД; (◇) ЛВ, НД; (◇) ЛВ, УД; (◇) ЛВ, ВД.

Б – Обработанные комбинациями противоопухолевых препаратов клетки аденокарцином: (-) контроль, УД; (○) 5-ФУ+ЛВ, НД; (□) 5-ФУ+ЛВ, УД; (△) 5-ФУ+ЛВ, ВД; (◇) ЦП+ЛВ, НД; (◇) ЦП+ЛВ, УД; (◇) ЦП+ЛВ, ВД; (◇) ТД+ЛВ, НД; (◇) ТД+ЛВ, УД; (◇) ТД+ЛВ, ВД.

четкие закономерности хромосомной и геномной нестабильности в культурах клеток аденокарцином разных гистологических морфотипов, так как по результатам исследований генетически детерминированных характеристик Loeb с соавт. [9] установил, что клетки разных вариантов одной гистологической формы КРР не обязательно идентичны. Определенные тенденции изменения цитологических характеристик можно соотнести с клиническими данными. Например, прогноз адьювантной терапии плохой у больных, в клетках аденокарцином которых комбинация 5-ФУ с ЛВ стимулирует хромосомную и геномную нестабильности, а также колониобразующую активность клеток. Гепатотоксическая реакция на 5-ФУ имела место у "3" и "8" больных, клетки которых чувствительны к мутагенному, цитостатическому и цитотоксическому действию 5-ФУ, а также ТД и ЦП. Исследования Kandutschа [17] показали, что поражение печени 5-ФУ и ЦП у 30% больных обусловлено высоким уровнем образования свободных кислородных радикалов в клетках.

Неоднозначные ответы получены при исследовании влияния противоопухолевых препаратов на колониобразующую активность и динамику роста культур клеток, полученных из аденокарцином "4", "6" и "9" больных. Противоречия результатов этих двух тестов, возможно, обусловлены присутствием клеток с разным уровнем экспрессии тумор-ассоциированных белков [18]. Кроме того, фактором, определяющим конечный результат, может быть продолжительность эксперимента. Длительная инкубация клеток, как правило, сопровождается стрессом, вызванным закислением среды, голоданием, гипоксией. Химические соединения с цитостатической и мутагенной активностью также относятся к стрессорным факторам.

Deisboeck [7] установил, что в условиях продолжительного стресса опухолевые клетки образуют как монослои, так и шарообразные структуры или сфероиды. Количество клеток, образующих сфероиды, достигает 2%. Клон, образованный клеткой сфероиды, на 90% состо-

ит из потомков, которые сохраняют способность формировать сфериды. В отличие от клеток с субстрат-зависимым ростом, клетки сфериды более резистентны к 5-ФУ, ЦП и алкилирующим соединениям, а инактивирование генов ММР системы или ингибирование их экспрессии вызывают толерантность к повреждению ДНК [7, 19] и мутаторный фенотип [9].

Анализ современных исследований процесса канцерогенеза показал, что, причинами неоднозначных оценок тестирования пролиферативной и колониобразующей активностей, с большой вероятностью, являются индивидуальные молекулярно-генетические характеристики опухолевых клеток. Для подтверждения этого предположения требуется проведение дальнейших исследований.

Таким образом, исследования фенотипических и цитологических характеристик, оценка *in vitro* чувствительности к действию противоопухолевых препаратов клеток аденокарцином различных гистологических морфотипов являются перспективным направлением работ, цель которых заключается в повышении эффективности химиотерапии КРР. Разный уровень инвазивности, присутствие стволовых клеток, отсутствие искусственной иммортализации, трансформации и репрезентативность клеткам опухолевой ткани стали основными аргументами при выборе первичных культур клеток аденокарцином в качестве тест-объекта. Модель скрининга цитотоксического действия противоопухолевых препаратов с использованием первичных культур клеток позволяет апробировать комбинацию химиопрепаратов, оптимально эффективную для подавления роста и развития опухоли, так как клетки аденокарцином с разной степенью дифференциации различаются по чувствительности к лекарственным препаратам с разным механизмом действия. Результаты работы показали, что тестирование первичных культур клеток может скорректировать химиотерапию онкологических больных, повысить ее эффективность, снизить или исключить осложнения, вызванные токсическим действием лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson, E.C. The role of colorectal cancer stem cells in metastatic disease and therapeutic response / E.C. Anderson, C. Hessman, T.G. Levin, et al. // *Cancers*. – 2011. – V. 3, N 1. – P. 319-339.
2. Naishadham, D. State disparities in colorectal cancer mortality patterns in the United States // D. Naishadham, I. Lansdorp-Vogelaar, R. Siegel, et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2011. – V. 20, N 7. – P. 1296–1302.
3. Knox, S.S. From 'omics' to complex disease: a systems biology approach to gene-environment interactions in cancer / S.S. Knox // *Cancer Cell*. – Int. – 2010. – V. 10.
4. Freshney, R.I. Culture of epithelial cells / R.I. Freshney, M.J. Freshney // – Glasgow: Wiley-Liss, 2002. – 461pp.
5. Hungerford, P.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl / P.A. Hungerford // *Stain Techn.* – 1965. – V.40. – P. 333-338.
6. DiPersio, J.F. Human cell lines that elaborate colony-stimulating activity for the marrow cells of man and other species / J.F. DiPersio, J.K. Brennan, M.A. Lichtman // *Exp. Hematol.* – 1978. – V. 6, N 8. – P. 661-672.
7. Deisboeck, T.S. Pattern of self-organization in tumour systems: complex growth dynamics in a novel brain tumour spheroid model / T.S. Deisboeck, M.E. Berens, A.R. Kansal et al. // *Cell. Prolif.* – 2001. – V. 34, N 1. – P. 115-134.
8. Bartov, E. A simple technique for isolating pure cell populations from mixed primary cultures / E. Bartov, J.A. Jerdan, B.M. Glaser // *J. Tissue Culture Methods*. – 1988. – V. 11, N 4. – P. 181-183.
9. Loeb, L.A. Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications / L.A. Loeb, J.H. Bielas, R.A. Beckman // *Cancer Res.* – 2008. – V. 68, N 10. – P. 3551-3557.
10. Wang, W. Mechanisms of acquired chemoresistance to 5-Fluorouracil and tomudex: thymidylate synthase dependent and independent networks / W. Wang, H.L. McLeod, J. Cassidy, E.S.R. Collier-Duguid // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2007. V. 59. – P. 839-845.
11. Siddik, Z.H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance / Z.H. Siddik // *Oncogene*. – 2003. – V. 22. – P. 7265-7279.
12. Hind, D. The use of irinotecan, oxaliplatin and raltitrexed for the treatment of advanced colorectal cancer: systematic review and economic evaluation / D. Hind, P. Tappenden, I. Tumur, et al. // *Health Technol. Assessm.* – 2008. – V. 12, N 15. – 198 pp.
13. Loeb, L.A. Multiple mutations and cancer / L.A. Loeb, K.R. Loeb, J.P. Anderson // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2003. – V. 100, N 3. – P. 776–781.
14. Pastor, D.M. Primary cell lines: false representation or model system? A comparison of four human colorectal tumors and their coordinately established cell lines / D.M. Pastor, L.S. Poritz, T.L. Olson et al. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2010. – V. 3, N 1. – P. 69-83.

15. Shah, S.N. Defective mismatch repair, microsatellite mutation bias, and variability in clinical cancer phenotypes / S.N. Shah, S.E. Hile, K.A. Eckert. // *Cancer Res.* – 2010. – V. 70, N 2. – P. 431-435.

16. Wang, W. Mechanisms of acquired chemoresistance to 5-fluorouracil and tomudex: thymidylate synthase dependent and independent networks / W. Wang, H.L. McLeod, J. Cassidy, et al. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2007. – V. 59. – P. 839-845

17. Kandutsch, S. Patterns of hepatotoxicity after chemotherapy for colorectal cancer liver metastases / S. Kandutsch, M. Klinger, S. Hacker, et al. // *Europ. J. Surg. Oncol. (EJSO)*. – 2008. – V. 34, N 11. – P. 1231-1236.

18. Zou, J. Proteome of human colon cancer stem cells: A comparative analysis / J. Zou, X.F. Yu, Z.J. Bao, J. Dong // *World J. Gastroenterol.* – 2011. – V. 14, N 10. – P. 1276-1285.

19. Man, F.G. Gene expression analysis of tumor spheroids reveals a role for suppressed DNA mismatch repair in multicellular resistance to alkylating agents / F.G. Man, S. B. Teicher, L. Grasso, R.S. Kerbel // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – V. 24, N 15. – P. 6837-6849.

Chereshnev V.A., Golyasnaya N.V.,
Chereshneva M.A., Zhizgin N.K.

TUMOR CELLS – TEST-OBJECT FOR EMPIRICAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF ANTICANCER THERAPY OF COLORECTAL CANCER

Abstract. A comparative assessment of the dynamics of cell growth, proliferative and colony-forming activities, as well as chromosomal and genomic instability in cell cultures obtained from intra-operative samples of colorectal cancer patients carried out in our study. It was shown that cells with different cytogenetic characteristics have individual sensitivity both to 5-fluorouracil, cisplatin, tomudex, leucovorin, and to combinations of cytotoxic drug with immunomodulator.

Key words: colorectal cancer, primary cell lines

Авторская справка

Черешнев Валерий Александрович

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; доктор медицинских наук, профессор, Академик Российской академии наук, академик Российской академии медицинских наук e-mail: v.chereshnev@iip.uran.ru

Голясная Надежда Викторовна

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; кандидат биологических наук, научный сотрудник e-mail: goljasnaja@mail.ru

Черешнева Маргарита Владимировна

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник e-mail: mchereshneva@mail.ru

Жижин Никита Кириллович

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, аспирант, врач-колопроктолог хирургического отделения Центральной поликлиники № 1 МВД России. e-mail: gigin2000@mail.ru

Россия, 613081, Пермь, ул. Голева, 13 ИЗГМ УрО РАН

Auhors

Chereshnev Valerij A.

Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch Russia Academy of Sciences
Goljasnaja Nadegda V.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russia Academy of Sciences

Chereshneva Margarita V.

Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch Russia Academy of Sciences
Gigin Nikita K.

Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch Russia Academy of Sciences

Russia, 614081, Perm Goleva Str. IEGM UB RAS

КОРРЕКЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МИЕЛОИДНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ У СТАРЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Уральская Государственная Медицинская Академия Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия; Государственное Учреждение Здравоохранения Свердловской области «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия; Свердловский областной клинический психо-неврологический госпиталь для ветеранов войн, г. Екатеринбург, Россия; Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии, г. Минск, Беларусь

Резюме. Задачей исследования было оценить регенерацию миелоидной ткани у животных зрелого и старого возраста при введении аминокислоты аргинин, которая, с одной стороны, влияет на процессы пролиферации и дифференцировки тканей, а с другой стороны, является источником оксида азота, повышающего прямо и косвенно тонус периферической стресс лимитирующей системы. Получено, что в условиях острой кровопотери у старых лабораторных животных выявлено повышение активности эритропоэза. Этот эффект более выраженный по сравнению с физиологическими условиями и реализуется за счет увеличения содержания эритробластов и полихроматофильных нормобластов. У зрелых лабораторных животных отмечен эффект на отдельные элементы эритроидного и гранулоцитарного дифферона. В то же время не происходит значимой активации эритропоэза и гранулоцитопоэза.

Ключевые слова: аргинин, пролиферация, кровопотеря, миелоидная ткань, старение

Поддержание активной регенерации тканей в условиях возрастной инволюции является важным условием сохранения тканевого гомеостаза. При этом представляется перспективным поиск факторов, способных увеличить репаративный потенциал клеток. Известно, что с возрастом в организме развивается генерализованный G1-S блок, ограничивающий тканевую регенерацию [2, 3]. Следует заметить, что с возрастом происходит снижение выработки соматотропного гормона (СТГ) и его посредника инсулин подобного фактора роста -1 (ИПФР-1), что также имеет отношение к снижению тканевой регенерации, особенно в экстремальных условиях [5].

Между тем, возможность повлиять на тканевую регенерацию в этих условиях нельзя признать бесперспективной. Так, проведенные ранее исследования на кафедрах патологической физиологии и биохимии ГОУ ВПО УГМА показали, что аминокислота аргинин при длительном введении обладает способностью поддерживать регенерацию тканей в условиях возрастной инволюции [6].

Задачей нашего исследования было оценить регенерацию миелоидной ткани у животных зрелого и старого возраста при введении аминокислоты аргинин, которая, с одной стороны, влияет на процессы пролиферации и дифференцировки тканей, а с другой стороны, является источником оксида азота, повышающего прямо и косвенно тонус периферической стресс лимитирующей системы [8].

Материалы и методы.

Эксперименты выполнены на 36 белых лабораторных мышах самца линии СВА, возраста 5 месяцев, массой 30 г. и 36 мышах самцах возраста 18 месяцев, массой 60 г.

Зрелые и старые лабораторные животные были разделены на четыре группы. Первая группа (интактные животные, контрольная группа) – лабораторные животные, не подвергшиеся воздействию экстремального фактора. Этим группам животных осуществлялось введение раствора хлорида натрия 0,9 % 0,5 мл (per os). Вторая группа (опытная подгруппа) – лабораторные животные, которым в физиологических условиях производилось введение исследуемого препарата – аргинин в дозе 4,2 мг/кг. Третья группа (контрольная подгруппа) – лабораторные животные, с моделированной острой постгеморрагической анемией. Массивную кровопотерю вызывали кровопусканием из хвостовой вены лабораторной мыши в объеме 2 % от массы тела, что составляет 25 – 35 % от объема циркулирующей крови. Четвертая группа (опытная подгруппа) – лабораторные животные, которым в условиях острой кровопотери производилось введение (per os) исследуемого препарата – аргинин в дозе 4,2 мг/кг (таблица 1). Введение аргинина производилось через 1 час после острой кровопотери и продолжалось ежедневно в течение 5 суток. Забор периферической крови и аутопсия костного мозга осуществлялись на 5 сутки после введения аргинина.

Таблица 1

Распределение животных по сериям экспериментов

	Условия	Препарат	Путь введения	Доза препарата	Время проведения аутопсии костного мозга и периферической крови – 5 сут.
зрелые	Физиол.	Аргинин	per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.
		NaCl	per os	0,4 мл	9 шт.
	Острая кровопотеря	Аргинин	per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.
		NaCl	per os	0,5 мл	9 шт.
старые	Физиол.	Аргинин	per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.
		NaCl	per os	0,5 мл	9 шт.
	Острая кровопотеря	Аргинин	per os	4,2 мг/кг в 0,4 мл физ. раствора	9 шт.
		NaCl	per os	0,4 мл	9 шт.

Кровь для исследования брали у мышей из хвостовой вены. Мазки костного мозга окрашивали по Нохту. Подсчет миелогаммы производили на 500 клеток. Определяли общее количество миелоцитов в костном мозге бедренной кости. Цитологические препараты костного мозга и периферической крови анализировались с помощью микроскопа Micros MC - 50 (Австрия) при увеличении 100^x15. Для каждого ряда значений показателя вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку среднего. Достоверность отличий оценивали с помощью *t* – критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при *p* < 0,05.

Результаты исследования.

При анализе миелогаммы зрелых лабораторных животных на 5 сутки после острой кровопотери на фоне введения аргинина в гранулоцитарном диффероне отмечено достоверное увеличение пролиферирующих элементов этого ростка: промиелоцитов и миелоцитов соответственно на 41 % и 49 %. В эритроидном ростке установлено увеличение содержания базофильных нормобластов на 33,10 % по сравнению с интактными животными. При анализе миелогаммы старых лабораторных животных на фоне введения аргинина в эритроидном ростке отмечено существенное увеличение содержания полихроматофильных элементов изучаемого ростка. Это привело к увеличению общего содержания эритроидных элементов в костном мозге на 39 % и стимуляции, таким образом, эритропоэза (таблица 2).

В периферической крови зрелых животных после введения аргинина содержание изучаемых показателей существенно не отличалось от контроля, тогда как у старых животных установлено повышение содержания ретикулоцитов на 17 % по сравнению с контролем (таблица 3).

При анализе миелогаммы зрелых лабораторных животных на 5 сутки после острой кровопотери на фоне введения аргинина установлено увеличение содержания отдельных элементов гранулоцитарного ростка: миелоцитов и метамиелоцитов относительно контрольной подгруппы, что свидетельствует о стимулирующем эффекте аргинина на образование этих элементов. В эритроидном ростке на фоне введения аргинина отмечено увеличение содержания полихроматофильных нормобластов по сравнению с контрольной подгруппой. При анализе миелогаммы старых лабораторных животных на 5 сутки после острой кровопотери на фоне введения аргинина установлено достоверное увеличение содержания эритробластов и полихроматофильных нормобластов, общее содержание эритроидных элементов было существенно выше, чем в кон-

Таблица 2

Содержание клеток костного мозга лабораторных мышей на 5 сутки на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток (млн. кл/бедро)	
		Зрелые	Старые
Миелокарициты (общее число)		12,94±0,50	10,90±0,80
Нейтрофильные клетки	миелобласты	0,21±0,03	0,08±0,04
	промиелоциты	0,21±0,03*	0,07±0,03
	миелоциты	0,30±0,05*	0,1±0,03
	метамиелоциты	0,66±0,05	0,35±0,0
палочкоядерные и сегментоядерные		5,77±0,44	5,12±0,34
Эозинофилы (всех генераций)		0,18±0,04	0,12±0,02
Все гранулоцитарные элементы		7,33±0,52	5,84±0,38
Эритробласты		0,03±0,01	0,04±0,02
Нормобласты	базофильные	0,64±0,07*	0,30±0,05
	полихроматофильные	1,51±0,08	1,37±0,23°
	оксифильные	0,15±0,06	0,02±0,01
Все эритроидные элементы		2,34±0,06	1,72±0,28°
Лимфоциты		2,99±0,39	2,83±0,31
Прочие		0,28±0,04	0,28±0,04
Индекс созревания нейтрофилов		0,24±0,02	0,12±0,02
Индекс созревания эритронормобластов		0,77±0,03	0,80±0,03
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		3,15±0,25	3,51±0,48

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 3

Показатели периферической крови лабораторных мышей на 5 сутки на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

	Ретикулоциты (Г/л)	Лейкоциты (общее содержание)	Гранулоциты (Г/л)	Лимфоциты (Г/л)	Моноциты (Г/л)
зрелые	130,83±6,50	12,07±1,03	2,67±0,25	8,57±0,87	0,47±0,04
старые	126,67±7,67°	9,37±0,80	2,39±0,25	6,13±0,93	0,38±0,07

Примечание: ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

трольной подгруппе (таблица 4).

При анализе показателей периферической крови зрелых лабораторных животных установлено отсутствие существенных различий в содержании изучаемых элементов между опытной и контрольной подгруппами, тогда как у старых животных выявлено увеличение содержания ретикулоцитов по сравнению с контрольной подгруппой (таблица 5).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии эффекта от введения аргинина у зрелых и старых лабораторных животных в физиологических условиях и при острой кровопотере. В физиологических условиях эффект более выражен у старых лабораторных животных, при этом установлена активация эритропоэза за счет увеличения содержания полихроматофильных нормобластов, при отсутствии эффекта от аргинина на гранулоцитарный росток. У зрелых лабораторных животных происходит увеличение отдельных элементов гранулоцитарного ростка и отдельных элементов эритроидного дифферона. Однако не происходит существенной активации эритропоэза и гранулоцитопоэза.

В условиях острой кровопотери у старых лабораторных животных выявлено повышение активности эритропоэза. Этот эффект более выраженный по сравнению с физиологическими условиями и реализуется за счет увеличения содержания эритробластов и полихроматофильных нормобластов. У зрелых лабораторных животных отмечен эффект на отдельные элементы эритроидного и гранулоцитарного дифферона. В то же время не происходит значимой активации эритропоэза и гранулоцитопоэза.

Выявленные различия воздействия аргинина на гемопоэз могут быть объяснены разными механизмами действия аргинина на организм лабораторных животных. Нам представляются разные механизмы действия аргинина в физиологических условиях и в условиях воздействия острой кровопотери.

В физиологических условиях аргинин реализует свое действие через усиление образования СТГ, активацию фермента орнитин-

Таблица 4

Содержание клеток костного мозга в бедренной кости лабораторных мышей на 5 сутки после острой кровопотери на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток (млн. кл/бедро)	
		Зрелые	Старые
Миелокарициты (общее число)		13,40±1,10	9,65±0,53
Нейтрофильные клетки	миелобласты	0,15±0,04	0,04±0,02
	промиелоциты	0,12±0,03	0,03±0,02
	миелоциты	0,25±0,02**	0,08±0,02
	метамиелоциты	0,55±0,04***	0,28±0,04
	палочкоядерные и сегментоядерные	5,27±0,57	3,47±0,77
Эозинофилы (всех генераций)		0,14±0,04	0,14±0,02
Все гранулоцитарные элементы		6,49±0,54	4,04±0,75
Эритробласты		0,04±0,006*	0,09±0,032°
Нормобласты	базофильные	0,61±0,09*	0,36±0,04°
	полихроматофильные	2,72±0,15***	2,25±0,37°
	оксифильные	0,07±0,03	0,03±0,01
Все эритроидные элементы		3,44±0,14*	2,73±0,35°
Лимфоциты		3,21±0,52	2,62±0,25
Прочие		0,27±0,05	0,31±0,07
Индекс созревания нейтрофилов		0,21±0,02	0,14±0,03
Индекс созревания эритронормобластов		0,78±0,03	0,83±0,03
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		1,89±0,13*	1,51±0,30

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ** отличие от зрелых животных после острой кровопотери (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; °° отличие от старых животных после острой кровопотери (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 5

Показатели периферической крови лабораторных мышей на 5 сутки после острой кровопотери на фоне введения аргинина, $M \pm m$, $n = 9$

	Ретикулоциты (Г/л)	Лейкоциты (общее содержание)	Гранулоциты (Г/л)	Лимфоциты (Г/л)	Моноциты (Г/л)
Зрелые	273,67±13,33*	12,42±0,68	3,24±0,30	8,18±0,42	0,46±0,08
Старые	152,33±8,67°	8,98±0,55	2,50±0,44	5,85±0,62	0,37±0,05

Примечание: * отличие от группы зрелых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; ° отличие от группы старых интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$; °° отличие от подгруппы старых интактных животных после острой кровопотери (контрольная подгруппа), достоверно с $p < 0,05$.

декарбоксилаза, что индуцирует образование полиаминов: спермидин и спермин. Полиамины через повышение митотической активности пролиферирующих элементов гранулоцитарного и эритроидного ростков могут приводить к увеличению их содержания в зрелом и старом организме.

В условиях воздействия повреждающего фактора нам представляется другой механизм действия аргинина, что и определяет существенно более выраженный эффект препарата на организм старых лабораторных животных относительно зрелого организма.

Доказано, что при старении организма по мере увеличения количества совершенных клеткой митотических делений вследствие «проблемы недорепликации концов линейной молекулы ДНК» происходит укорочение теломера и высвобождение связанных с теломерами белков (RAP1 и др.) [4, 7, 11].

В свою очередь высвобождение теломерных белков при укорочении теломера способно активировать транскрипционный фактор NF-κB. Известно, что активация фактора NF-κB обеспечивает выживание клетки в экстремальных условиях: экспрессию белков угнетающих апоптоз (Bcl-2 и др.), повышение антиоксидантной активности клетки через повышение активности марганцевой супероксиддисмутазы, увеличение экспрессии циклина D1 активирующего вступление клетки в фазу G1 клеточного цикла [9, 12].

Введение аргинина зрелым и старым лабораторным животным через образование оксида азота (NO) способно активировать транскрипционный фактор NF-κB, который в свою очередь повы-

шает жизнеспособность клеток. Следует отметить наличие дополнительного механизма в действии аргинина на организм старых лабораторных животных, благодаря которому достигается повышение жизнеспособности клеток миелоидной ткани. Этот механизм реализуется за счет усиления образования цитопротекторных белков теплового шока HSP70, которые, как известно, являются важной системой защиты клеток от стрессовых повреждений. HSP70, повышая устойчивость теломерных белков, могут дополнительно активировать транскрипционный фактор NF- κ B и повышать, таким образом дополнительно жизнеспособность клеток миелоидной ткани [1, 10].

Возможно, указанные изменения и определяют более выраженный эффект аргинина на восстановление кроветворения у старых лабораторных животных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гольдберг Е.Д. Гипоксия и система крови / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, Г.Н. Зюзьков // Томск, 2006.
2. Донцов В.И. Фундаментальные механизмы старения: возможности для оценки «истинного возраста» человека и влияния на него / В.И. Донцов // Профилактика старения. – 2000. – Выпуск 3.
3. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей / А.А. Кишкун // М., 2008. – 976 с.
4. Королькова Т.Н. Современные теории старения // Вестн. дерматол. венерол. – 2001. - № 5. – С. 15-22.
5. Кухарчук А.Л. Регенеративная медицина: Направления, достижения, проблемы и перспективы развития. Часть II: Стволовые пространства / А.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман // Украинский медицинский часопис. – 2004. - №3 (41) – V-VI. – С. 99-107.
6. Мещанинов В.Н. Воздействие перекисного окисления липидов на процессы возрастной инволюции пациентов разного возраста при полиорганной патологии и в условиях коррекции / В.Н. Мещанинов, А.П. Ястребов, С.И. Спектор // Биохимия: от исследования молекулярных механизмов – до внедрения в клиническую практику и производство. – Материалы межрегиональной конференции биохимиков Урала, Западной Сибири и Поволжья. – Оренбург. – 2003. – С.15-28.
7. Муханкин А.И. Причина старения / А.И. Муханкин // Сборник «Лекции по актуальным вопросам медицины», РГМУ, Москва. – 2002. - С. 124-131.
8. Степанов Ю.М. Аргинин в медицинской практике / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина, А. Ю. Филиппова // АМН України, 2004. - т. 10. - № 1. – С. 340–352 УДК 547.495.9:615.244.
9. Brugs et al. Low Circulating IGF-I Bioactivity in Elderly Men is Associated with Increased Mortality. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2008; DOI: 10.1210/jc.2007-1633
10. Bartke A., Brown-Borg H., Mattison J. et al. Prolonged longevity of hypopituitary mice // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 21-28.
11. Coschigano et al., Endocrinology. 2000, 141(7): 2608-2613
12. Direct Inhibition of the Longevity-Promoting Factor SKN-1 by Insulin-like Signaling in *C. elegans* Tullet JMA, Hertweck MT, An JH, Baker J, Hwang JY, Liu S, Oliveira RP, Baumeister R, and Blackwell TK Cell, Vol 132, 1025-1038, 21 March 2008

Yastrebov A. P., Grebnev D. Ju., Maklakova I. Ju.

CORRECTION OF MYELOID TISSUE REGENERATION AFTER ACUTE BLOOD LOSS IN OLD EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract. The objective of the research was to evaluate regeneration of myeloid tissue in the animals of mature and old age after the introduction of arginine amino acid, which from one side influences the process of proliferation and differentiation of tissues, and from the other side it's a resource of nitrogen oxide directly and indirectly increases peripheral stress limit system. It's found out that under the condition of acute blood loss in old laboratory animals the activeness of erythropoiesis is increased. This effect is more pronounced in comparison with physiological conditions and it's realized due to increase of erythroblasts and polychromatophilic norm oblasts content. In the mature laboratory animals the influence on erythroid and granulocyte different is noted. At the same time there is no considerable activation of erythropoiesis and granulocytogenesis.

Key words: arginine, proliferation, blood loss, myeloid tissue, ageing.

Авторская справка

Ястребов Анатолий Петрович
Гребнев Дмитрий Юрьевич
Маклакова Ирина Юрьевна
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Уральская Государственная Медицинская Академия Минздрава России.
Россия, г. Екатеринбург ул. Блюхера д. 63 А 76
e-mail: Dr-grebnev77@mail.ru

Autors

Yastrebov Anatoly Petrovich
Grebnev Dmitry Jurevich
Maklakova Irina Jurevna
The State Budget Educational Establishment of Higher Professional Education The
Ural State Medical Academy Ministry of Social Development and Health Care in
Russia.
Russia, Yekaterinburg, Blucher St. 63 A 76
e-mail: Dr-grebnev77@mail.ru

Крушинин М.В.
**ОПТИМИЗАЦИЯ РЕГИОНАРНОЙ АНЕСТЕЗИИ
 В АМБУЛАТОРНОЙ ХИРУРГИИ КАТАРАКТЫ**

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В статье приведены различные методики анестезии, применяемые в хирургии катаракты. По результатам исследования оптимальным способом анестезии является перibuльбарный блок.

Ключевые слова: катаракта, анестезия, перibuльбарный блок, ретробульбарный блок.

Актуальность

Интенсификация жизни в современном обществе выдвигает высокие требования к зрительным функциям, что обуславливает рост числа хирургических вмешательств в офтальмологии. Это требует внедрения не только высокоэффективных методов хирургического лечения, но и выдвигает новые требования к анестезиологическому пособию, обеспечивающему быструю реабилитацию пациентов [2]. Идеальная анестезия должна не только обеспечивать хороший анагетический эффект, обладать продолжительным действием, не вызывать побочных реакций и функционально-органических изменений, но еще и предотвращать развитие воспаления в результате операционной травмы. Основным контингентом больных в клинике глазных болезней являются пожилые люди. У пожилых больных имеют место изменения основного обмена, снижение компенсаторных возможностей сердечно-легочной системы, а также функции печени и почек [3].

Большинство оперативных вмешательств не требуют анестезиологического пособия с использованием ИВЛ и миорелаксантов, так как удается обеспечить достаточную анестезию с помощью внутривенных анестетиков в сочетании с местной анестезией.

С появлением и внедрением в практику малоинвазивных технологий хирургии катаракты, амбулаторной хирургии, широкое распространение получила местная анестезия, которая обычно сочетает поверхностную анестезию закапыванием в конъюнктивальный мешок местного анестетика с последующей инфильтрационной анестезией подкожных и субконъюнктивальных областей и при необходимости ретробульбарной проводниковой анестезией. Традиционно все эти процедуры выполняют хирурги.

Цель

Выбрать оптимальную методику регионарной анестезии в амбулаторной хирургии катаракты.

Материалы и методы

Проанализировано 80 пациентов (80 глаз). Больные были распределены в 2 группы, в зависимости от метода регионарной анестезии.

Первая группа (контрольная) 40 пациентов (40 глаз), возраст пациентов 57- 76 лет (средний возраст 67 лет), среди больных было 22 женщины и 18 мужчин. Пациентам была выполнена ультразвуковая факоэмульсификация (ФЭК) с имплантацией эластичных интраокулярных линз (ИОЛ). В качестве метода обезболивания была выбрана регионарная анестезия – ретробульбарная блокада. Использовался местный анестетик 2% Лидокаин.

Вторая группа (основная) 40 пациентов (40 глаз), среди больных было 27 женщин и 13 мужчин в возрасте – от 50 до 78 лет (средний возраст 69 лет). Пациентам была выполнена ФЭК с имплантацией ИОЛ. Регионарная анестезия – перibuльбарный блок с применением 2% Лидокаина.

Для оценки степени болевых ощущений в ходе операции и в раннем послеоперационном периоде проводился анализ объективных данных (артериальное давление, пульс, частота дыхания), а также учитывались субъективные показатели путем расспроса пациентов.

Для оценки анальгезии использовалась словесная двенадцатипятибалльная рейтинговая шкала, где 0 – означает отсутствие болей, а 12 – непереносимую боль. Оценивалось время наступления и продолжительность сенсорной и моторной блокады.

Виды регионарной анестезии в офтальмохирургии:

- Ретробульбарный блок
- Перibuльбарный блок

Ретробульбарная блокада. В соответствии с этой методикой, местный анестетик вводят за глазное яблоко в конус, образуемый глазодвигательными мышцами. Используют иглу калибра 25G. Вкол делают в

нижнее веко на границе средней и латеральной трети глазницы (обычно 0,5 см медиальнее латерального угла глазной щели). Больного просят смотреть вверх, выше кончика носа, и иглу продвигают на 3,5см по направлению к верхушке мышечного конуса. Исключив внутрисосудистое расположение иглы с помощью аспирационной пробы, вводят 2-5 мл местного анестетика, после чего иглу удаляют. Из анестетиков чаще всего используют лидокаин 2%. Если ретробульбарная блокада успешна, то она обеспечивает анестезию, акинезию (неподвижность глазного яблока) и устраняет окулоцефалический рефлекс (т.е. поворот головы больного не сопровождается движением глазного яблока).

Перibuльбарная блокада. Наиболее популярной методикой в настоящее время является перibuльбарный блок. Он в значительной мере потеснил ретробульбарный блок и общую анестезию при многих глазных операциях [1].

Способ осуществляют следующим образом: обрабатывают операционное поле, устанавливают блефаростат. Производят разрез конъюнктивы, теноновой оболочки в 6мм от лимба в нижневнутреннем углу длиной 3-4 мм, формируют тупым путем канал к заднему полюсу, затем вводят тупоконечную канюлю за глазное яблоко и вводят 2 мл раствора. При этом не должно быть большого сопротивления. Если имеется сопротивление, то кончик иглы может быть в одной из наружных мышц глаза и положение его должно быть несколько изменено. Во время инъекции нижнее веко может наполниться анестетиком и появиться некоторая отечность конъюнктивы.

Возможные осложнения регионарной анестезии:

Осложнения блокады включают ретробульбарное кровоизлияние, перфорацию глазного яблока, атрофию зрительного нерва, судороги, окулокардиальный рефлекс, апноэ. При форсированном введении местного анестетика в глазную артерию направление тока крови в ней меняется на противоположное, препарат очень быстро поступает в мозг, что может мгновенно вызвать судороги. Синдром апноэ после ретробульбарной блокады вероятнее всего обусловлен инъекцией местного анестетика внутрь оболочки зрительного с последующим распространением в ЦСЖ. Воздействие высокой концентрации местного анестетика на ЦНС проявляется страхом и утратой сознания. Апноэ развивается в течение 20 мин и разрешается через час. На протяжении этого периода проводят поддерживающее лечение, в первую очередь ИВЛ. Это тяжелое осложнение диктует необходимость самого тщательного мониторинга дыхания при блокаде.

Противопоказания к блокаде: нарушения свертываемости (высокий риск ретробульбарной гематомы), выраженная миопия (глазное яблоко очень выпянуто, что чревато перфорацией), нарушение целостности наружных оболочек глазного яблока (давление, создаваемое раствором анестетика, может привести к вытеснению содержимого глазного яблока через дефект оболочки вовне).

Результаты

В основной и контрольной группах выраженных болевых ощущений отмечено не было. В основной группе степень выраженности болевых ощущений - 0 баллов, в контрольной от 0 до 3 баллов (по результатам опроса пациентов).

В основной группе отмечено более быстрое действие анестетика, в среднем 5-8 мин (связано с непосредственным введением препарата к цилиарному ганглию).

Продолжительность анестезии в обеих группах 3,5 ч, что обусловлено выбором анестетика (2% Лидокаин) и его продолжительностью действия.

В проанализированных группах не было получено таких осложнений как ретробульбарная гематома и перфорация глазного яблока. По наблюдениям нашей клиники частота осложнений при ретробульбарном блоке составляет 0,5% - ретробульбарная гематома, 0,1% - перфорация глазного яблока.

Нарушений со стороны сердечнососудистой и дыхательной систем отмечено не было.

Выводы.

Регионарная анестезия обеспечивает большую защиту от хирургического стресса. Кроме того, она обеспечивает хорошую акинезию и ане-

стегию, оказывает минимальное влияние на внутриглазное давление.

Перибульбарный блок не уступает в эффективности ретробульбарному блоку.

Применение перибульбарного блока полностью исключает такие осложнения, как перфорация глазного яблока и ретробульбарная гематома и позволяет применять регионарную анестезию при нарушении свертываемости крови и миопии высокой степени.

Техника перибульбарного блока требует минимум оборудования, можно рекомендовать к использованию в хирургическом стационаре кратковременного пребывания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тахчиди Х.П., Сахнов С.Н., Мясникова В.В., Галенко-Ярошевский П.А. «Анестезия в офтальмологии: Руководство» - МИА – 2007г.

2. Бакунина Н.А., Иванов И.Л. Рациональный метод местной анестезии в офтальмологии // Всерос. научно-практ. конф. «Федоровские чтения-2009», 8-я: Сб. тез.– М., 2009

3. Бондарева И. Б. Особенности анестезиологического пособия у лиц пожилого и старческого возраста с тяжелой сопутствующей патологией в практике хирургической офтальмологии // Актуальные проблемы анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии. Материалы научной конференции. Под редакцией В.И. Страшнова. Санкт-Петербург, 2001, стр. 6 – 11

Krushinin M. V.

OPTIMIZATION OF REGIONAL ANESTHESIA IN AMBULATORY SURGERY OF CATARACT

Abstract. The article describes the various methods of anesthesia used in cataract surgery. According to research the best way anesthesia is peribulbarny block.

Key words: cataract, anesthesia, peribulbarny block, retrobulbar block.

Авторская справка

Крушинин Максим Валерьевич

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург
Российская федерация 620102, г.Екатеринбург, ул. Волгоградская, 185
e-mail: kmv96@e1.ru

Author

Krushinin Maksim V.

State Health Care Institution «Sverdlovsk Regional Clinical Hospital № 1»
Ekaterinburg Russian Federation
Russian Federation 620 102, Ekaterinburg, ul. Volgograd, 185

УДК 616.155.392:616-006.61:575

Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С.,

Яковлева Ю.А., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОСТРУЙНЫХ БИОЧИПОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И КОЛИЧЕСТВА РНК У ПАЦИЕНТОВ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ И ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, г. Екатеринбург, Россия;

ГБУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Россия;

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Для анализа экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) или на биологических чипах важным фактором является использование интактной РНК. В ходе работы нами проведена оценка использования биоанализатора *Agilent 2100* для качественной и количественной характеристики РНК, выделенной из 496 образцов костного мозга (КМ), взятых от 174 пациентов и 124 образцов периферической крови (ПК) от 124 пациентов с различными онкологическими и онкогематологическими заболеваниями и 34 человек контрольной группы. Нами была показана высокая степень воспроизводимости измерений концентрации РНК и показателя целостности РНК (RNA integrity number-RIN). Величина коэффициента вариации в первом случае не превышала 13,9%, и 4,1% – во втором. Проведенное нами исследование показало, что тип исходного анализируемого материала (ПК или КМ) и нозологическая форма не оказывали значимого влияния на целостность РНК при её унифицированном выделении с использованием метода Хомчинского. В ходе проведения ПЦР в режиме реального времени (ПРЦ-РВ) было выявлено 442 (71,3%) образца удовлетворительного качества (пороговый цикл при амплификации фрагмента гена *ABL* – менее 30) с величиной показателя целостности РНК от 3,3 до 8,6 и 178 (28,7%) – неудовлетворительного качества (пороговый цикл при амплификации фрагмента гена *ABL* – более 30), в которых величина *RIN* колебалась от 2,1 до 4,2. С использованием ROC-анализа был определен пороговый уровень *RIN*, при превышении которого достигается достаточная эффективность (ПРЦ-РВ). Величина порогового уровня составила 4,2. Площадь под кривой – 0,96 ($p < 0,001$). Таким образом, исследование качества РНК на биоанализаторе *Agilent 2100* позволяет снизить количество ложно-негативных результатов молекулярно-биологических исследований.

Ключевые слова: качество РНК, выделение РНК, ПЦР в режиме реального времени

Введение

В настоящее время метод ПЦР в режиме реального времени (ПРЦ-РВ) широко используется для оценки экспрессии генов как с исследовательскими, так и с клиническими целями. Исследование костно-

го мозга (КМ) и периферической крови (ПК) методом ПЦР с обратной транскрипцией проводится при гемобластозах и солидных опухолях для определения специфических химерных транскриптов, образующихся при хромосомных перестройках, на момент первичной диагностики, а также во время лечения для контроля минимальной остаточной болезни.

Использование интактной РНК является основой для получения адекватных результатов при исследовании экспрессии генов методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) или с использованием биологических чипов. В настоящее время для качественной и количественной оценки РНК используются несколько методик, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки [1]. Измерение поглощения ультрафиолетового света с длиной волны 260 нм на UV-спектрофотометре не предполагает дополнительных стадий после выделения РНК и отличается относительно высокой воспроизводимостью результатов. Однако, недостатком этого метода является искажение результатов при контаминации геномной ДНК или фенолом, которые также поглощают свет в аналогичном с РНК диапазоне длины волны. Методики, основанные на использовании интеркалирующих флуоресцентных красителей, таких как *Ribogreen*, характеризуются относительно высокой чувствительностью и специфичностью в отношении РНК, но воспроизводимость результатов из-за длительных манипуляций с исследуемыми образцами РНК невысока [1,2].

Биоанализатор *Agilent 2100* и наборы *RNA LabChip* (Caliper Technologies, США) являются инструментом для количественной и качественной оценки РНК. Принцип работы биоанализатора основан на разделении флуоресцентно меченых образцов РНК методом капиллярного электрофореза с одновременной детекцией интенсивности флуоресценции [3]. В ходе измерения определяются такие показатели, как концентрация РНК в образце, соотношение между 18S и 28S субъединицами рибосомальной РНК и показатель целостности РНК (RNA integrity number – RIN) [3,4].

Дегградация РНК является процессом постепенным, в ходе которого происходит нарастание числа короткоцепочечных фрагментов, что отражается на электрофореграмме в виде прогрессивного

го уменьшения соотношения рибосомальных пиков 18S к 28S и увеличения фонового сигнала между рибосомальными пиками и нижним маркером. Программное обеспечение биоанализатора вычисляет соотношение между рибосомальными субъединицами 18S и 28S, которое является одним из критериев степени деградации РНК. Параллельно с этим рассчитывается *RIN*, который классифицируется по шкале от 1 до 10, где 1 – соответствует максимально деградированному профилю, а 10 – полностью интактному [1-5].

Применение частично или полностью разрушенной РНК может привести к искажению результатов, поэтому чрезвычайно важно оценивать качество РНК, вносимой в ПЦР. В ходе анализа литературы нами не было найдено конкретных рекомендаций по минимально допустимой величине *RIN*, при которой получают достоверные и воспроизводимые результаты при оценке экспрессии генов в ходе ПЦР-РВ, что и обусловило проведение данной работы.

Материалы и методы исследования

В качестве исходного материала использовались 496 образцов костного мозга (КМ), взятых от 174 пациентов и 124 образца периферической крови (ПК) от 124 пациентов, находившихся на лечении в Отделе детской онкологии и гематологии ОДКБ№1 (Екатеринбург), а также других лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации. Исследовались образцы больных с различными онкологическими и онкогематологическими заболеваниями, а также пациенты без злокачественных новообразований. Распределение количества пациентов и образцов по нозологическим формам представлено в табл. 1.

Взятие материала для проведения молекулярно-генетического исследования (ПК и аспираты КМ) осуществлялось в вакуумные пробирки, в которых в качестве антикоагулянта использовалась калиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (КЭДТА). Срок доставки материала в лабораторию варьировал от 0 до 24 часов. Ядро-содержащие клетки КМ и ПК выделяли путем двукратного лизиса эритроцитов в 0,84% растворе хлорида аммония с последующей двукратной отмывкой 0,9% раствором хлорида натрия. Количество лейкоцитов подсчитывалось на гематологическом счетчике КХ-21 (Sysmex, Япония). Общую РНК выделяли из 5×10^6 ядродержащих клеток КМ или ПК по методу Хомчинского с использованием TRI-reagent (MRC, США). На последнем этапе выделения РНК образцы обрабатывались ДНКазой I (Fermentas, США). Концентрация РНК измерялась на спектрофотометре SmartSpec (Bio-Rad, США), а также с использованием комплекта реагентов RNA 6000 Nano Reagents (Agilent, Литва) и чипов RNA LabChip® 6000 Nano (Caliper Technologies, США) на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent, Германия) согласно ин-

струкции производителя. Все образцы тестировались в двух повторах для исключения случайной ошибки. Анализ электрофореграмм проводился при помощи программного обеспечения Agilent 2100 Expert. Примеры электрофореграмм с различной величиной *RIN* приведены на рис. 1.

Таблица 1

Количество пациентов и образцов

Диагноз	Костный мозг		Периферическая кровь	
	Количество образцов	Количество пациентов	Количество образцов	Количество пациентов
Острый лимфобластный лейкоз	45	45	12	12
Острый миелобластный лейкоз	18	18	16	16
Хронический миелоидный лейкоз	20	20	85	85
Нейробластома	331	59	—	—
Опухоли семейства саркомы Юинга	59	9	—	—
Пациенты без онкологических заболеваний	23	23	11	11
Итого	496	174	124	124

После оценки качества на микроструйных биочипах 1 мкг РНК переводили в комплементарную ДНК (кДНК) в присутствии MMLV обратной транскриптазы (ЦНИИЭ, Россия) и смеси случайных пентадекамеров или наномеров (Синтол, Россия), кДНК в количестве, эквивалентном 100 нг РНК использовалась в качестве матрицы для проведения ПЦР-РВ с использованием ДияТак-полимеразы (ЦНИИЭ, Россия). Все образцы тестировались в двух повторах. Определяли экспрессию гена *ABL*, нуклеотидная последовательность праймеров для амплификации которого взята из работы А. Мисюрина и соавт. [6]. Исходя из рекомендаций Europe Against Cancer, при оценке экспрессии гена *ABL* в качестве значения, взятого для разделения на образцы удовлетворительного и неудовлетворительного качества, был взят пороговый цикл, равный 30 [7]. В том случае, когда величина порогового цикла превышала 30, это расценивалось как образец с неудовлетворительным качеством выделения РНК, исходя из чего делался вывод о критическом уровне деградации РНК.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи не-

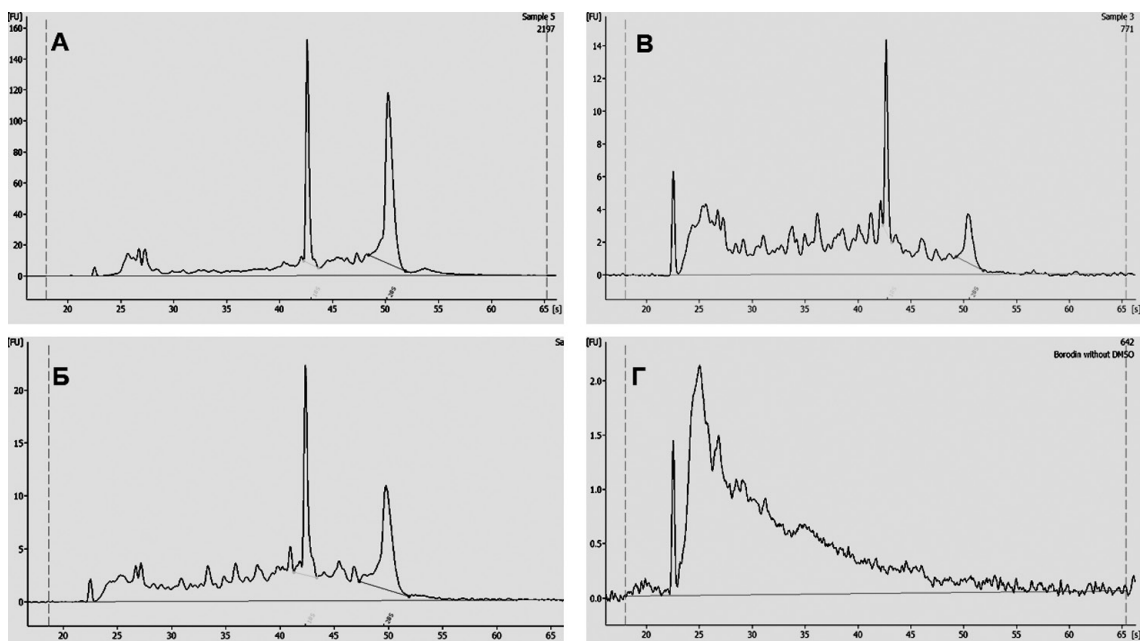


Рис.1. Электрофореграммы образцов РНК различной степени целостности. А – РНК с *RIN* 8,3; Б – РНК с *RIN* 6,5; В – РНК с *RIN* 4,9; Г – РНК с *RIN* 2,2. РНК высокого качества имеет следующие характеристики: 1. Четкие и высокие пики 18S и 28S; 2. Отсутствие дополнительных пиков между рибосомальными пиками; 3. Ровная базовая линия; 4 Соотношение между пиками 18S и 28S более 2. При разрушении РНК происходит смещение 18S и 28S пиков влево (в сторону меньшего времени), базовая линия становится зазубренной, снижается высота пиков рибосомальной РНК, увеличивается сигнал в области малых РНК.

параметрических критериев Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса с использованием программного обеспечения «Statistica 6.0». Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Пороговый уровень (ПУ), с наибольшей диагностической эффективностью разделяющий образцы РНК удовлетворительного и неудовлетворительного качества, был определен методом характеристических кривых (receiver operator characteristic, ROC-кривых) [8, 9] с помощью программы «Analyse-it». С учетом ПУ были рассчитаны диагностическая чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов, а также общая диагностическая эффективность теста [10, 11].

Результаты исследования

В ходе работы было проанализировано 496 образцов КМ и 124 образца ПК больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ), нейробластомой, опухолями семейства саркомы Юинга, а также пациентов без злокачественных новообразований.

Не было получено достоверных различий при оценке образцов КМ и ПК. Медиана *RIN* в образцах КМ составила 7,1 (диапазон 2,2-8,6), в ПК — 6,9 (диапазон 2,5-8,0) ($p = 0,087$). Также не выявлено статистически достоверных различий при сравнении показателя целостности РНК в группах пациентов с различными нозологическими формами. Так, в образцах пациентов с ОЛЛ медиана целостности РНК составила 6,8 (диапазон 2,1-7,0), у пациентов с ОМЛ — 6,6 (диапазон 2,4-7,2), в образцах пациентов с ХМЛ — 6,8 (диапазон 3,0-7,4), в образцах пациентов с нейробластомой 7,0 (диапазон 2,3-8,5), с опухолями семейства саркомы Юинга 7,1 (диапазон 2,7-7,8), в образцах пациентов без злокачественных новообразований 7,0 (диапазон 2,4-8,3) ($p = 0,356$).

Для оценки воспроизводимости измерения концентрации РНК, а также величины *RIN* при разных концентрациях, были произведено исследование исходной РНК, а также её разведений. Из каждого образца была однократно выделена РНК, которая затем также однократно разводилась в 5 и 10 раз. Каждое измерение проводилось в 10 повторах. Результаты измерений представлены в табл. 2.

Таблица 2

Оценка воспроизводимости измерения концентрации РНК и *RIN*

	Среднее значение	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
Измерение концентрации			
Исходная РНК, n=10	301,0 нг/мкл	4,58 нг/мкл	1,5
РНК, разведенная в 5 раз, n=10	68,0 нг/мкл	5,29 нг/мкл	7,8
РНК, разведенная в 10 раз, n=10	34,2 нг/мкл	4,75 нг/мкл	13,9
Измерение показателя целостности РНК			
Исходная РНК, n=10	6,5	0,1	1,7
РНК, разведенная в 5 раз, n=10	6,4	0,0	0,0
РНК, разведенная в 10 раз, n=10	6,4	0,1	1,6

Дополнительно для оценки воспроизводимости определения *RIN* мы сравнили величину стандартного отклонения и коэффициента вариации при измерении образца РНК, исследованного в 10 повторах (эксперимент 1) и того же образца, но оцененного на 2-х разных чипах в 10 повторах каждый (эксперимент 2). В каждом случае концентрация РНК была измерена спектрофотометрически и доведена до 60 нг/мкл. Результаты представлены в табл. 3. Значения *RIN* достоверно не различались ($p = 0,247$).

Таблица 3

Оценка воспроизводимости измерения *RIN* в экспериментах 1 и 2

	Среднее значение	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
Эксперимент 1, n=10	7,2	0,2	2,8
Эксперимент 2, n=20	7,3	0,3	4,1

Мы также оценили влияние обработки ДНКазой I на сохранность РНК. С этой целью было измерено значение *RIN* до и после обработки ДНКазой I в 36 образцах пациентов с ОЛЛ. Медиана величины *RIN* до обработки ДНКазой составила 6,7 (диапазон 2,8-8,4) после обработки — 6,5 (диапазон 2,8-8,2) ($p = 0,314$).

В ходе проведения ПЦР в режиме реального времени было выявлено 442 (71,3%) образца удовлетворительного качества (пороговый цикл до 30) с величиной *RIN* от 3,3 до 8,6 и 178 – неудовлетворительного качества, в которых значение *RIN* колебалось от 2,1 до 4,2. С использованием ROC-анализа был определен ПУ *RIN*, который достоверно подразделял образцы удовлетворительного и неудовлетворительного качества. Величина ПУ составила 4,2. Площадь под кривой – 0,96 ($p < 0,001$).

Обсуждение. Исследование качества РНК на биоанализаторе Agilent 2100 позволяет исключить ложно-негативные результаты молекулярно-биологических исследований. Значения *RIN* не зависят от концентрации образца, что позволяет проводить сравнение качества РНК между различными лабораториями, а также определить величину *RIN*, необходимую для проведения тех или иных видов исследований, в которых исходным материалом является РНК. Выявление ПУ *RIN* важно для оптимизации молекулярно-генетических исследований и снижению вероятности получения сомнительных и ложных результатов при проведении ПЦР-РВ. Общеизвестно, что для проведения ПЦР не требуется РНК столь же высокого качества, как, например, при использовании экспрессионных чипов высокой плотности. Но и в этом случае разрушенная РНК способна приводить к получению неадекватных результатов, особенно, если качество полученной РНК оценивается только спектрофотометрически [1].

A. Schroeder et al. [5] провели сравнение величины *RIN* и исходов ПЦР-РВ. Ими была выявлена положительная корреляционная связь между величиной *RIN* и логарифмом средней величины экспрессии 4-х генов «домашнего хозяйства» (*GAPDH*, *KYFN*, *NEFL*, $\beta 2M$) ($r = 0,52$). На основании полученных данных авторы определили пороговое значение *RIN* как 5,5. Большинство образцов удовлетворительного качества имели величину *RIN* в районе 8,0 с максимальным значением 9,4, а у образцов неудовлетворительного качества эта величина находилась в диапазоне от 4,0 до 5,0. Более того, образцов неудовлетворительного качества было представлено только 5, что явно недостаточно. В то же время, среди приведенных данных не было образцов, *RIN* которых лежал бы в диапазоне от 5 до 6 — возможной «серой зоне». В нашей работе максимальная величина показателя целостности РНК была 8,6, минимальная 2,1, и были представлены практически все значения *RIN* в вышеуказанных пределах.

Напрямую экстраполировать данные по ПУ *RIN*, полученные в работе [5] невозможно еще и по той причине, что разные гены по-разному экспрессируются: так, например, экспрессия $\beta 2M$ на несколько порядков выше, чем экспрессия *GAPDH* или *ABL* [12]. Также известно, что эффективность ПЦР-РВ зависит от большого числа факторов, включая тип ДНК-полимеразы, состав реакционного буфера, возможное наличие ингибиторов ПЦР. Поэтому, скорее всего, в каждой лаборатории, использующей несколько отличные от других условия выделения РНК, обратной транскрипции и проведения ПЦР-РВ требуется самостоятельная выработка ПУ *RIN*, при которой в конкретных условиях получаются адекватные результаты.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о воспроизводимости результатов, получаемых с использованием биоанализатора, а ПУ величины *RIN* выявляет образцы неудовлетворительного качества уже на этапе выделения РНК, что помогает более оперативно принять решение о необходимости повторного взятия материала или выделения РНК. Дополнительными преимуществами использования биоанализатора являются возможность одновременно анализировать как качество, так и количества РНК, широкий линейный диапазон (для чипов RNA LabChip® 6000 Nano — от 25 до 500 нг/мкл), малое количество используемого материала (1 мкл).

Выводы. 1. Тип исходного анализируемого материала (ПК или КМ) и нозологическая форма не оказывали значимого влияния на целостность РНК при её унифицированном выделении с использованием метода Хомчинского. 2. Микроструйные биочипы дают высокую степень воспроизводимости при измерении *RIN* и концентрации РНК как в области высоких, так и в области низких значений концентраций. 3. В ходе исследований нами определено минимальное значение *RIN*, равное 4,2, при котором достигается достаточная эффективность ПЦР-РВ.

Литература

1. Lightfoot S. Quantitation comparison of total RNA using the Agilent 2100 bioanalyzer, Ribogreen analysis and UV spectrometry / S. Lightfoot.- Agilent Technologies, 2002.- P. 2-3.
2. Mueller O. RNA Integrity Number (RIN) – Standardization of RNA Quality Control / Agilent Technologies, 2004.- P. 1-8.

3. Krupp G. Stringent RNA quality control using the Agilent 2100 bioanalyzer - Agilent Technologies, 2005.- P. 4-5.

4. Pfaffl W.. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance / Elsevier, 2005.- P. 127-139.

5. Schroeder A., Mueller O., Stocker S. et al. The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements // BMC Molecular Biology.-2006.— Vol. 7, N.3.—P.1-14

6. Мисюрин А.В., Аксенова Е.В., Крутов А.А. и др. Молекулярная диагностика хронического миелолейкоза // Гематология и трансфузиология. – 2007. –№2. –С.35-40.

7. Gabert J., Beillard E., Velden van der V. et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program // Leukemia. – 2003. – Vol 17. – P. 2318–2357.

8. Zweig M., Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine // Clinical Chemistry.-1993. – Vol.31. – P.561-577.

9. Obuchowski N. ROC analysis // Am J Roentgenol. – 2005.– Vol.184. – P.364-372.

10. Weinstein S., Obuchowski N., Lieber M. Clinical evaluation of diagnostic tests. Am J Roentgenol. – 2005. – Vol. 184. – P. 14-19.

11. Jarvik J. The research framework // Am. J. Roentgenol. – 2001. – Vol. 176. – P. 873-877.

12. Beillard E., Pallisgaard N., Velden van der V. et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe against cancer program // Leukemia. – 2003. – Vol. 17. – P. 2474-2486.

Tsaur G.A., Druy A.E., Popov A.M., Semenikhina E.R., Riger T.O., Ivanova A.S., Yakovleva Yu.A., Shorikov E.V., Saveliev L.I., Fehina L.G.
MICROFLUIDIC BIOCHIPS FOR RNA QUANTITY AND QUALITY EVALUATION IN PATIENTS WITH ONCOLOGICAL DISORDERS

Abstract. Intact RNA usage is one of the crucial factors for successful downstream procedures in polymerase chain reaction or microarrays. In the current study we characterized application of Agilent 2100 Bioanalyzer for qualitative and quantitative evaluation of total RNA extracted from 620 bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) samples of 264 patients with oncological disorders and 34 patients without malignancies. We showed high reproducibility of RNA concentration and RNA integrity number (RIN) measurement by Agilent 2100 Bioanalyzer. Coefficient of variation did not exceed 13.9% for RNA concentration and 4,1% for RIN. In case of unified RNA isolation, sample type (BM or PB) and type of disease did not influence to RNA integrity. RIN also did not depend on RNA concentration. Real-time quantitative PCR (PQ-PCR) revealed 442 (71.3%) samples of appropriate quality (threshold cycle (Ct) of ABL gene amplification less than 30) with RIN from 3.3 till 8.6 and 178 samples (28.7%) of inappropriate quality (Ct of ABL gene amplification more than 30) with RIN from 2.1 till 4.2. ROC-curve analysis determined RIN threshold level (TL) as 4.2. AUC was 0.96 (p<0.001) and overall correct prediction rate was 0.898. In conclusion, RNA quality and quantity assessment leads to decreasing of false-negative RQ-PCR results rate.

Key words: RNA isolation, RNA integrity, Real-time quantitative PCR

Авторская справка

Цаур Григорий Анатольевич

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, к.м.н., Заведующий лабораторией молекулярной биологии Отдела детской онкологии и гематологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: tsaur@mail.ru

Друй Александр Евгеньевич

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории молекулярной биологии Отдела детской онкологии и гематологии;

УГМА, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», младший научный сотрудник Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: Dr-Druy@yandex.ru

Попов Александр Михайлович

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории иммунофенотипирования гемобластозов Отдела детской онкологии и гематологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», ведущий научный сотрудник Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: uralflow@gmail.com

Семенikhина Елизавета Рафатовна

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, биолог клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии Отдела детской онкологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», младший научный сотрудник Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: 283850@mail.ru

Ригер Татьяна Олеговна

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии Отдела детской онкологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: rigertati@mail.ru

Иванова Анна Сергеевна

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, биолог лаборатории молекулярной биологии Отдела детской онкологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», научный сотрудник Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: anna.ivanova1909@gmail.com

Яковлева Юлия Анатольевна

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии Отдела детской онкологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: yakovleva1@list.ru

Шориков Егор Валерьевич

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, к.м.н., заведующий отделением детской онкологии №1 Отдела детской онкологии и гематологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», врач детской онколог Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: cohc@bk.ru

Савельев Леонид Иосифович

ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, к.м.н., заведующий лабораторным отделением Отдела детской онкологии и гематологии; ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», врач клинической лабораторной диагностики Лаборатории терапии онкогематологических заболеваний e-mail: sav7000@yandex.ru

Фечина Лариса Геннадьевна

гематологии ГУЗ Областная детская клиническая больница №1, к.м.н., заместитель главного врача по детской онкологии и гематологии; ГБУЗ СО «Центр оказания специализированных видов медицинской помощи» Институт медицинских клеточных технологий», заведующий Отделом детской онкологии и Заведующий Лабораторией терапии онкогематологических заболеваний e-mail: childrens_oncology@mail.ru

Россия, 620149, Екатеринбург, ул. С. Дерябиной 32

Authors

Tsaur Grigory A.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; MD, PhD
e-mail: tsaur@mail.ru

Druy Alexander E.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; MD
e-mail: Dr-Druy@yandex.ru

Popov Alexander M.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; MD, PhD
e-mail: uraflow@gmail.com

Semenikhina Elizaveta R.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies;
e-mail: 283850@mail.ru

Riger Tatyana O.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; MD
e-mail: rigertati@mail.ru

Ivanova Anna S.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies;
e-mail: anna.ivanova1909@gmail.com

Yakovleva Yulia A.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; MD
e-mail: yakovleva1@list.ru

Saveliev Leonid I.
Regional Children Hospital 1; Pediatric Oncology and Hematology Center; Research
Institute of Medical Cell Technologies; Associated professor of Laboratory Medicine
Chair, Ural State Medical Academy, MD, PhD
e-mail: sav7000@yandex.ru

Fechina Larisa G.
Regional Children Hospital №1; Head of Pediatric Oncology and Hematology Center,
Research Institute of Medical Cell Technologies, MD, PhD
e-mail: childrens_oncology@mail.ru

Russia, 620149 Ekaterinburg, S. Deryabina str., 32

Алтынбаева Е.И.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ РАННИХ СТАДИЯХ СТАБИЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

ФГУЗ «Центральная медико-санитарная часть №71» Федерального медико-биологического агентства,

Поликлиника №3, г. Озерск, Челябинская область, Россия

Резюме. Цель исследования – сравнительный анализ содержания цитокинов слюны (ротовой жидкости) и сыворотки крови на ранних стадиях стабильной хронической обструктивной болезни легких для уточнения иммунологических аспектов патогенеза развития заболевания у курильщиков. Под постоянным наблюдением в течение последних пятнадцати лет находился контингент пациентов с ранними формами хронической обструктивной болезни легких (144 человека), работающих на радиохимическом предприятии. В настоящее исследование было включено 33 человека из основной группы и 10 человек здорового контроля для определения иммунологических параметров, работающих в тех же условиях, сопоставимых по возрасту и полу. В работе исследовали уровень про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с ранними формами хронической обструктивной болезни легких в слюне и сыворотке крови. Выявленное увеличение содержания провоспалительных цитокинов как в слюне, так и в сыворотке не компенсируется нарастанием противовоспалительных.

Ключевые слова: курение, хроническая обструктивная болезнь легких, иммуноциты, цитокины.

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – заболевание второй половины жизни, как правило, развивающееся у людей старше 40-60 лет. Заболевание характеризуется медленным, постепенным, но неуклонным снижением функции легких. В основе патогенеза ХОБЛ лежит прогрессирующая бронхиальная обструкция, развивающаяся в рамках воспалительного ответа на экспозицию повреждающих частиц и/или газов. В бронхиальном дереве происходит увеличение числа и размеров бокаловидных клеток, разрастание микрососудистой сети, гипертрофия и гиперплазия гладкой мускулатуры бронхов, повышение отложения коллагена в подслизистом слое и образование рубцовой ткани в стенках воздухоносных путей [10], которое ускоряется при продолжающемся воздействии факторов риска.

При изучении иммунопосредованных механизмов патогенеза ХОБЛ большинство публикаций посвящено результатам анализа иммунных показателей крови человека. В последние годы большое внимание уделяется изучению топических механизмов формирования бронхообструкции, в связи с чем интенсивно изучаются показатели бронхоальвеолярного лаважа, мокроты, конденсата выдыхаемого воздуха, биоптатов из дыхательных путей. Альтернативным субстратом для определения маркеров мукосального иммунитета и провоспалительных белков при ХОБЛ может быть секрет ротовой полости. Слюна (ротовая жидкость) – диагностический материал, где перемешиваются секреты слюнных желез и мокрота, провоспалительные факторы имеют в существенной степени бронхиальное происхождение (из мокроты). Идея использования слюны привлекательна не только в связи с неинвазивным способом получения материала для исследования, но и современными технологическими возможностями точного определения в биологических жидкостях иммунных белков, гормонов, нейротрансмиттеров.

Характерной особенностью течения хронической обструктивной болезни легких является возникновение системного воспаления, приводящего к внелегочным проявлениям заболевания, таким как дисфункция скелетных мышц, сердечно-сосудистая патология с формированием легочного сердца, потеря веса и т.д. Вопрос возникновения системного воспаления как следствия изменений в бронхолегочной системе или возникающего независимо, а также факторах, инициирующих его, остается дискуссионным [6, 12]. Несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению иммунологических аспектов патогенеза, вопрос о взаимосвязи очагового и системного воспаления при ХОБЛ остается открытым [2, 6]. Неоднозначность литературных данных приводит к необходимости дальнейших исследований молекулярных основ патогенеза ХОБЛ. Сравнительный анализ цитоки-

нов смешанной слюны (ротовой жидкости) и сыворотки крови позволят понять степень их участия в развитии как очагового, так и системного воспаления при начальных стадиях заболевания. Это и послужило предметом данного исследования.

Материалы и методы

Настоящее исследование проведено в 2010 году в отделении профилактики заводской поликлиники ЦМСЧ-71 ФМБА России, обслуживающего х/к ПО «Маяк», в рамках периодического медосмотра. Под постоянным наблюдением в течение последних пятнадцати лет находится контингент пациентов с ранними формами ХОБЛ (144 человека), работающих на радиохимическом предприятии. Из них для иммунологических исследований методом случайных чисел нами были отобраны 33 человека, составившие основную группу наблюдения. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями диагностики GOLD (2009) [1] и Федеральной программы «Хроническая обструктивная болезнь легких» (2006) [4] на основании анамнеза, жалоб больных, после проведения спирометрического исследования в фазу стабильного течения болезни. Средний возраст в группе составил $50,87 \pm 1,14$ лет. Среди обследуемых работников завода было 13 человек (средний возраст $49,67 \pm 1,14$) с ХОБЛ I стадии, 10 человек (средний возраст $50,87 \pm 1,14$) с ХОБЛ II стадии. Все пациенты с хронической обструктивной болезнью легких имели в анамнезе длительный стаж курения, составивший в среднем около 26 лет. В качестве контрольной группы было отобрано 10 клинически здоровых человек того же возраста и пола, работающих в тех же условиях, не курящих, без признаков респираторной патологии (средний возраст $48,58 \pm 2,67$ лет). У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в группы исследования:

1. Работа на радиохимическом предприятии.
2. Наличие клинико-инструментальных проявлений хронической обструктивной болезни легких.
3. Длительность курения более 5 лет.
4. Согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

1. Острые инфекции верхних дыхательных путей на момент исследования.
2. Обострение хронической обструктивной болезни легких.
3. Наличие профессиональных заболеваний.
4. Бронхиальная астма (прирост FEV1 на 12% и более от исходных показателей, что характеризует обратимую обструкцию).

Кроме общеклинических, были использованы специальные методы исследования. Исследование функции внешнего дыхания проводилось на аппарате (Multifunctional Spirometer HI-801, 2008). При спирометрии основными оцениваемыми параметрами являлись: форсированная жизненная емкость легких (FVC), объем форсированного выдоха за первую секунду (FEV1) и расчетное соотношение этих параметров FEV1/FVC. Для исследования обратимости обструкции использовались стандартные пробы с бронходилататорами (сальбутамол в дозе не менее 400 мкг).

Успехи в развитии высокотехнологичных лабораторных методов исследования определяют возможность точного количественного анализа иммунных белков, продуцируемых на уровне мукосассоциированной лимфоидной ткани в респираторном тракте, в слюнной жидкости, как в условиях нормы, так и при развитии патологии. Учитывая единство разных отделов мукосассоциированной лимфоидной ткани и постоянную миграцию иммуноцитов в пределах данного компартмента иммунной системы, идеальной для исследования представляется слюна.

Уровень иммунных белков в слюне определяли с помощью иммуноферментного метода. Для количественного определения IL-17 в слюне использовали тест-системы для исследования биологических жидкостей производства «Bender MedSystem», Австрия. Чувствитель-

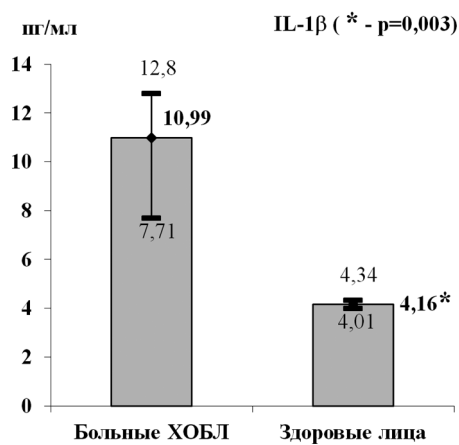


Рис. 1а. Уровень IL-1β в сыворотке; б) в слюне.

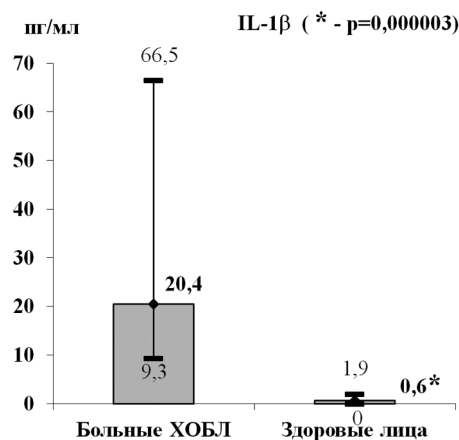


Рис. 1б. Уровень IL-1β в слюне.

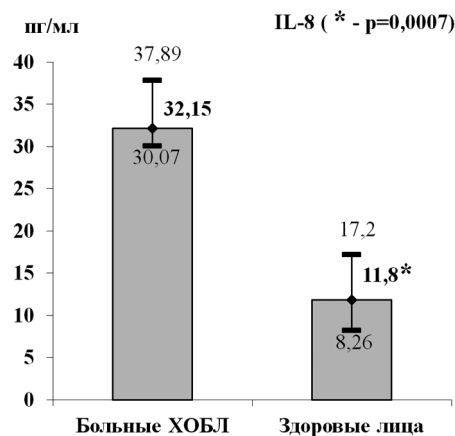


Рис. 2а. Уровень IL-8 в сыворотке.

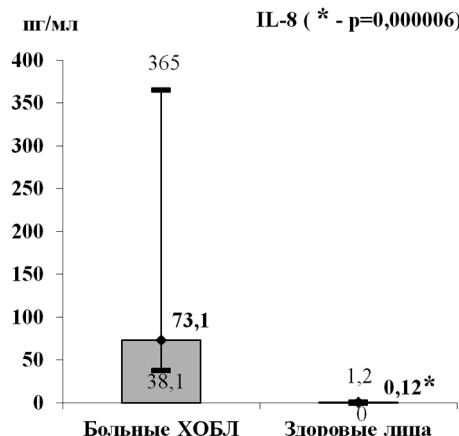


Рис. 2б. Уровень IL-8 в слюне.

ность тест-систем для определения IL-17 составила 1 пг/мл. Учет реакции производили при длине волны 450 нм на планшетном фотометре «Multiscan plus».

Уровень IL-1β определяли при помощи иммуноферментного метода с помощью тест-систем интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, с учетом результатов на планшетном фотометре «Multiscan plus» (LabSystems) при длине волны 450 нм. Чувствительность тест-систем составляет 1 пг/мл.

Количество IL-8 в слюне определяли с помощью иммуноферментного метода с тест-системами производства «Цитокин», С.-Петербург (серия 16020507). Результаты измеряли на Multiscan plus при длине волны 492 нм.

Количественную оценку IL-4 в слюне проводили при помощи наборов для определения уровня этих пептидов в сыворотке крови и других биологических жидкостях (слюне, сперме, спинномозговой жидкости), производства ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск. Результаты регистрировали на планшетном спектрофотометре «Multiscan Plus» при длине волны 450 нм.

Также в качестве материала исследования использовали сыворотку крови, которую центрифугировали в течение 10 минут при 800g, затем аликвировали и хранили при -200 С. Уровни иммунных белков сыворотки определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск. Для количественного определения IL-17 в сыворотке использовали тест-системы для исследования биологических жидкостей производства «Bender MedSystem», Австрия. Учет реакции производили при длине волны 450 нм на планшетном фотометре «Multiscan plus».

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программы «Статистика», версия 6. Результаты представлены в виде медианы и ее квартильного размаха. Межгрупповые сравнения проводились согласно тестам Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании функции внешнего дыхания у пациентов с ХОБЛ I и II стадии выявлено резкое ($p < 0,05$) снижение объема форсированно-

го выдоха за первую секунду ($65,1 \pm 1,8$), а также снижение отношения FEV1/FVC ($69,1$ при $p < 0,02$), по сравнению с контрольной группой ($84,4 \pm 1,1$ соответственно при $p < 0,001$), что диагностически значимо для подтверждения диагноза ХОБЛ. Все эти данные говорят о тяжести бронхиальной обструкции. Всем пациентам проба сделана с салбутамолом 400 мкг ($7,6 \pm 3,2$), что позволяет исключить БА.

Проведенный анализ содержания в сыворотке и слюне провоспалительного цитокина IL-1β, относящегося к аларминам, выявил повышенное содержание его в группе пациентов с ранними стадиями ХОБЛ в сопоставлении со здоровым контролем, как показано на рис. 1. Основным продуцентом данного цитокина являются фагоцитирующие мононуклеары: макрофаги, моноциты, активированные различными индукторами. Активными продуцентами этого алармина могут быть и поврежденные эпителиоциты.

Полученные данные свидетельствуют о признаках аларминового стресса у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких, а также о наличии процессов некроза собственных клеток [11]. Повышенный уровень данного алармина как в сыворотке, так и в слюне при ХОБЛ может свидетельствовать о достаточно высокой активности воспалительного процесса в дыхательных путях при ранних формах заболевания.

Проведенный анализ содержания IL-8 показал значительное увеличение данного цитокина как в слюне, так и в сыворотке пациентов с ранними формами ХОБЛ, как показано на рис. 2. Рост данного показателя оценивается в качестве маркера в оценке степени тяжести воспаления дыхательных путей [13]. Продуцентом данного хемокина являются сами эпителиоциты, активированные различными агентами, а также другие клетки, например, макрофаги [8].

Повышенное содержание данного хемокина в слюне пациентов с ранними формами ХОБЛ по сравнению со здоровым контролем может свидетельствовать о наличии экссудативно-деструктивного воспаления бронхах и верхних дыхательных путей. Так-же IL-8 является хемоаттрактантом нейтрофилов, которые, попадая в патологический очаг, поддерживают и усиливают развитие хронического воспаления в легких [3].

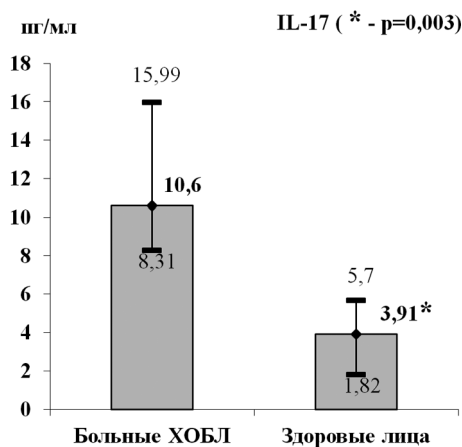


Рис. 3а. Уровень IL-17 в сыворотке.

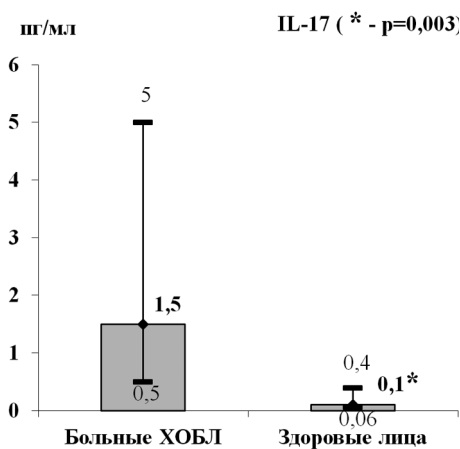


Рис. 3б. Уровень IL-17 в слюне.

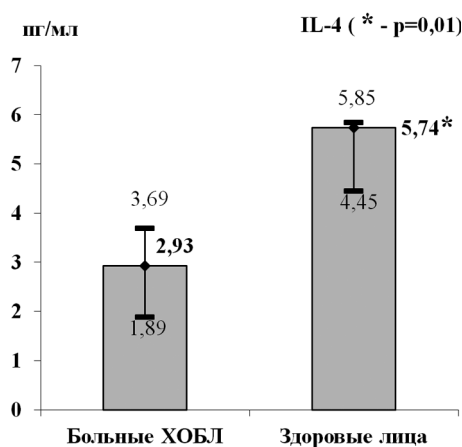


Рис. 4а. Уровень IL-4 в сыворотке.

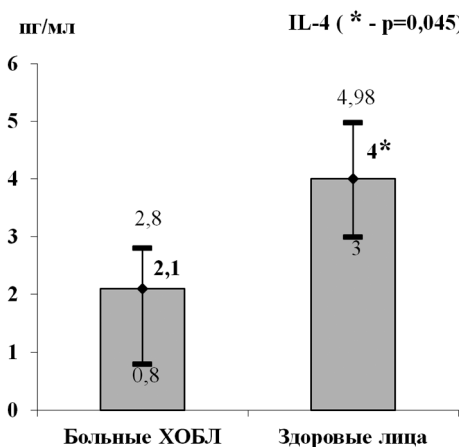


Рис. 4б. Уровень IL-4 в слюне.

Таким образом, у пациентов с ранними формами ХОБЛ выявлено повышенное содержание IL-8 как на местном уровне, так и на периферии, что может указывать на наличие признаков системной воспалительной реакции уже на начальных стадиях заболевания. Следует отметить, что рост количества IL-8 в слюне больных с ранними формами ХОБЛ оказался выше, чем в группе контроля, что является основанием для предположения о принципиальной роли локального усиления продукции хемокина, влияющего на уровень мукозосоассоциированной лимфоидной ткани верхних дыхательных путей, и вторичном характере его роста в кровотоке в этих условиях.

Далее было предпринято определение уровня IL-17 в слюне в сыворотке пациентов с ранними стадиями стабильной ХОБЛ, как показано на рис. 3, который продуцируется относительно новой линией Т-клеток, Th17, относящихся к CD4+ лимфоцитам [9].

Эффекторные молекулы, продуцируемые этими клетками, включают IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26. Интерлейкин-17 (IL-17) был открыт в 1993 году, а в 1995 году был открыт рецептор к нему [7] и была установлена биологическая активность IL-17, которая проявляется во влиянии на гранулоцитопоз, на защиту против внеклеточных патогенов. IL-17F и IL-22 регулируют продукцию антимикробных протеинов в эпителии слизистых оболочек. IL-17A стимулирует эпителиальные клетки бронхов, венозные эндотелиальные клетки человека, приводит к продукции и освобождению IL-8, который проявляет выраженный хемоаттрактантный эффект и влияет на выход нейтрофилов в область накопления хемокинов [7]. Дополнительно IL-17 регулирует экспрессию специфических хемокиновых лигандов CXCR1, CXCR2 на фибробластах, эпителиальных клетках, влияющих на миграцию лейкоцитов в область слизистых оболочек. Введение IL-17 в эксперименте в легкие или синовиальную жидкость усиливает аккумуляцию нейтрофилов в сайтах накопления интерлейкина. Как следует из приведенных данных в слюне и сыворотке пациентов с ранними формами ХОБЛ выявлено повышенное содержание IL-17, который секретируется Т-хелперами 17. Далее был проведен корреляционный анализ взаимосвязи между численностью изучаемых иммунных клеток в слюне и уровнями IL-17 в данной биологической жидкости.

Исследование содержания противовоспалительного цитокина IL-4

выявило снижение уровня IL-4 как в сыворотке, так и в слюне у лиц основной группы – курильщиков с ранними стадиями ХОБЛ в сопоставлении с группой здоровых некурящих мужчин, как показано на рис. 4. Уровень этого цитокина в биологических жидкостях отражает активность Th2, секретирующих IL-4 и направляющих иммунный ответ на Th2-зависимый путь; а также активность Th3, осуществляющих понижающую регуляцию адаптивного иммунного ответа с помощью данного цитокина [5]. Достоверное многократное снижение уровня IL-4 в слюне и крови отражает уменьшение функциональной активности Th2 под влиянием табакокурения. Низкий уровень IL-4 при повышенном уровне провоспалительных цитокинов может свидетельствовать о формировании дисбаланса противовоспалительного IL-4 и антагонистических ему провоспалительных цитокинов.

IL-4 является ключевым цитокином, продуцируемым Т-клетками (Th2 лимфоцитами), поддерживая баланс Th1/Th2. Данный противовоспалительный цитокин усиливает эозинофилию, секрецию IgG4, опосредованный Th2 клетками гуморальный иммунный ответ, подавляет освобождение цитокинов воспаления (IL-1, IL-8).

Заключение

Роль цитокиновой продукции в патогенезе хронической обструктивной болезни легких уже на ранних стадиях, оказывающих непосредственное влияние на все последующие процессы патологических изменений, существенна. При хронической обструктивной болезни легких, вероятно, происходит местная продукция про- и противовоспалительных цитокинов, которые наряду с другими провоспалительными факторами накапливаются в мокроте и, вторично, в слюне, но также и в крови - определяя те или иные проявления системной воспалительной реакции (характерные для ХОБЛ). При этом слюна является удобным материалом для интегральной оценки активности преимущественно местного воспаления, а кровь – наличия проявлений системной воспалительной реакции. Совокупность обоих позволяет оценить как местную, так и системную составляющую воспалительного процесса.

Выявленное достоверное увеличение количества уровня провоспалительных цитокинов как на локальном, так и на системном уровне, не компенсируется нарастанием уровня противовоспалительного ци-

токина. Можно предположить, что у пациентов с ранними стадиями ХОБЛ начинают формироваться признаки системной воспалительной реакции при пусковом механизме очагового воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: Атмосфера, 2006, 96 с.
2. Степанищева Л.А. Клинико-иммунологические особенности хронической обструктивной болезни легких, стратификация риска и реабилитация рабочих машиностроительного предприятия. Автореф. дисс. д-ра мед. наук. Самара, 2005, 30 с.
3. Суркова Е.А. Особенности цитокиновой регуляции очагового и системного воспаления при ХОБЛ. Под ред. Е.А. Сурковой, Н.А. Кузубова, Т.П. Сесь, А.А. Тотоляна. Медицинская иммунология, 2010, т. 12, №4-5, с. 340-354.
4. Хроническая обструктивная болезнь легких. Федеральная программа РФ: Практическое руководство для врачей. Под ред. А.Г. Чучалина. М., 2004, 61 с.
5. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе. Выбор клеткой формы ответа. Иммунология, 1999, №1, с. 17-25.
6. Agusti A. Systemic effects of chronic obstructive lung disease. Proc. Am. Thorac. Soc., 2007, v. 4, p. 522-525.
7. Aujla S.J., Dubin P.J., Kolls J.K. Th17 cells and mucosal host defense. Semin. Immunol., 2007, N19, p. 362-371.
8. Barnes P.J. ABC of chronic pulmonary disease. Future treatments. Ed. P.J. Barnes. BMJ, 2006, v. 333, p. 246-248.
9. Ley K., Smith E., Stark M.A. IL-17A-producing neutrophil-regulatory Th lymphocytes. Immunol. Res., 2006, v. 34, N3, p. 229-242.
10. MacNee W. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Clin. Chest. Med., 2007, v. 28, p. 479-513.
11. Rosa de la G., Yang D., Tewary P., Varadhachary A., Oppenheim J.J. Lactoferrin acts as an alarmin to promote the recruitment and activation of APCs and antigen-specific immune responses. J. Immunol., 2008, v. 180, N10, p. 6868-6876.
12. Wouters E. Local and systemic inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proc. Am. Thorac. Soc., 2005, v. 2, p. 26-33.
13. Yamamoto C. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. Ed. C. Yamamoto, T. Yoneda, M. Yoshikawa, A. Fu, T. Tokuyama, K. Tsukaguchi et al. Chest, 1997, v. 112, p. 505-510.

Altynbaeva E.I.

COMPARATIVE ANALYSIS OF CYTOKINES IN SALIVA AND BLOOD AT THE EARLY PHASES OF STABLE CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Abstract. The objective was to study comparative analysis of cytokines in saliva (focal) and blood (systemic inflammation) at the early phases of stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) to identify immunological aspects of COPD pathogenesis in smokers. A cohort of patients with early forms of COPD (144 individuals) employed at the radiochemical facility was constantly followed up for the recent 15 years. The study included 33 individuals from the main group and 10 control individuals, who worked in the same conditions, matched by age and gender. The pro- and anti-inflammatory cytokines were analyzed in saliva and blood serum from patients with early forms of COPD. The revealed increase of pro-inflammatory cytokines both in saliva and blood serum was not compensated by increasing anti-inflammatory cytokines.

Key words: smoking, chronic obstructive pulmonary disease, immunocytes, cytokines.

Авторская справка

Алтынбаева Екатерина Ивановна

Федеральное государственное учреждение здравоохранения «Центральная медико-санитарная часть № 71» Федерального медико-биологического агентства, Поликлиника №3, Озерск, Челябинская область, Россия;

Проспект Победы, д. 12, кв. 13, г. Озерск, Челябинская область, 456780 Россия
e-mail: katealt@mail.ru

Author

Altynbaeva Ekaterina I.

Central Medical Sanitary Department 71 of the Federal Medical Biological Agency, Polyclinic 3, Ozersk, Chelyabinsk Region, Russia.

Russia, 456780, Ozersk, the Chelyabinsk area, the Victory prospectus, d. 12, sq. 13 /
e-mail: katealt@mail.ru

УДК: 618.1-002-022-097

Гизингер О.А., Летяева О.И., Долгушин И.И., Зиганшина Т.А., Зиганшин О.Р.

ЭКСПРЕССИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ АПОПТОЗА CD-95(FAS/APO-1) НА НЕЙТРОФИЛАХ ЦЕРВИКАЛЬНОГО СЕКРЕТА ЖЕНЩИН С MYCOPLASMA GENTALIUM

НИИ иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА, г. Челябинск, Россия;

Консультативно-диагностический центр ГОУ ВПО ЧелГМА, г. Челябинск, Россия;

ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава, г. Челябинск, Россия;

ГУЗ ОККВД г. Челябинск, Россия

Резюме. Проведены исследования на наличие экспрессии антигена CD95 (Fas/APO-1) на поверхности нейтрофильных гранулоцитов цервикального секрета. У 65 обследованных женщин с микоплазменной инфекцией отмечено усиление экспрессии CD95+ после проведенной терапии. Выявлена нормализация содержания рецепторов CD95+ на нейтрофилах цервикального секрета женщин с микоплазменной инфекцией после терапии с применением лазерного воздействия.

Ключевые слова: апоптоз, местный иммунитет, репродуктивный тракт, микоплазменная инфекция, лазерное излучение.

Поддержание гомеостаза, в том числе и клеточного, является одним из основных свойств живых организмов. Данный процесс осуществляется при уравнивании процессов клеточной пролиферации и клеточной гибели. Последнее десятилетие отмечено постоянным нарастанием интереса широких кругов исследователей к открытому около сорока лет назад явлению, названному «программированная клеточная смерть» или апоптоз [1, 3, 7, 8]. Так как апоптоз вовлечен в большинство основных механизмов регулирования иммунной системы, то клеточная смерть является важным компонентом в биологическом гомеостазе [1, 4, 8].

Около 10 лет назад на цитоплазматической мембране нейтрофи-

лов, лимфоцитов, моноцитов открыт первый специализированный рецептор для индукции апоптоза [5]. Связывание с рецептором моноклональных антител специфического лиганда CD-95L/FasL индуцирует апоптоз в чувствительных клетках. По классификации CD-95+ - рецептор, принадлежащий к суперсемейству фактора некроза опухолей. На сегодняшний день накоплено достаточно информации об экспрессии CD 95+ лимфоцитами, моноцитами, эозинофилами периферической крови, однако эти данные порой бывают противоречивы. Одни исследователи не обнаруживают антиген на покоящихся лимфоцитах, другие его выявляют. Так, H. Lecher и соавторы (1998) сообщили о том, что покоящиеся T- клетки не экспрессируют CD-95(Fas/APO-1) антиген. Тем не менее большинство исследователей, занимающихся данной проблемой, выявляют антиген на покоящихся T- клетках, моноцитах, лимфоцитах, нейтрофилах периферической крови [5, 6]. По данным M. Massaia, L.A. Hussain, C.G. Kelly, A. Rodin у здоровых взрослых людей Fas антиген экспрессирован на лимфоцитах в 23,8% [9].

На настоящий момент огромный интерес представляет экспрессия CD 95+ антигена нейтрофилами, поскольку, по данным литературных источников, именно эти клетки чувствительны к Fas-опосредованному апоптозу. Кроме того, повышенное содержание нейтрофилов в секретах репродуктивного тракта при заболеваниях уроге-

нитального тракта, вызванных *Mycoplasma genitalium*, является важным индикатором локального воспалительного процесса [2, 8]. Кроме того, ряд исследователей считает изменение рецепторного пейзажа на нейтрофилах одним из возможных механизмов прогрессирования и, как следствие, усложнения клинической ситуации [2, 6, 8]. Исследования последних лет, проведённые на базе НИИ Иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава под руководством член-корр., проф. И.И. Долгушина, показали, что контроль *Mycoplasma genitalium* клеточной гибели нейтрофилов, является одним из ведущих механизмов ухода от защитных факторов макроорганизма, поскольку известно, что при инфекционно-воспалительных процессах апоптоз - это протективная реакция организма, направленная на предотвращение развития инфекции. Подавление апоптоза *Mycoplasma genitalium* может приводить к диссеминации возбудителя в различные ткани и органы, распространению инфекционного процесса, выживанию патогена и/или его персистенции.

Таким образом, течение и исход заболеваний урогенитального тракта, вызванных *Mycoplasma genitalium*, как и любого инфекционного процесса, определяется состоянием факторов местной противoinфекционной защиты репродуктивного тракта, в том числе и сбалансированным рецепторным пейзажем на нейтрофилах. *M. genitalium*, возможно, является тем патогеном, для которого характерно участие в контроле апоптоза клеток хозяина, кроме того, данный микроорганизм имеет как про-, так и антиапоптозную активность. Такой характер взаимоотношений микро- и макроорганизма, вероятно, определяет характер развития инфекции: продуктивная инфекция или персистентная. С исследованием CD-95 (Fas/APO-1)-рецептора на поверхности нейтрофилов связано большое число работ [4, 7, 9], однако в доступной литературе нам не встретились работы по исследованию CD 95+ на нейтрофилах цервикального секрета женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, вызванными *M. Genitalium*, до и после комплексного лечения с локальным использованием лазеротерапии. Высокая клиническая эффективность лазерных воздействий низкой интенсивности при лечении воспалительных заболеваний урогенитального тракта описана многими авторами. Не до конца изученным остается вопрос влияния лазеротерапии на систему нейтрофильных гранулоцитов слизистых оболочек урогенитального тракта женщин и роль данного физического фактора в индукции рецептора апоптоза CD 95+ на нейтрофилах.

Цель работы заключалась в изучении содержания рецептора апоптоза CD 95+ на нейтрофилах цервикального секрета здоровых женщин и женщин с *M. genitalium* до и после терапии с применением лазерного воздействия

Материалы и методы

Для решения поставленных задач за период с 2009 по 2010 г. на базе ГУЗ Областного клинического кожно-венерологического диспансера г. Челябинска, Консультативно-диагностического центра ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава было проведено клинико-иммунологическое открытое краткосрочное, проспективное, простое «слепое» исследование влияния лазеротерапии на состояние факторов местного иммунитета репродуктивного тракта у 65 женщин в возрасте от 17 до 37 лет. При рандомизации пациенток на группы был использован метод компьютерной генерации. План исследования соответствовал положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) последнего пересмотра (г. Эдинбург, Шотландия, 2000 г., Вашингтон, октябрь 2002 г.) и был одобрен этическим комитетом ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». Критерии включения: наличие *Mycoplasma genitalium* в соскобах с цервикального канала, выявленного методом ПЦР, возраст 17-37 лет, согласия пациенток на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие тяжёлой соматической патологии (ИБС, стенокардия, гипертонической болезни, острых и обострений хронических заболеваний, онкозаболеваний, аутоиммунной патологии, гормональных нарушений, беременности, лактации, наличие сопутствующих венерических заболеваний, ВИЧ инфекции, других инфекций, передающихся половым путём, включая папилломавирусную, герпетическую и цитомегаловирусную инфекции, несогласие пациенток на участие в исследовании). Рандомизация на группы происходила следующим образом: группу контроля составили 45 женщин без микоплазменной инфекции и гинекологической патологии, основная группа состояла из 30 женщин, которым в курс лечения входило лазерное излучение, группу сравнения составили 35 женщин, лечившихся по базисной схеме. Диагноз генитального микоплазмоза ставился на основании выявления возбудителя в цервикальном канале методом полимеразой цеп-

ной реакции («Литех» г. Москва). Средний возраст инфицированных женщин составил $28,51 \pm 0,53$ лет и существенно не отличался от среднего возраста здоровых женщин из группы сравнения. Курс базисного лечения включал: офлоксацин 200 мг два раза в день 7 дней, циклоферон 12,5% - 2 мл по инструкции №10 внутримышечно. На протяжении всего курса применения антибиотика больные обеих групп получали ферменты, бифидорм по 1 капсуле 3 раза в сутки в течение 20 дней. Лазеротерапию проводили аппаратом «Мустанг 2000», который предназначен для воздействия низкоинтенсивным лазерным излучением на биологические объекты в клинической медицине. Воздействия, генерируемые при помощи аппарата «Мустанг 2000», обеспечивают режим лазерного излучения головок [7, 12, 14]. Аппарат имеет Сертификат соответствия Госстандарта России, выданный Органом по сертификации ИМН ВНИИИМТ, и соответствует ГОСТ Р50723-2005. Регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития №ФСР 2008\02872 от 24.06.2008. Технические характеристики аппарата «Мустанг 2000» для проведения лазеротерапии: режим излучения - импульсный; частота 80 Гц, тип лазера - полупроводниковый; тип излучающей головки КЛЮ, длина волны излучения - 0,632 мкм; мощность излучения - 50 Вт; общее время экспозиции - 10 мин, количество процедур - 10. Сеансы лазерного излучения проводились в амбулаторных условиях, в специально оборудованном кабинете согласно «Санитарным нормам и правилам устройства и эксплуатации лазеров» Приказ МЗ РФ № 5804-91. Лечение с применением лазерного воздействия осуществлялось согласно рекомендациям изготовителя прибора НПО «Техника» (Москва). Использование низкоинтенсивной лазеротерапии при лечении воспалительных заболеваний нижнего отдела репродуктивного тракта, вызванных *M. Genitalium*, рекомендовано МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Для исследования были выбраны нейтрофилы цервикального секрета, поскольку именно шейка матки является местом наибольшей иммунологической активности репродуктивного тракта и наиболее частой локализации *M. genitalium*. Забор цервикальной слизи осуществляли с помощью специальной градуированной пипетки. Слизь помещали в 1,0 мл физиологического раствора или среды 199, тщательно суспензировали, количество нейтрофилов в цервикальной слизи подсчитывали в камере Горяева.

Для выявления поверхностного маркера (антигена) CD-95+ на нейтрофильных гранулоцитах нами были использованы моноклональные антитела, имеющие соответствующую направленность и специфичность, конъюгированные с меткой, например, с люминесцирующим красителем. Исследование проводилось по методике иммунофенотипирования в модификации С.В. Сибиряка и соавторов (1997) с использованием моноклональных антител серии ИКО (НПЦ «МедБиоСпектр», Москва). Для проведения исследования проводили выделение чистой фракции нейтрофилов из цервикальной слизи по следующей схеме: 1. Разводили цервикальную слизь в отношении 1:1 с физиологическим раствором; 2. Наслаивали полученную смесь на двойной градиент фиколл-верографина плотности 1,077-1,093; 3. Проводили центрифугирование взвеси при 1500 об/мин в течение 45 мин.; 4. «Снимали кольца» нейтрофильных гранулоцитов в интерфазе градиентов и отмывали нейтрофильную взвесь физиологическим раствором путём центрифугирования 2 раза по 10 мин при 1500 об/мин. На заключительном этапе выделения нейтрофилов проводили стандартизацию нейтрофильной взвеси до концентрации 5×10^6 кл/мл.

Полученные результаты исследований были подвергнуты обработке методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). Для каждого показателя проверялась статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию χ^2 и Колмогорова-Смирнова о равенстве дисперсий. В случае нормального распределения о достоверности различий средних величин судили по критерию Стьюдента (t). Если условия нормальности распределения не выполнялись, мы применяли непараметрический критерий Манна-Уитни.

Цифровой материал обрабатывался методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ «Statistica for Windows» версия basis.

Результаты и обсуждение

Пациенток с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта, вызванными генитальными микоплазмами, беспокоили боли внизу живота, зуд половых органов умеренной интенсивности, рези при мочеиспускании. Патологические выделения были у всех женщин, чаще отмечались гнойные, мутные и слизистые выделения. После окончания терапии с использованием НИЛИ жало-

бы предъявляли лишь 2,8% пациенток, по сравнению с группой получавших базисное лечение, где эта жалоба встречалась в 12,7%. Оценка эффективности терапии с применением НИЛИ на основании контроля этиологической излеченности с помощью методов лабораторной диагностики показала, что включение в схему лечения микоплазменной инфекции терапевтического лазера способствует более быстрому этиологическому выздоровлению. В группе больных, в комплекс мероприятий которым было включено лазерное воздействие, клиническое выздоровление и полная эрадикация микоплазм наступила в 98,15 % случаев, тогда как у пациенток, пролеченных по базисной схеме, клиническое выздоровление наступило в 91,23 % случаев.

При изучении клеточного состава цервикальной слизи женщин с микоплазменной инфекцией было выявлено увеличение количества нейтрофилов до 98 % от общего количества клеток, присутствующих в секрете (табл.1).

Таблица 1
Цитогарма цервикального секрета женщин с Mycoplasma genitalium

Показатели	Здоровые (n=45)	Mycoplasma genitalium (n=65)
Абс. кол-во нейтрофилов, 10.9/л (абс)	4,06 ± 0,68	7,32 ± 0,71*
Нейтрофилы, %	95,72 ± 1,68	98,34 ± 2,25*
Абс. кол-во мононуклеары, 10.9/л (абс)	1,72 ± 0,45	1,03 ± 0,25*
Мононуклеары, %	1,94 ± 1,06	1,52 ± 0,42*

Примечание: В таблице приведены лишь достоверные различия между сравниваемыми группами*. Достоверность по отношению к группе здоровых. С учетом поправки Бонферони критический уровень p составил 0,02. U-критерий Мана-Уитни.

Данное обстоятельство позволило провести подсчет содержания CD95+ рецепторов на поверхности нейтрофилов. В ходе исследования было выявлено снижение CD95+ рецепторов для апоптоза нейтрофилов цервикального секретов у женщин с M. genitalium по сравнению с группой здоровых (p<0,02). Возможно, сниженный уровень готовности к апоптозу может указывать на снижение активности иммунорегуляторных клеток и нейтрофилов в цервикальном секрете инфицированных женщин.

Нами исследовано содержание CD95+ после проведения базисной терапии в отношении микоплазменной инфекции. Проведенные исследования показали достоверное увеличение CD95+ на поверхности нейтрофилов с 5,00 ± 1,51% до 12,00 ± 1,21% (p<0,02).

Хотя до сих пор полностью не изучен механизм этого явления, на наш взгляд, препараты, входящие в курс терапии M. genitalium, инициируют на поверхности клеток экспрессию CD95-лиганда, который затем связывается с CD95+-рецептором, локализованным на поверхности этих клеток, что приводит к передаче сигнала смерти. Кроме того, апоптоз нейтрофилов, по-видимому, приводит к активизации макрофагов, которые связывают тромбоспондин (белок, присутствующий в зонах воспаления), тем самым способствуя прекращению воспалительных явлений [6,7,8], регистрируемых нами при проведении контрольных исследований (табл.2).

Таблица 2
Содержание CD 95+ на нейтрофилах цервикального секрета у женщин с Mycoplasma genitalium до и после лазеротерапии

Показатели	Здоровые n=45	Базис n=35		Базис + лазер n=30	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
CD 95+, %	14,00 ± 1,20	6,00 ± 1,50*	8,00 ± 1,20**	5,90 ± 1,110*	13,90 ± 1,210** ^

Примечание: В таблице приведены лишь достоверные различия между сравниваемыми группами*. Достоверность по отношению к группе здоровых. С учетом поправки Бонферони критический уровень p составил 0,02. U-критерий Мана-Уитни.
*-достоверность по отношению к группе здоровых,
**- достоверность по отношению к показателям до лечения,
^ - достоверность по отношению к группе, пролеченных без использования лазеротерапии

Проведенные исследования показали достоверную (p=0,001, p<0,02) нормализацию содержания CD95+ на поверхности нейтрофильных гранулоцитов после включения лазеротерапии в комплекс лечебных мероприятий женщин с M. genitalium. Не исключено, что изменение содержания рецепторов CD95+ на поверхности нейтрофилов, выделенных из цервикальной слизи, происходит благодаря усилению

биохимических процессов в активных центрах ферментов и ключевых метаболических путей мембран нейтрофильных гранулоцитов под действием низкоинтенсивного лазерного излучения, приводящим к усилению функциональной активности нейтрофилов и нормализации их рецепторного пейзажа.

Выводы:

1. Снижение CD95+ рецепторов апоптоза нейтрофилов цервикального секрета у женщин с M. genitalium свидетельствует об угнетении активности иммунорегуляторных клеток в цервикальном секрете инфицированных женщин.

2. Усиление функциональной активности клеток под действием лазерного излучения низкой интенсивности способствует нормализации содержания CD95+ на поверхности нейтрофильных гранулоцитов цервикальной слизи.

3. Выявленная положительная динамика эрадикации микоплазм в группе больных, которые получали лазеротерапию, показала целесообразность его включения в схему лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барышников А.Ю. Иммунологические проблемы апоптоза /А.Ю. Барышников., Ю.В. Шишкин-М.-2002.291с.
2. Бурова А.А., Абдуллаева С.А., Торганова Е.Н. Основные свойства возбудителя хламидиоза и его роль в развитии инфекции урогенитального тракта // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1999. - № 4. С. 107.
3. Владимирская Е.Б., Масчан А.А., Румянцев А.Г. Апоптоз и его роль в развитии опухолевого роста // Гематол. и трансфузиол., 1997.Т.42.№ 5 С.4-9.
4. Зенков Н.К. Меньшикова Е.Б., Вольский Н.Н.Козлов В.А. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Успехи современной биологии. 1999.Т.119.№ 5.С.440-450.
5. Новиков В.С. (Под ред.) программированная клеточная гибель. СПб. Наука. 1996.276 с.
6. Нестерова И.В. Особенности функционирования противовирусного иммунитета. Цитокины и воспаление.Т.4 №3С.-89)
7. Сидоренко С.П. Fas/CD95-опосредованный апоптоз в патогенезе лимфоидных новообразований //Эксперим. онкол.,1990.Т 20.С.15-28.
8. Толыбеков Ф.С. Морфогенез и вопросы патогенеза инфекционных процессов, вызванных хламидиями: Автореф. дис... д-ра мед. наук / Ф.С. Толыбеков.- Л., 1979.- 32с.
9. Holzman D. Cellular apoptosis: on death and dying// ASM News,1994. Vol 60.№ 12.P.634.

Gizinger O.A., Letyaeva O.I., Dolgushin I.I.,
Ziganshina T.A., Ziganshin O.R.

EXPRESSION ON THE SURFACE RECEPTORS APAPTOSIS CD 95 (FAS/APO-1) ON THE OF NEUTROPHILE GRANULOCYTES OF THE CERVICAL SECRETION WOMEN WITH MYCOPLASMA GENITALIUM

Abstract. Antigen CD 95 (Fas/APO-1) expression on the surface of neutrophile granulocytes of the cervical secretion has been studied. Sixty five female patients with Mycoplasma genitalium infection were noted to have enhanced CD95+ expression following basic therapy. There was noted that receptors CD95+ on neutrophiles with Mycoplasma genitalium infection came to normal after complex laser therapy.

Key words: apoptosis, local immunity, reproductive tract, Mycoplasma genitalium infection, laser radiation.

Авторская справка
Гизингер Оксана Анатольевна
НИИ Иммунологии ГОУ ВПО Челябинской государственной медицинской академии Росздрава
e-mail: ogizinger@gmail.com

Летяева Ольга Ивановна
Консультативно-диагностический центр ГОУ ВПО Челябинской медицинской академии Росздрава
e-mail: olga-letyaeva@yandex.ru

Долгушин Илья Ильич
ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздрава

Зиганшин Олег Раисович
ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздрава; ГУЗ ОКВД
г. Челябинск

Зиганшина Татьяна Александровна
ГУЗ ОКВД, г. Челябинск

Адрес: Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

Authors
Gizinger Oxana A.
Immunology scientific research institute of State Chelyabinsk Medical Academy
e-mail: ogizinger@gmail.com

Letyaeva Olga I.
Consultation-diagnostic centre of State Chelyabinsk Medical Academy
e-mail: olga-letyaeva@yandex.ru

Dolgushin Iliya I.
State Chelyabinsk Medical Academy

Ziganshin Oleg. R.
State Chelyabinsk Medical Academy; Dispansary for the skin and venereal disease,
Chelyabinsk

Ziganshina Tatiana A.
Dispansary for the skin and venereal disease, Chelyabinsk

Russia, 454092, Chelyabinsk, Vorovskogo, 64

УДК 616-093/-098

Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Сунцов В.Г.
**ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ЗУБНОЙ БЛЯШКИ ДЕТЕЙ
ПРИ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ 0,1% ХЛОРГЕКСИДИНА БИГЛЮКОНАТОМ
В ПРОЦЕССЕ ОРТОДОНТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ЗУБОЧЕЛЮСТНЫХ АНОМАЛИЙ**

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия, г. Омск, Россия

Резюме. Изучен микробный состав биоматериала зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями возраста от 9 до 15 лет, находящихся на ортодонтическом лечении, при использовании несъёмных ортодонтических аппаратов, проведена оценка эффективности антисептического влияния препарата 0,1% хлоргексидина биглюконата. Установлено высокое содержание микроорганизмов как карисогенной, так и ассоциативной группы, принадлежащих к различным родам, отмечали наличие дрожжеподобных грибов (вид *S. albicans*). Стрептококки вида *S. sanguis* доминировали в биосубстрате (85,0 случаев), карисогенный вид - *Streptococcus mutans* выделен в 60,0% случаев. Полученные результаты показывают необходимость динамичного изучения микробиоценоза биоматериала зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями, находящихся на активном ортодонтическом лечении.

Ключевые слова: микробиоценоз, зубная бляшка, зубной налёт, ортодонтическое лечение.

Распространенность и интенсивность зубочелюстных аномалий у детей и подростков в России составляет 50-80%, при этом 37% населения нуждаются в специализированной помощи (1,2). В современной ортодонтии при лечении зубочелюстных аномалий, наряду со съёмными, все более широко применяются несъёмные ортодонтические конструкции. В то же время при использовании данной аппаратуры выявлены и отрицательные стороны ее воздействия на органы и ткани полости рта (3,4). Особую важность приобретают вопросы влияния данной техники на морфологически незрелую структуру эмали зубов у детей и подростков, что в ряде случаев влечет за собой возникновение очагов деминерализации (5, 6). В связи с этим, разработка и совершенствование методов профилактики начальных форм кариеса зубов в период ортодонтического лечения относится к числу актуальных задач, требующих своего разрешения.

Высокая степень риска возникновения кариеса у детей, находящихся на ортодонтическом лечении, часто обуславливается целым комплексом существующих неблагоприятных факторов, присутствующих в полости рта и обеспечивающих негативный потенциал, создающий выраженный К факторам риска возникновения карисогенной ситуации в полости рта относят плохое гигиеническое состояние полости рта, недостаточный контроль за качеством чистки зубов, высокое содержание карисогенной микрофлоры – *S. mutans* и *Lactobacillus*, наличие ортодонтических конструкций и т.д. Существующие экспериментальные данные показывают, что после чистки зубов высоко карисогенные микроорганизмы вида *S. mutans* замещаются менее карисогенными *S. sanguis* при ограничении количества и частоты приема сахарозы (7,8). Полость рта рассматривается как экосистема, внутри которой существуют определённые зоны (слизистая оболочка рта, спинка языка, десневая бороздка, ямки и фиссуры, гладкие поверхности зуба), каждая из которых имеет характерные специфические условия. Ряд литературных данных свидетельствует о ведущей роли стрептококковой микрофлоры, в частности, *Streptococcus mutans* в возникновении кариеса у детей с зубочелюстными аномалиями и деформациями, находящихся на ортодонтическом лечении (8,9). Учитывая многокомпонентный и меняющийся состав зубной бляшки и мягкого зубного на-

лёта, необходимо отметить также возможное участие в этом сложном процессе других представителей микрофлоры полости рта: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus milleri*, *S. mitis*, *Lactobacillus*. Одним из важнейших биологических свойств карисогенных микроорганизмов является их способность прикрепляться к гладким поверхностям зубов и образовывать молочную кислоту. Уникальное свойство *Streptococcus mutans* – адгезивная активность по отношению к эмали зуба обеспечивает формирование зубных бляшек этими микроорганизмами. Данное действие опосредовано синтезом глюкозных полимеров из сахарозы, присутствующей в пище. Образование глюкана вызывает межклеточную микробную агрегацию *Str. mutans* и бактерий-ассоциантов, присутствующих в бляшке. Глюкановый матрикс зубной бляшки препятствует диффузии кислоты, образуемой микроорганизмами, что способствует её более длительному воздействию на поверхность зуба и приводит к деминерализации эмали, вызывая кариес зубов. Для эффективного лечения кариеса у детей с аномалиями и деформациями, находящимися на ортодонтическом лечении, необходимо проведение комплекса лечебно-профилактических мероприятий, направленных на определённые звенья этиопатогенеза заболевания, а также и на карисогенную микрофлору. В стоматологической практике для подавления активности карисогенных бактерий используются препараты на основе хлоргексидина, что может обуславливать различия в эффективности их применения в отношении определённых микроорганизмов.

Цель исследования: изучить микробный состав биоматериала зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями, находящихся на ортодонтическом лечении при использовании несъёмных ортодонтических аппаратов, а также оценить эффективность антисептического влияния препарата 0,1% хлоргексидина биглюконата.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 20 детей возраста от 11 до 15 лет с зубочелюстными аномалиями, находящихся на активном ортодонтическом лечении, использующих несъёмные ортодонтические аппараты. Микробиологические исследования проводились в процессе ортодонтического лечения (через 1,5 месяца после фиксации аппарата) и после курса коррекции. Для коррекции микробного состава зубной бляшки проводили обработку полости рта раствором антисептика (0,1% раствор хлоргексидина биглюконата) в течение 7-10 дней, применение антисептического препарата осуществляли во время ортодонтического лечения.

Для микробиологического исследования проводили забор материала утром, до процедуры чистки зубов. Бактериологическому исследованию подвергали биоматериал зубного налёта и зубной бляшки детей группы обследования, который забирали в пришеечной области с вестибулярной поверхности центрального резца верхней челюсти с помощью стерильного эскаватора и помещали в тиогликолевую питательную среду для последующей транспортировки. Использование жидкой транспортной тиогликолевой среды обеспечивало максимальный высеиваемый факультативно-анаэробных микроорганизмов. Не позднее, чем через два часа после забора, материал доставляли в бактериологическую лабораторию для проведения бактериологического посева. Готовили серию двухкратных разведений исходного матери-

ала $10^3 - 10^{12}$ для дальнейшего выделения микроорганизмов: на желточно – солевой агар для стафилококков; для выявления стрептококков – на кровяной агар с азидом натрия, селективно-дифференциальный агар «mitis-salivarius» фирмы Himedia и на 5% кровяной гемин-агар, для выделения бактерий рода *Haemophilus*, *Neisseria* производили посев на шоколадный агар с линкомицином; на среду Эндо – для энтеробактерий; на среду Блаурокка – для выделения бифидумбактерий; на лактобакагар для лактобактерий. Биохимическую идентификацию чистых культур микроорганизмов проводили с помощью тест-систем фирмы API (Франция) и Roche (Германия). Дрожжеподобные грибы рода *Candida* выделяли на среде CandiSelect 4 (BioRad, Франция). После культивирования осуществляли количественный подсчет колоний каждого вида с учетом посевной дозы и степени разведения биосубстрата. Видовая идентификация выделенных чистых культур микроорганизмов осуществлялась на основании изучения их морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических и антигенных свойств в соответствии с определителем Берджи (Дж. Хоулт, 1997), приказом №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (1985). По числу полученных изолированных колоний определяли количественную обсемененность биоматериала, которую выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (CFU/ml).

Биометрический анализ осуществлялся с использованием пакетов STATISTICA-6, БИОСТАТИСТИКА, возможностей программы Microsoft Excel. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05. При этом значения p могли ранжироваться по 3 уровням достигнутых статистически значимых различий: $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведения микробиологического исследования микробного состава биоматериала зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями, находящихся в начале ортодонтического лечения, при использовании несъемных аппаратов, показали выявление разнообраз-

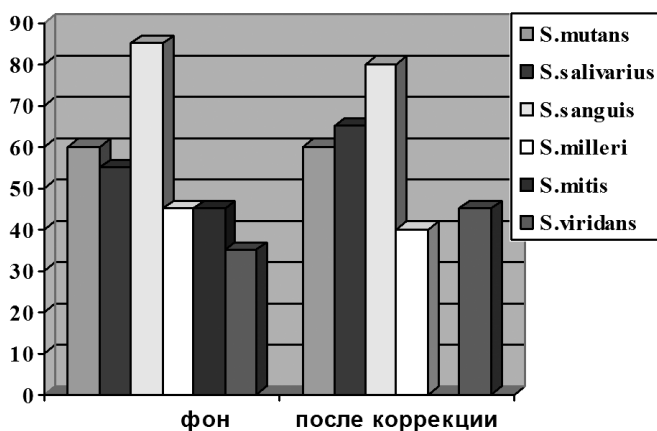


Рис. 1. Выявление микроорганизмов рода *Streptococcus* в биоматериале у детей группы обследования после курса коррекции 0,1% раствором хлоргексидина биглюконата.

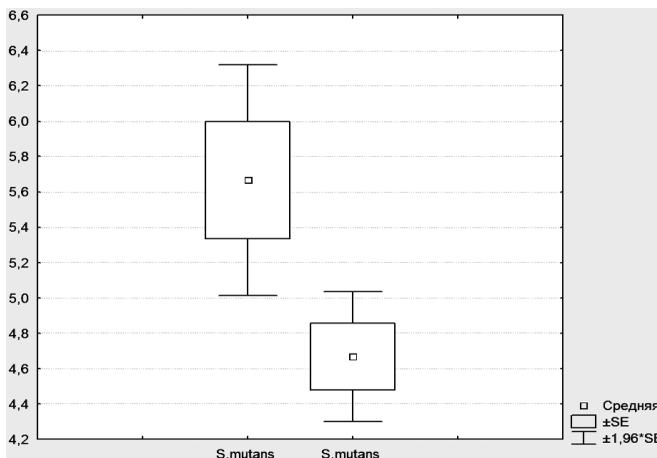


Рис.3. Динамика количественной характеристики микроорганизмов вида *S. mutans* в биоматериале после антисептического курса коррекции

ной микробиоты, среди ассоциантов устанавливали представителей различных родов – *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Micrococcus*, *Lactobacterium*, *Corynebacterium*, *K.pneumoniae*. Помимо бактерий регистрировали наличие дрожжеподобных грибов, принадлежащих к роду *Candida* (виду *C. albicans*). С наибольшей частотой отмечали выделение микроорганизмов, принадлежащих к роду *Streptococcus*, виду *S.sanguis* (85% случаев) и *S.mutans* (60% случаев). Интересно отметить выявление среди группы оральных стрептококков также других представителей этого рода – *S.salivarius*, *S.milleri*, *S.mitis*, *S.viridans* (Рис.1).

Проведение бактериологического исследования микробиоты биоматериала после курса использования антисептика 0,1% раствора хлоргексидина биглюконата установило, что выявление *S.mutans* осталось прежним, а *S.salivarius* и *S.viridans* стали выделяться чаще, частота выделения стрептококков *S.sanguis* и *S.milleri* несколько снизилась, однако выявленные изменения не носили статистически значимый характер. Изучение количественной характеристики выделенных стрептококков установило наиболее высокую фоновую концентрацию *S.mitis* и *S.viridans*, уровень их обсемененности, выраженный через десятичный логарифм, составил соответственно 6,55 и 6,28 (около 10^6 CFU/ml). Рис. 2 показывает, что в наиболее низких концентрациях отмечали выявление стрептококков вида *S.milleri*. После проведенного курса использования антисептика регистрировали определенное снижение микробной концентрации, однако наиболее выраженный характер наблюдаемых изменений установлен у стрептококков видов *S.mutans* и *S.milleri* (Рис. 3). Оральные стрептококки *S.sanguis*, *S.mitis*, *S.viridans* проявляли наибольшую устойчивость по отношению к антисептику и их количественное содержание в зубной бляшке не изменилось после проведенного курса применения антисептического препарата.

Помимо стрептококков из микробиоты зубного налёта и зубной бляшки были выделены представители рода *Enterococcus*, принадлежащие к видам *E.faecalis* и *E.faecium*. Микроорганизмы вида *E.faecalis* выделялись достоверно чаще из исследованного биосубстрата. Следует отметить, что количественная характеристика энтерококков отчетливо изменилась в сторону сни-

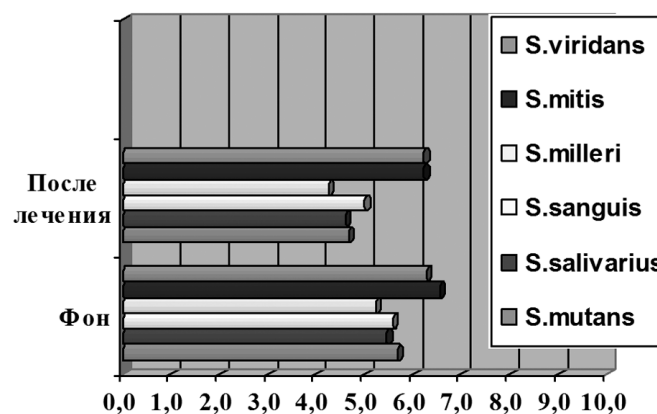


Рис. 2. Изменение количественной характеристики микроорганизмов рода *Streptococcus* в биоматериале у детей группы обследования после курса коррекции 0,1% раствором хлоргексидина биглюконата.

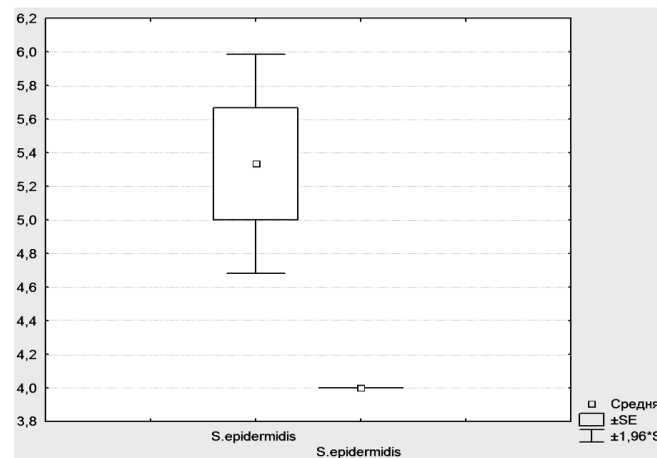


Рис. 4. Динамика количественной характеристики микроорганизмов вида *S. epidermidis* в биоматериале после антисептического курса коррекции

жения их концентрации, что происходило после проведения курса обработки антисептиком. Вид *E.faecium* после корректирующего курса не идентифицировали ($p < 0,01$). Среди представителей рода *Staphylococcus* выделяли 3 вида - *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*, причём вид *S.epidermidis* значительно чаще входил в микробный ассоциативный состав исследованного биоматериала детей. Вместе с тем, проведение микробиологического исследования после курса использования антисептика показало, что частота выявления этого условно-патогенного микроорганизма не изменилась и осталась прежней в начале исследования – 30,0% случаев. Виды стафилококков – *S.aureus* и *S.saprophyticus* стали идентифицировать несколько реже. Проведение курса обработки 0,1% раствором хлоргексидина биглюконата не изменило концентрацию выделения *S.aureus* в составе биоматериала, но способствовало снижению количественного содержания выявляемых условно-патогенных видов стафилококков *S.epidermidis* и *S.saprophyticus*. (Рис.4).

Высеваемость дрожжеподобных грибов рода *Candida*, принадлежащих к виду *Candida albicans*, после корректирующего курса обработки антисептиком возросла до 45% случаев в сравнении с фоновым выявлением в 25,0% случаев, вместе с тем, их количественная характеристика выявления существенно не изменилась. Представители микробиоценоза изучаемого биотопа, принадлежащие к родам *Neisseria* spp., *Miccosoccus* spp. выявляли в 35,0% случаев до обработки антисептическим препаратом, причём уровень обсеменённости, выраженный через десятичный логарифм, составил соответственно, $6,0 \pm 1,14 \pm (10^6 \text{ CFU/ml})$. Антисептический курс коррекции привёл к некоторому снижению количественной характеристики их содержания в биоматериале, но на уровень их выявления не повлиял, так как эти микроорганизмы продолжали высеваться в 35,0 % случаев. Условно-патогенные ассоциаты биотопа *Corynebacterium* spp. и *K.pneumoniae* не изменили свою количественную характеристику и высевались на исходном фоновом уровне после антисептического курса (10^6 CFU/ml). Следует отметить, что эти бактерии выявляли редко - в 5,5% случаев до и после обработки антисептиком.

Выводы

При изучении микробиоценоза зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями и деформациями, использующих несъёмные ортодонтические аппараты, установлено высокое содержание микроорганизмов как кариесогенной, так и ассоциативной группы, принадлежащих к различным родам: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Miccosoccus*, *Corynebacterium*, *Lactobacterium*, *Klebsiella*. Помимо бактерий отмечали наличие дрожжеподобных грибов, принадлежащих к роду *Candida* (виду *C. albicans*).

2. Микробиологический анализ содержания оральных стрептококков показал, что стрептококки, принадлежащие к кариесогенному виду *S.sanguis* доминировали в биосубстрате (85,0 случаев). Кариесогенный вид - *Streptococcus mutans* выделен в 60,0% случаев. Уровень обсеменённости выделенных кариесогенных стрептококков оказался достаточно высоким (около 10^6 CFU/ml).

3. Выявленные представители микробиоценоза зубной бляшки имели различную количественную характеристику, уровень микробной обсеменённости после корректирующего курса обработки антисептическим препаратом 0,1% раствором хлоргексидина биглюконата изменялся в различной степени в зависимости от видовой принадлежности микроорганизма.

Результаты исследований свидетельствуют о возможном влиянии на развитие кариеса помимо ведущего кариесогенного стрептококка – *Streptococcus mutans* и других микроорганизмов, являющихся представителями рода *Streptococcus* – *S.sanguis*, *S.salivarius*, *S.milleri*, что необходимо учитывать при проведении оценки сложного и динамичного состава зубной бляшки.

Полученные результаты показывают необходимость динамичного изучения микробиоценоза биоматериала зубного налёта и зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями, использующих несъёмные ортодонтические аппараты в процессе активного лечения.

Проведение корректирующего курса антисептическим препаратом способствует снижению количественного содержания отдельных видов микроорганизмов в биосубстрате зубного налёта и зубной бляшки у детей, находящихся на активном ортодонтическом лечении. Данное заключение подтверждается результатами исследований (4) об отсутствии эффективной коррекции микробной колонизации аналогичного биоматериала. В связи с этим остаётся открытым вопрос поиска и разработки комплекса мероприятий, направленных на улучшение и дальнейшую стойкую стабилизацию микробиоценоза зубной бляшки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванова Ю.А., Богатырьков Д.В., Оспанова Г.Б. //Клиническая стоматология. - 2007. - №1.(41).- С. 66-68.
2. Стоматологическая профилактика у детей / В.Г. Сунцов., В.К. Леонтьев, В.А. Дистель, В.Д. Вагнер, О.В. Мацкиева. – Омск: Изд-во ОмГМА, 2009. – 416с.
3. Фадеев Р.А., Бобров А.П., Кисельникова Л.П. //Институт стоматологии. – 2007. - №3. – С. 26-27.

6. Аутио-Gold J Роль хлоргексидина в профилактике кариеса. Опер Дент. 2008; 33 (6):710

4. Berlutti F, Catizone A, Ricci G, Frioni A, Natalizi T, Valenti P, Polimeni A. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* are able to adhere and invade human gingival fibroblast cell line. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010; 23(4):1253-1260.

5. Dubroc GC Jr., Mayo JA, Rankine CA. Reduction of caries and of demineralization around orthodontic brackets: effect of a fluoride-releasing resin in the rat model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1994; 106 (6):583-587.

6. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res.* 1994;73(7):1236.

7. Kleinberg I.A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):108-125.

8. Valera MC, Salvia AC, Maekawa LE, Camargo SE, Carvalho CA, Camargo CH, Koga-Ito CY. Antimicrobial analysis of chlorhexidine gel and intracanal medicaments against microorganisms inoculated in root canals. *Minerva Stomatol.* 2010; 59(7-8):415-421.

9. Wilson RM, Donly KJ. Demineralization around orthodontic brackets bonded with resin-modified glass ionomer cement and fluoride-releasing resin composite. *Pediatr Dent.* 2001; 23 (3):255-259.

Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Suntsov V.G. **SPECIAL FEATURES OF THE DYNAMICS OF MICROBIOCENOSIS OF THE DENTAL PLATELET OF CHILDREN WITH THE CORRECTION BY THE PREPARATION 0,1% CHLORGEKSIDINA BY BIGLUCONATE IN THE PROCESS OF THE ORTHODONTIC TREATMENT OF THE MAXILLODENTAL ANOMALIES**

Abstract. Is studied the microbial composition of biomaterial of dental attack and dental platelet in children c by the maxillo dental anomalies of age from 9 to 15 years, which are found on the orthodontic treatment with the use of nondetachable orthodontic apparatuses, is carried out the estimation of the effectiveness of the antiseptic influence of the preparation 0,1% chlorgeksidina of bigluconate. Is established the high content of the microorganisms both the kariesogennoy and associative group, which belong to different kinds, they noted the presence of yeastlike fungi (form *C. albicans*). The streptococci of the form of *s.sanguis* prevailed in the biosubstratum (85,0% cases), the kariesogennoy form - *Streptococcus* of mutans was isolated in 60,0% of cases. The obtained results show the need for the dynamic study of microbiocenosis of biomaterial of dental attack and dental platelet in children with the maxillo dental anomalies, who are found on the active orthodontic treatment.

The keywords: microbiocenosis, dental platelet, dental attack, the orthodontic treatment.

Авторская справка

Чеснокова Марина Геннадьевна

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия; кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Сунцов Валерий Гурьевич

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия; кафедра стоматологии детского возраста

Чесноков Вячеслав Анатольевич

MUZ ДСП №1, г. Омск; врач стоматолог-ортодонт

Российская Федерация, 644070, г. Омск-70, А. Нейбута 11, кв. 173

e-mail: chesnokova_marin@mail.ru

Authors

Chesnokova Marina G.;

HOU WPO of the Omsk state medical academy; Department of microbiology, virology and immunology

Suntsov Valerie G.

HOU WPO of the Omsk state medical academy, the department of stomatology of the childhood

Chesnokov Vyacheslav A.

MUZ DSP №1, Omsk; stomatologist-ortodont

The Russian Federation, 644070, g. Omsk -70, A. Neybuta, 11, sq. 173

e-mail: chesnokova_marin@mail.ru

Чернышева Н.Д., Назукин А.С., Хонина Т.Г., Тосова И.Н.
**ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ ПРЕПАРАТА «СИЛАТИВИТ»
 ПРИ ПРИМЕНЕНИИ У ДОБРОВОЛЬЦЕВ**

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия;
 ФБГУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
 Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия;
 Учреждение Российской академии наук Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН,
 г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В соответствии с критериями включения и невключения протокола I фазы клинических испытаний препарата «Силативит», предназначенного для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний, в исследование были включены 20 здоровых добровольцев, распределенных на 3 группы. Добровольцы в каждой группе наносили препарат «Силативит» на область десны и слизистую оболочку щеки по предложенной схеме. Оценку переносимости и безопасности определяли на основании субъективных и объективных данных, учитывали динамику показателей клинического и биохимического анализа крови, общеклинического анализа мочи. Анализ динамики показателей крови и мочи не выявил каких-либо существенных отклонений от нормы.

Ключевые слова: препарат «Силативит»; слизистая оболочка полости рта; лабораторные показатели крови и мочи.

Актуальность

Новый оригинальный отечественный препарат «Силативит» (кремнийорганический глицерогидрогель состава $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$), обладающий высокой противовоспалительной, регенерирующей и транскутанной активностью, разработан в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН [1]. Препарат предназначен для местного лечения воспалительных заболеваний полости рта: хронический генерализованный гингивит, хронический пародонтит легкой степени тяжести, красный плоский лишай (экссудативно-гиперемическая форма, эрозивная форма), травматические поражения слизистой оболочки полости рта, хронический рецидивирующий афтозный стоматит [2–6].

Препарат представляет собой гелеобразную полупрозрачную массу белого цвета, без запаха; относится к группе средств для местного и наружного применения.

Достоинства «Силативита»:

- экономичен и прост в получении;
- не токсичен, не кумулируется, не вызывает местных и системных аллергических реакций;
- содержит эссенциальный микроэлемент кремний, стимулирующий репаративные процессы в тканях, благоприятно влияет на процессы эпителизации;
- обладает транскутанной и трансмукозной активностью;
- проявляет противовоспалительное и противоотечное действие;
- не подвергается микробной контаминации;
- совместим с антимикробными и другими действующими веществами.

В ходе доклинических исследований показана безопасность применения кремнийорганического глицерогидрогеля, подтверждена его фармакологическая активность как противовоспалительного, регенерирующего, ранозаживляющего средства для местного и наружного применения с транскутанной активностью.

С помощью общепринятых методов (формалиновый отек и повышение температуры тела) [7], а также на модели аутоиммунного заболевания слюнных желез у крыс [8] показана высокая противовоспалительная и противоотечная активность кремнийорганического глицерогидрогеля.

На примере термического ожога у экспериментальных животных подтверждена высокая регенерирующая и ранозаживляющая активность кремнийорганического глицерогидрогеля [9].

Транскутанная активность исследуемого препарата изучена *in vitro* – на кожных лоскутах белых крыс и лягушек и *in vivo* – на кроликах и лягушках с применением различных лекарственных средств. Показано, что препарат обладает выраженной транскутанной проводимостью медикаментозных средств в сравнении ДМСО, что позволяет снизить

дозу активных добавок в мазях с использованием кремнийорганического глицерогидрогеля [9].

Принимая во внимание данные доклинических исследований препарата «Силативит», доказывающие его низкую токсичность, высокую профилактическую и лечебную эффективность, представляется целесообразным проведение I фазы клинических исследований, а именно, изучение безопасности и переносимости при разных режимах дозирования у здоровых добровольцев.

Цель работы – оценить безопасность и переносимость препарата «Силативит» при применении у добровольцев.

Материалы и методы

На клиническое исследование препарата получено разрешение Комитета по Этике при Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 23 июня 2010 года (протокол № 72).

В качестве добровольцев выступали студенты стоматологического факультета третьего и пятого курсов Уральской государственной медицинской академии. Испытуемым была предоставлена информация о препарате «Силативит», методике применения и методах обследования. Все добровольцы были застрахованы страховой компанией ОАО СК «Росно» (№Г44 -6510510/1 от 17 мая 2010 года).

После подписания информированного согласия на участие в исследовании здоровые волонтеры проходили скрининговое обследование, включающее:

- оценку соответствия критериям включения/невключения;
- регистрацию демографических данных (дата рождения, пол);
- сбор медицинского анамнеза, включая перенесенные заболевания и хирургические операции;
- объективный осмотр врачом терапевтом и кардиологом;
- респрос;
- физикальное обследование: клинический и биохимический анализ крови (общий белок, АЛТ, АСТ, глюкоза, мочевины, креатинин), общеклинический анализ мочи, ЭКГ, АД, пульс.

Отбор субъектов-добровольцев осуществляется на основании критериев включения/невключения.

Критерии включения:

- здоровые добровольцы в возрасте от 18 до 30 лет, обою пола;
- негативный тест на беременность;
- отказ от беременности на весь период исследований;
- информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

Критерии невключения:

Критериями, не позволяющими принять участие в исследовании, служат:

- беременность или кормление грудью;
- сопутствующие любые хронические заболевания;
- предшествующая терапия системными противоопухолевыми, иммуносупрессивными или иммуномодулирующими препаратами (в течение 6 месяцев, предшествующих исследованию);
- серьезные психические расстройства, потребовавшие лечения антидепрессантами, большими дозами транквилизаторов, госпитализации, либо повлекшие утрату трудоспособности;
- наркомания, алкоголизм;
- патология щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит);
- заболевания, связанные с нарушениями иммунной системы, сахарный диабет, тяжелая легочная, сердечно-сосудистая, почечная патология и другие заболевания, которые, по мнению исследователя, не позволят пациенту участвовать в исследовании;
- ВИЧ-инфекция;

- гепатиты В и С;
- недавнее участие в каком-либо клиническом исследовании (6 месяцев);

- невозможность или нежелание дать информированное согласие на участие в исследовании или на выполнение требований исследования.

В ходе применения исследования все участники клинического испытания не должны были применять лекарственные препараты, которые могли повлиять на результат исследования:

- применение нестероидных противовоспалительных препаратов;
- применение глюкокортикостероидов;
- применение антибактериальных средств;
- полоскание полости рта хлоргексидином;
- полоскание полости рта антисептическими и/или вяжущими растворами.

На основании базовой информации о добровольце, его анамнеза, сведений о предшествующей терапии, субъект включался в список участников исследования (20 здоровых добровольцев) и распределялся в одну из трех групп: первая и вторая группы по 7 волонтеров; третья – 6 волонтеров.

Условием включения в группу добровольцев являлось также общее удовлетворительное состояние субъекта и его стоматологический статус – удовлетворительное состояние полости рта (десен, слизистой щек, неба, зубных рядов), а также кожных покровов лица и проекции слюнных желез.

После проведения обследования добровольцы получали препарат и наносили его на область десны и слизистую оболочку щеки по следующей предложенной схеме. Добровольцы всех трех групп смазывали область десны и слизистую оболочку щеки в течение 10 дней. Добровольцы первой группы – по 0,1 г 1 раз в день; второй группы – по 0,3 г 2 раза в день; третьей группы – по 0,5 г 3 раза в день. Непосредственно после применения препарата волонтеры воздерживались от приема пищи и полоскания полости рта в течение одного часа.

Оценка переносимости и безопасности происходила на основании субъективных жалоб и объективных данных, полученных в ходе исследования. Учитывалась динамика показателей клинического и биохимического анализа крови и мочи, частота возникновения и характер побочных явлений.

Контрольный стоматологический осмотр проводился на 1, 3, 7 и 10 дни исследования. Результаты фиксировали в индивидуальную регистрационную карту. Осмотр врачом терапевтом и лабораторные методы обследования проводили до применения препарата и по окончании применения препарата на 11 день.

Результаты исследования и их обсуждение. В течение периода исследования добровольцы не отмечали каких-либо изменений со стороны полости рта и в целом организма. Большинство испытуемых отметили сладковатый привкус после нанесения препарата на область десны и слизистую оболочку щеки.

Анализ динамики показателей клинического и биохимического анализа крови не выявил каких-либо существенных изменений до и после применения препарата ни в одной из испытуемых групп. В таблицах 1 и 2 приведены усредненные данные анализов крови у добровольцев до и после применения препарата «Силативит».

Таблица 1

Клинический анализ крови у добровольцев (n*=20)

Исследуемые показатели	До применения «Силативита»	После применения «Силативита»	Норма
Гемоглобин, г/л М	137,50±3,60	136±3,50	130–160
Гемоглобин, г/л Ж	122,60±2,60	121,10±2,50	120–140
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,19±1,00	4,36±1,02	4,30–5,70
Цветной показатель	0,87±0,46	0,88±0,46	0,86–1,05
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,01±1,09	4,68±1,05	4,50–11,00
Лимфоциты, %	24,60±2,10	25,30±2,20	24,00–30,00
Моноциты, %	6,80±1,25	7,50±1,31	6,00–8,00
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	225±8,40	235±8,90	150–400
СОЭ, мм/ч	4,90±1,07	5,40±1,13	до 15

*n – количество добровольцев (20 человек).

Таблица 2

Биохимический анализ крови у добровольцев (n*=20)

Исследуемые показатели	До применения «Силативита»	После применения «Силативита»	Норма
Мочевина, ммоль/л	4,30±1,01	4,40±1,02	2,50–8,30
Креатинин, мкмоль/л	61,80±2,42	59,70±2,45	Меньше 97
Общий белок, г/л	74,10±2,20	71,50±2,25	65,00–85,00
Глюкоза, ммоль/л	4,50±1,03	4,50±1,03	3,50–6,00
АЛТ, мкмоль/ч×мл	0,40±0,31	0,42±0,32	0,10–0,68
АСТ, мкмоль/ч×мл	0,34±0,29	0,39±0,31	0,10–0,45

*n – количество добровольцев (20 человек).

В динамике показателей общеклинического анализа мочи также не выявлено каких-либо изменений в сравнении с нормой (таблица 3).

Таблица 3

Лабораторные показатели мочи у добровольцев (n*=20)

Исследуемые показатели	До применения «Силативита»	После применения «Силативита»	Норма
Глюкоза, ммоль/л	отсутствует	отсутствует	отсутствует
Билирубин	отсутствует	отсутствует	отсутствует
Кетоновые тела, ммоль/л	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют
Удельная масса, г/мл	1,03±0,50	1,03±0,50	1,02 и более
Эритроциты в мкл мочи	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют
pH	6,30±1,21	6,05±1,19	меньше 7
Белок	отсутствует	отсутствует	отсутствует
Уробилиноген, мг/л	0,20±0,22	0,25±0,24	5–10
Нитриты	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют
Лейкоциты, ед. М	отсутствуют	отсутствуют	0–3 в поле зрения для мужчин
Лейкоциты, ед. Ж	отсутствуют	отсутствуют	0–6 в поле зрения для женщин

*n – количество добровольцев (20 человек).

За время наблюдения за добровольцами при применении препарата «Силативит» не было зарегистрировано ни одного нежелательного явления.

Заключение. В результате проведенных клинических испытаний препарата «Силативит» у добровольцев установлено:

- при нанесении на область десны и слизистую оболочку щеки препарата «Силативит» от 1 до 3 раз в сутки в дозах от 0,1 до 0,5, соответственно, в течение 10 дней не выявлено системных токсических проявлений, не обнаружено аллергизирующего, анафилактического и гипертермического действия;

- препарат не вызывает местно-раздражающего действия со стороны слизистой оболочки полости рта (жжение, саднение, болезненности, сухости), что подтверждено субъективными и объективными данными (отсутствие отека, гиперемии, нарушения целостности слизистой).

Таким образом, проведенное исследование оценки безопасности и переносимости препарата «Силативит» при применении у здоровых добровольцев не выявило ни одного побочного эффекта, как со стороны полости рта, так и со стороны организма. Поэтому можно признать переносимость препарата «Силативит» как хорошую.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глицераты кремния, обладающие транскутанной проводимостью медикаментозных средств, и глицерогидрогели на их основе: пат. 2255939 Рос. Федерация. №2003124688/04; заявл. 07.08.2003; опубл. 10.07.2005, Бюл. № 19.
2. Средство для лечения воспалительных заболеваний пародонта: пат. 2296556 Рос. Федерация. №2005119112/15; заявл. 20.06.2005;

опубл. 10.04.2007, Бюл. № 10.

3. Способ лечения пародонтита: пат. 2330645 Рос. Федерация. №2006126476/14; заявл. 20.07.2006; опубл. 10.08.2008, Бюл. № 22.

4. Tosova I.N., Khonina T.G., Chernysheva N.D., Safiullina I.I., Ron' G.I. Usage of glycerohydrogel «Silativit» and its compositions in the local treatment of phlogistic dental diseases // Materials of XI Andrianov conference «Organosilicon compounds. Synthesis, properties, applications». Moscow, 2010. P. 165.

5. Чернышева Н.Д. Средство для лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта. Материалы научной конференции «Человек и лекарства», Москва, 5 – 8 апреля 2008 г. С.19-20.

6. Чернышева Н.Д. Опыт применения лекарственного средства на основе кремнийорганического глицерогеля. Материалы Общероссийского конгресса «Стоматология Большого Урала» «Профилактика и лечение заболеваний пародонта». Екатеринбург, 2-4 апреля 2008г. С. 37-38.

7. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 832 с.

8. Способ моделирования аутоиммунного заболевания слюнных желез: пат. 2316056 Рос. Федерация. №2006126427/14; заявл. 20.07.2006; опубл. 27.01.2008, Бюл. № 3.

9. Хонина Т.Г., Чулахин О.Н., Ларионов Л.П. и др. Синтез, токсичность и трансдермальная проницаемость глицератов кремния и гидрогелей на их основе // Химико-фармацевтический журнал. 2008. № 11, с. 5-9.

*Chernysheva N.D., Nazukin A.S.,
Khonina T.G., Tosova I.N.*

EVALUATION OF THE SAFETY AND TOLERABILITY OF THE DRUG «SILATIVIT» IN TESTING ON VOLUNTEERS

Abstract. In accordance with the criteria of inclusion and exclusion protocol of I phase clinical trials of the drug «Silativit» intended for the local treatment of inflammatory dentistry diseases 20 healthy volunteers divided into 3 groups were included in the study. Volunteers in each group applied the drug «Silativit» to the area the gum and the buccal mucosa of the proposed scheme. Evaluate the tolerability and safety was determined on the basis of subjective and objective data to take into account the dynamics of the clinical and biochemical blood analysis and common clinical urine analysis. Any significant deviations from the norm was not reveal in analysis of the dynamics of the blood and urine tests.

Keywords: drug «Silativit»; oral mucosa; laboratory blood and urine.

Авторская справка

Нина Дмитриевна Чернышева

ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии, Россия, г. Екатеринбург

e-mail: ugma-zub@yandex.ru

Россия, 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Назукин Александр Сергеевич

ФБГУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, диагностическое лабораторное отделение, Россия, г. Екатеринбург; к.м.н., зав. диагностическим лабораторным отделением

e-mail: dr_nazukin@mail.ru

Россия, 620014, г. Екатеринбург, ул. Попова, 30

Хонина Татьяна Григорьевна

Учреждение Российской академии наук Институт органического синтеза им. И.Я. Попова Уральского отделения РАН, лаборатория органических материалов, Россия, г. Екатеринбург; к.х.н., старший научный сотрудник

e-mail: khonina@ios.uran.ru

Россия, 620041, г. Екатеринбург, ул. С.Ковалевской, 22/Академическая, 20

Тосова Ирина Николаевна

Учреждение Российской академии наук Институт органического синтеза им. И.Я. Попова Уральского отделения РАН, лаборатория органических материалов, Россия, г. Екатеринбург; аспирант

e-mail: intosova@gmail.com

Россия, 620041, г. Екатеринбург, ул. С.Ковалевской, 22/Академическая, 20

Authors

Chernysheva Nina D., Ural State Medical Academy of the Health Ministry and Social Development of Russian Federation, the Therapeutical Dentistry Department, Russia, Ekaterinburg; MD, Junior Researcher Sellow of the Therapeutical Dentistry Department

e-mail: ugma-zub@yandex.ru

620219, Russia, Ekaterinburg, 3 Repina st.

Nazukin Alexandr S.,

Ekaterinburg Medical Research Center of Prevention and Workers Health Care of Industrial Enterprises of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, the Diagnostic Laboratory Department, Russia, Ekaterinburg; MD, Head of the Diagnostic Laboratory Department

e-mail: dr_nazukin@mail.ru;

620014, Russia, Ekaterinburg, 30 Popova st.

Khonina Tat'yana G.,

I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Russian Academy of Sciences, the Laboratory of Organic Materials, Russia, Ekaterinburg; PhD in Chemistry, Senior Researcher Sellow

e-mail: khonina@ios.uran.ru;

620041, Russia, Ekaterinburg, 22 S. Kovalevskoy

N.Tosova Irina

I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Russian Academy of Sciences, the Laboratory of Organic Materials, Russia, Ekaterinburg; postgraduate student

e-mail: intosova@gmail.com

620041, Russia, Ekaterinburg, 22 S. Kovalevskoy

ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ ПРОПРАНОЛОЛА НА ПОКАЗАТЕЛИ СОКРАТИМОСТИ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ГИПЕРКАЛЬЦИЕВОЙ ПРОБЫ

ГОУ ВПО Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, г. Ханты-Мансийск, Россия

Резюме. Пропранолол при однократном внутривенном введении в дозе 2 мг/100 г изменяет сократимость изолированного сердца, которое более очевидно в условиях гипоксической перфузии, реоксигенации и гиперкальциевой перфузии и реперфузии.

Ключевые слова: отравление, пропранолол, изолированное сердце, гипоксическая и гиперкальциевая проба.

Введение

Значимость изучения основных звеньев патогенеза токсического влияния пропранолола на миокард, учитывая литературные данные [3, 7] и возрастающее число острой химической травмы в РФ, не вызывает сомнения [2]. Возникающие кардио- и гемодинамические нарушения, «первичный кардиотоксический эффект» при токсических концентрациях препарата в биологических средах часто приводят к экзотоксическому шоку и летальному исходу [3, 5].

Дефицит энергии, возникающий при химической травме и гипоксии, приводит к метаболическим и структурным нарушениям в различных органах и тканях, в том числе и в сердце [3, 6]. Необратимые изменения и гибель клеток обусловлены нарушением многих метаболических путей в цитоплазме и митохондриях [9, 10], возникновением ацидоза, повреждением биологических мембран, затрагивающим как липидный бислой, так и мембранные белки, включая ферменты [11]. Нарушение биоэнергетических процессов под воздействием химических веществ является одним из общебиологических механизмов реализации токсических эффектов, которые преимущественно связаны с митохондриальным структурно-метаболическим комплексом [6,10]. Учитывая, что исследований в данном направлении крайне мало, целью работы явилось изучение механизмов кардиодепрессии при токсических концентрациях пропранолола.

Материалы и методы исследования. С целью изучения сократительной функции миокарда при острых отравлениях пропранололом проведены исследования на 30 изолированных изоволюмически сокращающихся сердцах по E.L. Fallen et al. (1967). Данная модель исключает влияние экстракардиальных факторов на сократимость миокарда, и нарушения сократительной функции сердца могут быть обусловлены повреждением миокарда.

Исследования выполнены на 30 белых беспородных крысах-самцах массой 210±14 г. наркотизированных внутривенным введением калипсола (100 мг/кг). Опыты проводились с соблюдением принципов гуманного обращения с животными [1]. Крысам опытных групп внутривенно вводили пропранолол в дозе 2 мг/100 г (I группа – животные с гипоксической пробой – n=10; II группа – с гиперкальциевой пробой – n=10). Контролем служили животные, наркотизированные калипсолом. Продолжительность эксперимента составила 60 минут [12]. На 60-й минуте эксперимента после введения калипсола, выполняли срединную торакотомию, сердце извлекали и погружали в охлажденный до 2-4°C раствор Кребса-Хензелята. Затем сердце

фиксируют, надев аорту на канюлю перфузионной установки, межпредсердную перегородку прошивали с целью устранения спонтанного ритма. Через частично резецированное левое предсердие в левый желудочек вводили латексный баллончик постоянного объема и фиксировали его лигатурой у основания сердца. Перфузию осуществляли через аорту раствором Кребса-Хензелята, подогретым до 37°C и насыщенным карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) под давлением 70 мм рт.ст. Навязывание ритма осуществляли прямоугольными импульсами длительностью 3 мс, напряжением на 10% выше порогового с частотой 240 мин⁻¹, используя электростимулятор ЭС-50-1. Латексный баллончик, заполненный раствором Кребса-Хензелята, соединяли с датчиком электроманометра ВМТ (Германия), благодаря чему механические колебания внутрижелудочкового давления преобразовывались в электрические и подавались на самописец НЗ38-III. На основании графического материала рассчитывали комплекс силовых (систолическое, диастолическое и развиваемое давление) и скоростных (+dp/dt max - максимальная скорость увеличения; -dp/dt max - максимальная скорость уменьшения внутрижелудочкового давления) показателей [4], а также дефект диастолы, позволявших оценивать сократительную функцию сердца. Поскольку распределение изучавшихся показателей в динамическом ряду было нормальным, то статистическую обработку результатов проводили, используя параметрические методы и определяя среднюю арифметическую (M), ее ошибку (m) и достоверность различий между средними и относительными величинами по критерию Стьюдента (t) в программе Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. В ранее опубликованных работах [5, 8] мы показали, что кардиомиоциты в условиях воздействия пропранолола не в состоянии обеспечить должные метаболические и функциональные приспособительные изменения, которые позволили бы миокарду реагировать на увеличение нагрузки, подключая резервный источник образования энергии – анаэробный гликолиз. Поэтому, нами проведены исследования влияния 10 мин гипоксической перфузии на сократительную функцию изолированных сердец крыс, перенесших часовое отравление пропранололом (табл. 1).

Сердца экспериментальных животных с первых минут гипоксической перфузии отвечали снижением систолического и развиваемого давления, достигая минимальных значений к концу 10 мин эксперимента в 1,3 и 5,5 раза по отношению к исходным значениям. По мере углубления гипоксии отмечалось уменьшение скоростных показателей сократимости - максимальной скорости сокращения на 43,7% и 73% и расслабления на 60,6% и 73,6%. Диастолическое давление на фоне гипоксии возрастало (табл. 1) и на 10 мин было выше контроля и опыта в 1,3 и 2,5 раза.

Полученные данные позволяют сделать два заключения: во-первых, при гипоксической перфузии угнетаются как процессы расслабления, так и процессы сокращения, и, во-вторых, острое отравление пропранололом делает изолированные сердца более чувствительными к гипоксии.

Таблица 1

Чувствительность к гипоксии изолированных сердец крыс, подвергнутых токсическому действию пропранолола (M±m)

Показатели	Группы животных	Исходные величины	Гипоксия, мин		Реоксигенация, мин	
			10	10	10	10
Систолическое давление, мм рт. ст.	К	56,3 ± 1,4	26,1 ± 1,3	53,8 ± 1,8		
	О	27,8 ± 0,7*	20,2 ± 1,4* ^	30,1 ± 1,6* ^		
Диастолическое давление, мм рт. ст.	К	4,8 ± 0,2	11,1 ± 0,5	8,1 ± 0,6		
	О	5,7 ± 0,3*	14,3 ± 0,8* ^	12,0 ± 0,9* ^		
Развиваемое давление, мм рт. ст.	К	51,2 ± 1,5	15,1 ± 1,6	46,1 ± 1,4		
	О	31,4 ± 0,7*	5,7 ± 0,2* ^	20,3 ± 0,3* ^		
Скорость сокращения, мм рт. ст. / с	К	1112 ± 21	318 ± 22	977 ± 19		
	О	662 ± 16*	179 ± 8* ^	301 ± 12* ^		
Скорость расслабления, мм рт. ст. / с	К	841 ± 31	254 ± 12	636 ± 17		
	О	380 ± 10*	100 ± 7* ^	224 ± 16* ^		

Примечание. Группы животных: К - контроль (n=10); О - опыт – 2 мг (n=10); * - относительно контроля; ^ - относительно исходных данных, (p<0,05).

Таблица 2

Влияние острого отравления пропранололом и гипоксии на потребление глюкозы, выделение лактата, пирувата и ферментов изолированными сердцами крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных	Исходные величины	До гипоксии	Гипоксия 10 мин	Реоксигенация 10 мин
Глюкоза, ммоль/мин•кг	К	140,5 ± 0,7	162,1 ± 2,7	1020,0 ± 1,5	334,1 ± 2,8
	О	161,9 ± 0,9*	442,8 ± 2,9* ^	1391,0 ± 10,9* ^	501,7 ± 4,6* ^
Лактат, ммоль/мин•кг	К	43,6 ± 0,7	57,6 ± 0,5	104,6 ± 2,0	70,0 ± 0,6
	О	89,8 ± 1,2*	110,5 ± 2,4* ^	159,0 ± 2,0* ^	132,1 ± 2,6* ^
Пируват, ммоль/мин•кг	К	2,4 ± 0,04	3,4 ± 0,1	7,1 ± 0,03	5,2 ± 0,08
	О	17,9 ± 0,2*	24,0 ± 0,4* ^	37,5 ± 0,4* ^	25,2 ± 0,6* ^
АСТ, мккат/мин•г	К	1,9 ± 0,1	0,4 ± 0,001	0,3 ± 0,06	0,6 ± 0,03
	О	3,3 ± 0,1*	0,5 ± 0,004* ^	0,6 ± 0,006* ^	0,9 ± 0,01* ^
ЛДГ, мккат/мин•г	К	0,5 ± 0,06	0,2 ± 0,004	0,4 ± 0,01	0,1 ± 0,01
	О	1,3 ± 0,09*	0,7 ± 0,005*	1,3 ± 0,01*	0,5 ± 0,004* ^
КК-МВ, МЕ	К	1,4 ± 0,09	0,5 ± 0,003	0,5 ± 0,03	0,2 ± 0,02
	О	1,8 ± 0,03*	0,7 ± 0,002* ^	0,6 ± 0,03* ^	1,7 ± 0,05*

Примечание. К - (n=10); О - (n=10); * - относительно контроля, ^ - относительно исходных данных (p<0,05).

Таблица 3

Чувствительность изолированных сердец крыс к экзогенному кальцию при остром отравлении пропранололом ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных	Концентрация кальция в перфузионном растворе				
		2,5 ммоль/л	7,5 ммоль/л		2,5 ммоль/л	
		Исх.	1 мин	10 мин	2 мин	10 мин
Систолическое давление, мм рт. ст.	К	51,1±1,3	59,8±0,9	44,7±1,6	38,7±1,2	53,0±1,3
	О	37,4±2,5*	39,1±0,7*	31,2±0,7* ^	27,1±1,4* ^	контрактура
Диастолическое давление, мм рт. ст.	К	4,5±0,2	6,9±1,0	12,4±1,1	11,7±0,3	8,1±0,6
	О	5,7±0,6*	8,1±0,2 ^	13,5±0,5 ^	15,6±0,4* ^	контрактура
Развиваемое давление, мм рт. ст.	К	46,6±1,6	52,8±0,5	33,0±1,9	26,9±1,3	46,1±1,1
	О	31,7±1,2*	33,4±1,2*	20,2±1,0* ^	16,5±1,2* ^	контрактура
dp/dt max, мм рт. ст.	К	1035±25	1257±64	721±29	510±10	977±22
	О	583±19*	603±19*	374±10* ^	292±12* ^	контрактура
-dp/dt max, мм рт. ст.	К	778±14	878±12	420±16	315±9	636±15
	О	350±16*	435±8* ^	227±12* ^	174±12* ^	контрактура

Примечание. К - (n=10); О - (n=10); * - относительно контроля, ^ - относительно исходных данных (p<0,05).

Реоксигенация в течение 10 мин изолированных сердец контрольных животных обуславливала незначительное восстановление силовых и скоростных показателей сократимости (табл. 1). В опытной группе показатели сократимости были более низкими, а диастолическое давление более высоким, что, по-видимому, обусловлено «кардиотоксическим» воздействием токсиканта, доза которого способствовала усугублению реоксигенационных повреждений кардиомиоцитов. Так у животных опытной группы систолическое и диастолическое давление значимо превышало исходный уровень. Скорость сокращения и расслабления были меньше, чем исходные показатели на 54,5% и 41%. Сохраняющийся высокий уровень диастолического давления может свидетельствовать о развитии контрактур в кардиомиоцитах.

В ходе эксперимента определяли влияние гипоксической перфузии на выход в коронарный проток ферментов и метаболитов углеводного обмена (табл. 2). Гипоксическая проба снижала эффективность использования глюкозы изолированными сердцами, о чем можно судить по возраставшему выделению в проток на 10 мин лактата в 1,5 раза и пирувата в 5,2 раза по отношению к контролю и повышала уровень ферментов, что свидетельствует о генерализованном повреждении клеточных мембран кардиомиоцитов.

При восстановлении оксигенации потребление глюкозы на 1 мм рт. ст. развиваемого давления сердцами опытной группы уменьшалось по сравнению с показателями, зарегистрированными во время действия гипоксии, но оставалось выше исходного и превышало контрольные данные. На 10-й мин. реоксигенации уровень лактата и пирувата в опытной группе превышал контрольные значения в 1,8 и 4,8 раза. В реоксигенационный период усиливалась утечка ферментов из кардиомиоцитов (табл. 2).

Таким образом, гипоксия оказывает существенное влияние на сократительную функцию миокарда изолированных сердец с более значимыми изменениями у животных, перенесших острое часовое отрав-

ление пропранололом. Нарушение диастолического расслабления миокарда и сократительной функции сердца связано с гипоксией, в условиях которой нарушаются гликолитические процессы и возникает энергетический дефицит, что обуславливает ингибирование ферментов, участвующих в транспорте кальция, и способствует его накоплению в миоплазме. После возобновления оксигенации не происходит полного восстановления сократительной способности миокарда, которое может быть следствием энергетического дефицита, снижения активности Na-K-АТФазы и нарушения функции электрогенного насоса мембран. Внутриклеточный ацидоз, активация анаэробного гликолиза и накопления лактата, развивающиеся при гипоксии, снижают сократительную функцию миокарда.

Метаболические изменения в миокарде экспериментальных животных, подвергнутых воздействию пропранолола, вероятно, обусловлены энергетическим дефицитом вследствие разобщения окисления и фосфорилирования ацидозом, повреждением мембран кардиомиоцитов, что проявилось увеличением выделения лактата и пирувата, неэффективным потреблением глюкозы и возрастанием выхода ферментов в коронарный проток. Выявленные метаболические нарушения оказались настолько выраженными, что даже реоксигенация оказалась неспособной улучшить метаболические процессы в миокарде, подвергнутом воздействию пропранолола.

Следующий этап экспериментов предполагал изучение влияния повышенной концентрации ионов кальция в перфузионном растворе на сократительную функцию изолированных сердец, перенесших острое часовое отравление пропранололом.

Перфузия контрольных сердец раствором с повышенной концентрацией ионов кальция (табл. 3) в течение первой минуты проявлялась положительным инотропным эффектом, что выражалось в возрастании систолического и развиваемого давления, скоростей сокращения и расслабления. Диастолическое давление начинало повышаться

ся с первой минуты перфузии и достигало максимальных значений на 10-й мин.

Сердца животных, перенесших 60 мин острое отравление пропранололом, в течение первой минуты гиперкальциевой перфузии обнаруживали положительный инотропный эффект. Затем инотропный эффект нивелировался, отмечалась выраженная кардиодепрессия, в результате чего силовые и скоростные показатели сократимости на 10-й мин перфузии уменьшались, а диастолическое давление возрастало, что свидетельствует о значительных повреждениях метаболизма и несостоятельности кальциевых насосов.

Реперфузия сердец раствором с нормальным содержанием кальция (2,5 ммоль/л) негативно повлияла на показатели сократимости сердец (табл. 3). В группе сердец, перенесших 60 мин отравление пропранололом, с началом реперфузии (2-я мин.) раствором с нормальным содержанием кальция, показатели сократимости снижались более значительно, чем в контроле (табл. 3). Диастолическое давление превышало контрольный уровень в 1,3 раза, а систолическое и развиваемое давление были меньше контрольных в 1,4 и 1,6 раза. Отмечалось снижение скорости сокращения и расслабления по отношению к контролю на 42,7% и 44,7%. К 10-й мин реперфузии контрольные сердца значительно ухудшали свое сокращение, а опытные сердца прекращали свое сокращение.

Полученные данные свидетельствуют о том, что перфузия раствором с увеличенным содержанием кальция и последующая реперфузия исходным раствором в разной степени отражается на деятельности изолированных сердец контрольных животных и животных, перенесших острое отравление пропранололом. Отсутствие положительного инотропного эффекта в группе сердец с токсической дозой пропранолола, позволяет предположить сочетанное нарушение как процессов сокращения миокарда, так и механизмов, ответственных за расслабление, результирующим фактором которых является несостоятельность кальциевых насосов сарколемы и СПР [4]. Прекращение сокращения на определенном этапе свидетельствует о несостоятельности механизмов, ответственных за процессы расслабления миокарда, в условиях увеличения концентрации ионов кальция и реперфузии [4, 5]. Результаты исследования свидетельствуют о существенных нарушениях механизмов сократимости сердец в условиях острого отравления пропранололом и важной роли в развитии этих нарушений дисбаланса в энергетическом обмене и метаболизме Ca^{2+} .

Выводы. Таким образом, проведенные исследования на изолированных изоволюмически сокращающихся сердцах позволяют утверждать, что пропранолол в токсических концентрациях подавляет энергетический метаболизм в миокарде, ингибирует активность транспортных АТФаз, повышает проницаемость мембран, что проявляется в угнетении сократительной функции миокарда, которое более отчетливо выражено в условиях гипоксической перфузии, реоксигенации и гиперкальциевой перфузии и реперфузии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитова Э.Х. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья / Э.Х. Абдрашитова, Т.И. Зайцев, Т.П. Комаровская // Ланималогия. - 1993. № 1. - С. 7-12.
2. Курляндский Б.А. Химическая безопасность России в свете задач госсанэпиднадзора // Токсикологический вестник. - 2007. - № 6. - С. 8-10.
3. Лужников Е.А., Остапенко Ю.Н., Суходолова Г.Н. Неотложные состояния при острых отравлениях. - М.: Медпрактика, - 2001. - 220 с.
4. Меерсон Ф.З. Адаптация сердца к большой нагрузке и сердечная недостаточность. - М.: Наука, 1975. - 264 с.
5. Сенцов В.Г. Токсическое поражение сердца при острых отравлениях // Сборник материалов IV съезда кардиологов Уральского федерального округа 17-18 февраля 2009. - Ханты-Мансийск, 2009. - С. 198-201.
6. Смирнов А.В., Криворучко Б.И. Антигипоксанты в неотложной медицине // Анестезиология и реаниматология. - 1998. - № 2. - С.50-55.
7. Элленхорн М.Дж. Медицинская токсикология. Диагностика и лечение отравлений у человека. - М.: Медицина, 2003. - С. 547-551.
8. Яцинюк Б.Б. Экспериментальные исследования изолированного сердца после острого отравления обзиданом // Тезисы Российской научной конференции 25-26 сентября 2008. - Екатеринбург, 2008. - С. 65-71.
9. Duchon M.R. Contributions of mitochondria to animal physiology: From homeostatic sensor to calcium signaling and cell death // J. Physiol. Proc. - 1999. - V. 516, № 1. - P. 1-17.

10. Garbe T.R. Yukawa H. Common solvent toxicity: autoxidation of respiratory redox-cyclers enforced by membrane derangement // Z Naturforsch [C]. - 2001. - V. 56, № 7-8. - P. 483-91.

11. Traber M.G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants // Miner. and Electrolyte Metab. - 1997. - V. 23, № 3-6. - P. 135-139.

12. Vucinis S. Stadin therapy of acute beta-blockers poisoning: [EVROTOX 2001, Istanbul, 13-16 Sept. 2001] // Toxicol. Lett. - 2001. - Vol. 123, №1. - P. 93.

Yatsinyuk B.B.

INFLUENCE OF TOXIC PROPRANOLOL DOSES ON INDICATORS OF CONTRACTION OF THE ISOLATED HEART IN CONDITIONS OF HYPOXY AND HYPERCALCIUM TEST

Abstract. Propranolol under one-shot intraperitoneal introduction to dose 2 milligrams to 100 grams change contractility of isolated heart which were force evidenced in the conditions hypoxic perfusion, reoxygenation and of hypercalcium perfusion and reperfusion.

Key words: poisoning, propranolol, isolated heart, hypoxyc and hypercalcium test.

Авторская справка

Яцинюк Борис Борисович

ГОУ ВПО «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»; зав. курсом реанимации, интенсивной терапии и экстремальной медицины, к.м.н., доцент.

Россия, 628011 Тюменская область, ХМАО-Югра, г. Ханты-Мансийск ул. Ленина 40

e-mail: tocsboris@mail.ru

Author

Yatsinyuk Boris B.

The Hanty-Mansiysk State Medical Academy. c.m.s., reader Course of resuscitation, intensive care and emergency medicine

Russia, 628011 Tyumen region, HMAO-Jugra, Khanty-Mansiysk, str Lenin 40

e-mail: tocsboris@mail.ru

Байкова Э.Р., Фазлыев М.М.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ МЕЖДУ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА, АССОЦИИРОВАННОЙ С *HELICOBACTER PYLORI* И АТРОФИЕЙ, ДИСПЛАЗИЕЙ, РАКОМ ЖЕЛУДКА (Обзор литературы)

Государственное бюджетное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет»

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Уфа, Россия

Резюме. В обзоре обобщены результаты исследований отечественных и иностранных авторов о роли неблагоприятного течения язвенной болезни желудка и наличия сопутствующих патологических изменений в эпителии данного органа в патогенезе развития рака.

Ключевые слова: язвенная болезнь желудка, *Helicobacter pylori*, дисплазия, атрофия, слизистая оболочка, рак.

Язвенная болезнь (ЯБ) желудка является одной из самых распространенных патологий среди заболеваний пищеварительной системы [1, 33, 35, 58]. По различным эпидемиологическим данным ВОЗ, ЯБ встречается примерно у 10-15% населения земного шара [59, 88]. В России диагностировано более 3 миллионов пациентов с ЯБ, а распространенность ЯБ составляет более 5-10% населения, продолжая ежегодно увеличиваться. [1, 4, 16, 89].

ЯБ является полиэтиологическим заболеванием, но открытие учеными J.R. Warren, B. Marshal (1983) роли *Helicobacter pylori* (Hр) в развитии ЯБ привело с начала 80-х годов к значительному переосмыслению этиологии и патогенеза данного заболевания [4, 9, 16, 33].

Helicobacter pylori в настоящее время является основным инфекционным агентом, приводящим к развитию ЯБ. По своим биологическим свойствам Hр относится к микроорганизмам с окислительным типом метаболизма, вырабатывающим ферменты: уреазу, каталазу, оксидазу, щелочную фосфатазу, глютамин, аминопептидазу, ДНК-азу и цитотоксин-повреждающие эпителиальные клетки, образуя в них адгезивный бактериальный слой, тем самым участвуя в развитии язвенных поражений желудка [4, 35, 69, 70, 81]. Цитотоксин способствует продвижению бактерий в межклеточное пространство и образованию колоний, тем самым вызывая повреждение слизистой оболочки желудка (СОЖ) [34, 55, 67]. Уреаза вызывает расщепление мочевины, что приводит к образованию углекислого газа и аммиака, которые нейтрализуют соляную кислоту и, являясь важным фактором повреждения, воздействуют как на слой слизи, так и на клетки желудочного эпителия, продуцируя провоспалительные агенты [31]. Кроме того, Hр секретируют поверхностные белки и фактор активации тромбоцитов, которые являются медиаторами воспаления, активируют моноциты, несущие рецепторы к ИЛ-2, и вырабатывают свободные радикалы кислорода, тем самым способствуя выделению протеаз, фосфолипаз, разрушающих слизистый гель, вызывая хронический воспалительный процесс и иммунный ответ [40, 41, 43, 75, 85]. При этом уменьшается количество и вязкость слизи, снижается секреция соляной кислоты и пепсина вплоть до ахлогидрии, что способствует устойчивой колонизации Hр, тем самым вызывая развитие неопластических процессов в стенке желудка [55].

Под влиянием Hр и активирования лейкоцитов происходит повреждение сосудистого эндотелия, нарушение микроциркуляции и трофики СОЖ, что ведет к развитию дистрофических и некробиотических изменений [58, 77].

Было установлено, что обсемененность СОЖ Hр способствует развитию хронического гастрита типа В, манифестации ЯБ, определяет высокую частоту рецидивов язв после их заживления [6, 10, 12].

К предраковым состояниям относят рецидивирующие и длительно незаживающие формы язвенной болезни с ахлогидрией [80], каллезные язвы, торпидное течение процесса рубцевания язвенного дефекта, полиповидные изменения СОЖ [10, 11, 16, 25, 31, 35, 62], сопутствующие атрофические и диспластические изменения [1, 54], при этом атрофию и кишечную метаплазию часто обнаруживают одновременно [36]. Согласно рекомендациям Международного координационного комитета ВОЗ по гистологической классификации предраковых заболеваний желудка (1978), введено понятие дисплазия, в которое входят

клеточная атипия, нарушение дифференцировки и структуры СОЖ.

При неблагоприятном течении ЯБ, ассоциированной с Hр, и активном воспалительном процессе в СОЖ под влиянием факторов окружающей среды, вредных привычек, генетической предрасположенности усиливаются процессы пролиферации, что ведет к развитию и прогрессированию предраковых изменений в эпителии органа [9, 22, 63, 83, 87]. По данным ряда исследований, повреждения клеток СОЖ, вызывающих метапластические, диспластические изменения в эпителии желудка, связаны с аутоиммунной агрессией, индуцированной Hр [6, 9, 22, 23, 40]. В зонах кишечной метаплазии и железистом эпителии СОЖ с признаками дисплазии выявляют кишечные антигены. Таким образом, ученые полагают, что трофические расстройства и диспластические изменения эпителия желудка сопровождаются антигенной перестройкой по кишечному типу [36], поэтому у больных ЯБ, ассоциированной с Hр, нередко выявляются данные патоморфологические нарушения на фоне кишечной метаплазии [80].

Данные о частоте малигнизации язв желудка вариabельны и противоречивы: от 4,6-28% до 60% [16, 28], что объясняется сложностями дифференциальной диагностики ЯБ и первично-язвенной формы рака, встречаемой в 10-15% всех случаев язв желудка [5].

Рак желудка (РЖ) является одним из наиболее распространенных форм рака и второй причиной онкологической смертности во всем мире [71]. В мире ежегодно диагностируется приблизительно от 700 000 до 900 000 новых случаев [71]. В России РЖ занимает третье место в структуре злокачественных заболеваний, а по показателю смертности – второе [18, 30, 38, 39].

Показатели заболеваемости РЖ во всем мире отличаются друг от друга географически, причем в развитых странах в течение нескольких десятилетий отмечается снижение числа заболевших [45]. Выживаемость больных РЖ в мире варьирует в пределах 15% при диагностике заболевания на более поздних стадиях и 65% - при идентификации болезни на ранних стадиях.

По эпидемиологическим данным экспертов консенсуса «Маастрихт-3», полученным в разных странах, известно, что до 95% случаев рака желудка, 75-100% случаев возникновения хронических гастритов, более 50-80% язв желудка связаны с длительным персистированием Hр в СОЖ [14,16,21], при этом во многих странах, в том числе в России, инфицированность данной бактерией достигает 80% населения [16, 61].

В 1994 году Международное агентство по изучению рака включило Hр в список канцерогенов первой группы [83].

Популяционные исследования показали, что у лиц с положительными серологическими тестами на Hр риск возникновения РЖ повышен от 2,8-6 [37, 83] до 25 раз [49, 60], при этом доля случаев злокачественных заболеваний желудка, связанных с присутствием этой бактерии, составляет 42% [28]. Отсутствие полной эрадикации Hр, обусловленное вирулентными штаммами бактерии, в последующем приводит к развитию атрофии, метаплазии и злокачественному перерождению желудочного эпителия [48, 79]. Атрофические изменения СОЖ, преимущественно антрального, фундального отделов тела желудка с развитием пангастрита, атрофии желез, кишечной метаплазии [33, 70, 81], приводят к развитию РЖ кишечного типа [10, 17]. Морфологические изменения в СОЖ прогрессируют в процессе активации ядерного белка Ki-67, CagA [68], VacA, угнетающего пролиферацию В-клеток и Сд8-клеток [42] антиапоптозной молекулы Bcl-2 и апоптоза [17, 22, 23, 82], при этом бактериальные аргиназы γ -глутамилтрансферазы нарушают нормальное функционирование Т-клеток [76], вызывают хемотаксис [47]. Штаммы CagA чаще выявляются у населения развивающихся стран [56] и имеют онкогенные особенности [42, 51, 52]. Они уси-

ливают пролиферацию клеток желудочного эпителия [64], блокируют эндцитоз, активируют фосфорилирование тирозина с помощью «онкобелков» тирозинлипазы – Src и Abl на различных стадиях инфекции Нр [74], нарушают мембранные комплексы, снижают экспрессию эпидермального фактора роста, подавляют VcaA-индуцированный апоптоз [42], провоцируют провоспалительный ответ и способствуют развитию аденокарциномы желудка [44, 46, 65, 66]. Подобные изменения в СОЖ в большинстве случаев чаще выявляются у лиц молодого возраста с индивидуальной предрасположенностью, генотипом ИЛ-1 [53] и приводят к аденокарциноме желудка кишечного или диффузного типа, при этом оба типа характеризуются ассоциацией с Нр-инфекцией [40, 54, 59, 60, 73, 78, 83]. Нр, выявляемый более 90% в биоптатах СОЖ, стимулирует хронический воспалительный процесс, в ряде случаев повышающую пролиферацию экстранодальной лимфоидной ткани, вызывая MALT-лимфому [7, 15, 24, 35, 59, 84].

РЖ, как правило, выявляется в поздней стадии и зачастую хирургическое лечение его бывает неэффективным [18, 19, 25, 28, 29, 38], поэтому в последние годы пытаются выявлять предраковые изменения СОЖ на ранних этапах с применением новых и усовершенствованных методов исследований.

Также, активно изучается эрадикация Нр как метод предупреждения развития предраковых состояний и профилактики РЖ [25, 35, 37, 86]. Имеются сведения о том, что эрадикация Нр сопровождается обратным развитием морфологических изменений, таких, как атрофия, метаплазия, дисплазия, однако эти сведения носят противоречивый характер и требуют дальнейшего изучения [12, 24, 35, 50, 57].

Диагностика предраковых изменений СОЖ при ЯБ на ранних стадиях включает в себя проведение фиброгастродуоденоскопии (ФГДС), морфологическое исследование, ультразвуковую диагностику желудка, скинтиграфическое исследование моторной функции желудка и серологические методы исследования [16, 35]. Увеличение числа заболевших РЖ, диагностированных на поздних стадиях, диктует необходимость проведения большим с «неблагоприятным течением» ЯБ таких исследований, как ФГДС с обязательной многощипковой биопсией СОЖ с дальнейшими морфологическими, биохимическими, серологическими исследованиями, направленными на выявление инфекционного агента, изучение степени и локализации атрофических, метапластических, диспластических или неопластических изменений в эпителии желудка [1].

Современный способ ФГДС в сочетании с методикой инсuffляции воздуха в полость желудка для расправления складок позволяет оценить состояние слизистой и под визуальным контролем взять биопсийный материал со дна язвы, ее краев и окружающей СОЖ, при этом опухолевидное изъязвление, ригидность стенки желудка, не раздуваемой воздухом, являются симптомами малигнизации язвы желудка. Для ранней диагностики кишечной метаплазии в СОЖ может использоваться метод хромогастроскопии с применением метиленовой сини. Ультразвуковое исследование желудка выявляет процессы, сопровождающиеся утолщением стенки органа в результате отека, фиброза, кровоизлияния, опухоли. Также, используются анализы крови больных ЯБ на основные биохимические показатели – уровень лактатдегидрогеназы и В2-макроглобулина, определение уровня сывороточного гастрина, увеличение которого свидетельствует о наличии инфекционного агента в стенке желудка и атрофического гастрита. Гистологический метод, кроме верификации микробного обсеменения СОЖ, позволяет оценить ее состояние – воспаления, атрофии, метаплазии или малигнизации. Также, для выявления Нр используют высокочувствительный, специфичный метод гибридизации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в парафиновых срезах, а также ХЕЛПИЛИ-тесты. Иммунологическая диагностика позволяет определять антитела в сыворотке крови больных с помощью серологических методов – реакции агглютинации, непрямой гемагглютинации, преципитации с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), а также более специфичного и чувствительного теста с применением иммунного блоттинга выявляют антитела классов IgM, IgG, IgA в сыворотке крови к антигенам Нр и секреторные IgM, IgG в слюне и содержимом желудка, а также патогенность штаммов бактерий с CagA-статусом [42]. Современные экспресс-тесты с помощью твердофазного ИФА за несколько минут позволяют провести качественную оценку гуморального иммунного ответа на комплекс антигенов Нр. С 2000 года применяется тест-система для определения концентрации антигена Нр в кале с помощью количественного ИФА, цитогенетический метод FISH, а также тест URINELISA Нр Antibodi, основанный на твердофазном ИФА для определения микроба в моче больного ЯБ [15]. После расшифровки генома Нр стало известно, что онкогенными являются специфические участки ДНК неко-

торых штаммов микроба. Молекулярный метод идентификации штаммов Нр с применением полимеразной цепной реакции основан на выявлении фрагмента различных генов (cagA, ureC, vacA) микроорганизма в биоптатах СОЖ, зубном налете, слюне, копрофильтрате, желудочном соке [14, 16].

Несмотря на положительный эффект от стандартных схем лечения ЯБ, частота случаев рецидивирующих, длительно незаживающих язв, как риск развития предраковых изменений и РЖ, в наше время остается высокой [25, 28]. Эффективное, комплексное лечение ЯБ с сопутствующим неблагоприятным фоном должно приводить к восстановлению иммунного статуса и целостности эпителиального пласта в зоне язвенного дефекта в оптимальные сроки, восстанавливая функции желудка, слизи, способствуя полноценной эрадикации Нр и дальнейшему предупреждению малигнизации язв [87].

Результаты изучения характера повреждающего воздействия на СОЖ Нр позволяют патогенетически обоснованно включать в комплексное лечение ЯБ метаболические препараты, обладающие репаративными, ангиопротективными, цитопротективными, иммунопротективными свойствами [2, 3, 8, 20, 32, 35]. Эффективная эрадикация Нр может способствовать снижению риска развития предраковых изменений и РЖ [1, 4, 22]. Учитывая данное положение, эксперты «Маах-стрит-3» констатируют, что потенциал канцерпревенции в глобальном аспекте ограничен существующими методами и указывает на необходимость поиска альтернативных лекарств и масштабной стратегии лечения ЯБ, способствующих предупреждению развития предраковых изменений СОЖ с полноценной элиминацией бактерии, как меры профилактики злокачественного перерождения тканей желудка [63, 86].

ЛИТЕРАТУРА

1. Барановский А.Ю., Назаренко Л.И. Неблагоприятные варианты течения язвенной болезни. – С.-Петербург: СПб, 2006. – С. 22-68.
2. Булгаков С.А. Применение агонистов опиатных рецепторов в лечении гастроэнтерологических заболеваний // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – М., 2011. - № 1. – С. 19–25.
3. Булгаков С.А. Даларгин в гастроэнтерологии. – М.: ООО «Мегард Групп», 2008. – 50с.
4. Гриневич В.В. Эрадикационная терапия *Helicobacter pylori* - ассоциированных заболеваний // Гастроэнтерология. – 2005. – №7. - С. 1-4.
5. Гурин Н.Н., Логунов К.В. Выбор метода лечения язв желудка. СПб.: ИКФ Фолиант, изд-во СПб МАПО, 2001. – 176 с.
6. Денисов Н.Л. Хронический гастрит с позиций взаимодействия иммунного, инфекционного и морфологического факторов / Н.Л. Денисов, В.Т. Ивашкин, Ю.В. Лобзин, В.Ю. Голофеевский // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2008. - № 6. – С. 22–26.
7. Дехнич Н.Н. Антибиотикорезистентность *H. pylori*: результаты микробиологического регионального исследования / Н.Н. Дехнич, Е.А. Костякова, А.А. Пунин и др. // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - №2. – М, 2011. – С. 37.
8. Донцов В.И. Даларгин в реабилитации и общемедицинской практике / В.И. Донцов, Т.И. Грекова, С.В. Стражев, А.А. Клевцова // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2007. - № 1. – С. 34–39.
9. Ивашкин В.Т. Роль молекул адгезии в патогенезе инфекции *Helicobacter pylori* // Рос. Журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. - №6. – С. 32-37.
10. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. – М.: Изд. дом «Медпрактика-М», 2003. – 412 с.
11. Кононов А.В. Атрофический гастрит, кишечная метаплазия и дисплазия – существует ли последовательная зависимость? // Материалы симпозиума: «Хронический гастрит. Лечение банального заболевания или путь канцерпревенции?». – М, 2008. – С. 8.
12. Кононов А.В. Воспаление как основа *Helicobacter pylori*-ассоциированных болезней // Арх. патол. – 2006. - № 5. – С. 3-10.
13. Кононов А.В. Цитопротекция слизистой оболочки желудка: молекулярно-клеточные механизмы // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2006. - № 3. – С. 12-16.
14. Лапина Т.Л. Основные признаки диагностики *Helicobacter pylori* // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. - №2. – С. 41-45.
15. Ледин Е.В. MALT-лимфома желудка: клиника, диагностика и лечение / Е.В. Ледин А.П. Серяков, В.Л. Астахов // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - №1. – М, 2011. – С. 69.
16. Маев И.В., Самсонов А.А. Язвенная болезнь. – М.: Миклош, 2009. – 9–90 с.
17. Маев И.В., Зайратьянц О.В., Кучерявый Ю.А. Кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка в практике гастроэнтеролога: совре-

менный взгляд на проблему // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2006. – Т. 16, № 4. – С. 38-47.

18. Мерабишвили В.М. // Вопросы онкологии, 2007. - № 3. – С. 269–273.

19. Неред С.Н. Хирургическое лечение осложненных форм первичных неходжкинских лимфом желудка / С.Н. Неред, И.В. Поддубный, И.С. Стилиди, В.А. Шаленков // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2011. - № 1. – Т. 22. – С. 66.

20. Николаев А.В., Слепушкин В.Д. Использование даларгина в отечественной онкологии // НГЖ «Паллиативная медицина и реабилитация». – 2004. – №1 – С. 6.

21. Новожилов Н.В. Длительно не рубцующаяся язва желудка при болезни Кушинга: клиническое наблюдение / Н.В. Новожилов, Ю.О. Шульпекова и др. // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - №3. – М, 2011. – С. 61.

22. Нургалиева Б.К., Хамидулина Г.А., Ивашкин В.Т., Бондаренко О.Ю. Регуляция пролиферации и апоптоза при *H. pylori*-ассоциированном гастрите и язвенной болезни. Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - №6. – М, 2005. – С. 33.

23. Осадчук А.М., Коган Н.Ю., Кветной И.М. Показатели пролиферации и апоптоза в патогенезе и прогнозировании течения заболеваний желудка, ассоциированных с *H. pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 20-24.

24. Осадчук А.М., Детюченко В.П., Милова-Филиппова Л.А., Кветной И.М. Влияние антигеликобактерной терапии на показатели клеточного гомеостаза эпителиоцитов желудка при язвенной болезни 12-перстной кишки. Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2008. - № 3. – С. 42.

25. Пасечников В.Д., Чуков С.З. Доказательства *H. pylori*-ассоциированного желудочного канцерогенеза и разработка стратегий профилактики рака желудка // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2006. - № 5. – С. 82.

26. Пасечников В.Д. Морфофункциональные проявления атрофии слизистой оболочки желудка при *H. pylori*-ассоциированном гастрите / В.Д. Пасечников, С.М. Котелевец, С.З. Чуков, А.Н. Мостовов // Рос. мед. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2004. - № 1. – С. 26-32.

27. Пиманов С.И. Динамика морфологических и функциональных характеристик слизистой оболочки желудка после эрадикации *Helicobacter pylori* у больных с язвами 12-перстной кишки / С.И. Пиманов, Е.В. Макаренко, А.В. Варапаева // Тер. архив. – 2006. - № 2. – С. 26-31.

28. Поддубная И.В. Онкология. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – С. 12.

29. Репин В.Н. Хирургическая тактика при раке желудка, осложненном кровотечением / В.Н. Репин, Л.М. Костылев, О.С. Гудков, С.Н. Цой // Рос. онкол. журнал. – М.: Изд-во «Медицина», 2011. - № 1. – С. 7.

30. Скоропад В.Ю. Онкоген *HER2/NEU* при раке желудка: клинико-лабораторное исследование / В.Ю. Скоропад, Н.А. Горбань и др. // Рос. онкол. журнал. – М.: Изд-во «Медицина», 2011. - № 2. – С. 22.

31. Суворов А.Н., Симаненко В.И. *Helicobacter pylori* как возбудитель заболеваний желудочно-кишечного тракта // Учебное пособие. – 2006. – С. 1-10.

32. Флейшман М.Ю. Влияние даларгина на репаративную способность слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при различных гастроэнтерологических заболеваниях / М.Ю. Флейшман, С.С. Тимошин, Н.А. Болоняева, С.А. Алексеенко, Е.Ю. Животова, Е.В. Ожегов, М.Ю. Живненко // Дальневосточный мед. журн., 2010. - № 3. – С. 15–18.

33. Циммерман Я.С. Диагностика и лечение основных гастроэнтерологических заболеваний. Пермь, 2003. – 288 с.

34. Циммерман Я.С., Ведерников В.Е. Хронические гастродуоденальные эрозии: клинико-патогенетическая характеристика, классификация, дифференцированное лечение // Клиническая медицина. – 2001. - №6. – С. 30-36.

35. Циммерман Я.С. Актуальные проблемы клинической гастроэнтерологии: клинические очерки. Пермь, 2008. – 168 с.

36. Чиссов В.И., Старинский В.В., Сотникова Е.Н. Ранняя диагностика онкологических заболеваний. – М.: Литерра, 1994. – 82 с.

37. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Онкология. Клинические рекомендации. – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2006. – 318 с.

38. Чиссов В.И. Онкология. Национальное руководство / Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М., 2008.

39. Чиссов В.И. Злокачественные новообразования в России в 2007 г. (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова и др. – М., 2009.

40. Algood H.M.S. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of

interactions between *H. pylori* and host immune defenses / H.M.S. Algood, T.L. Cover // *Clinical Microbiology Reviews*, 2006. - Vol. 19, № 4. - P. 597–613.

41. Algood H.M.S. Peptidoglycan crosslinking relaxation promotes *Helicobacter pylori*'s helical shape and stomach colonization / H.M.S. Algood, T.L. Cover, L.K. Sycuro, Z. Pincus, K.D. Gutierrez et al. // *Cell*, 2010. - Vol. 141, № 5. - P. 822–833.

42. Argent R. H. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *CagA* / R. H. Argent, R. J. Thomas, D. P. Letley, M. G. Rittig, K. R. Hardie, and J. C. Atherton // *Journal of Medical Microbiology*, 2008. - Vol. 57, № 2. - P. 145–150.

43. Baldwin D.N. Identification of *Helicobacter pylori* genes that contribute to stomach colonization / D.N. Baldwin, B. Shepherd, P. Kraemer // *Infection and Immunity*, Vol. 75, no. 2, P. 1005–1016, 2007.

44. Bauer B. H. *pylori* selectively blocks EGFR endocytosis via the non-receptor kinase *c-Abl* and *CagA* / B. Bauer, S. Bartfeld, T. F. Meyer // *Cellular Microbiology*, 2009. - Vol. 11, № 1. - P. 156–169.

45. Bertuccio P. Recent patterns in gastric cancer: a global overview / P. Bertuccio, L. Chatenoud, and F. Levi // *International Journal of Cancer*, 2009. - Vol. 125, № 3, P. 666–673.

46. Bronte-Tinkew D. M. *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene *a* activates the signal transducer and activator of transcription 3 pathway in vitro and in vivo / D. M. Bronte-Tinkew, M. Terebiznik, A. Franco // *Cancer Research*, 2009. - Vol. 69, № 2. - P. 632–639.

47. Croxen M.A. The *Helicobacter pylori* chemotaxis receptor *tlpB* (HP0103) is required for pH taxis and for colonization of the gastric mucosa / M.A. Croxen, G. Sisson, R. Melano, P.S. Hoffman // *Journal of Bacteriology*, 2006. - Vol. 188, № 7. - P. 2656–2665.

48. Dorer M.S. DNA damage triggers genetic exchange in *Helicobacter pylori* / M.S. Dorer, J. Fero, N.R. Salama // *PLoS Pathogens*, 2010. - Vol. 6, № 7. - P. 1–10.

49. Ekstrom A.M., Held M., Hansson L.E. et al. *Helicobacter pylori* in Gastric Cancer established by *CagA* immunoblot as a marker of past infection *Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 121. – P. 784–91.

50. El-Zimaity H.M., Graham D.Y., Genta R.M. et al. / Sustained increase in gastric antral epithelial cell proliferation despite cure of *Helicobacter pylori* infection // *Am. J. Gastroenterol.* – 2000. – Vol. 95, N 4. – P. 930-935.

51. Franco A. T. Activation of β -catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori* / A. T. Franco, D. A. Israel, M. K. Washington, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. - Vol. 102, № 30. - P. 10646–10651.

52. Franco A. T. Delineation of a carcinogenic *Helicobacter pylori* proteome / A. T. Franco, D. B. Friedman, T. A. Nagy, et al. // *Molecular and Cellular Proteomics*, 2009. - Vol. 8, № 8. - P. 1947–1958.

53. Figueiredo C. *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma / C. Figueiredo, J. C. Machado, P. Pharoah, et al. // *Journal of the National Cancer Institute*, 2002. - Vol. 94, № 22. - P. 1680–1687.

54. Fox J.G., Wang T.S. Inflammation, atrophy and gastric cancer. *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 60–9.

55. Graham D.Y., Opekun A.R., Yamaoka Y. et al. / Early events in proton pump inhibitor-associated exacerbation of corpus gastritis // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2003. – № 17. – P. 193-200.

56. Jones K. R. MicroPolymorphism in the *cagA* EPIYA motif impacts development of gastric cancer biology // K. R. Jones, Y. M. Joo, S. Jang, et al. // *Journal of Clinical*, 2009. - Vol. 47, № 4. - P. 959–968.

57. Jorge O., Cuello Carridin F.D., Jorge A. / *Helicobacter pylori* infection affects the expression of PCNA, p53, *cerbB-2* and *Bcl-2* in the human gastric mucosa // *Rev. Esp. Enferm. Dig.* – 2003. – Vol. 95, N 2. – P. 89-104.

58. Konturek S.J., Brzozowski T, Konturek P.C. / *Helicobacter pylori* infection delays healing of ischaemiareperfusion induced gastric ulcerations: new animal model for studying pathogenesis and therapy of *H. pylori* infection // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2002. – Vol. 12, N 12. – P. 1299–313.

59. Kusters J.G. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection / J.G. Kusters, A.H.M. van Vliet, E.J. Kuipers // *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 19, no. 3, P. 449–490, 2006.

60. Leodolter A., Naumann M., Malfertheiner P. Prevention of Gastric Cancer by *Helicobacter pylori* Eradication. *Dig Dis.* – 2004. - Vol. 22. – P. 313–9.

61. Malaty H.M. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection, best practice and research // *Clinical Gastroenterology*, 2007. - Vol. 21, № 2. - P. 205–214.

62. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. et al. / Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection // *The Maastricht 2-2000*

consensus report. *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2002. – Vol. 16. – P. 167–180.

63. Malfertheiner P. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report / P. Malfertheiner, F. Megraud, C. O'Morain, et al. // *Gut*, 2007. - Vol. 56, № 6. - P. 772–781.

64. Mimuro N. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse / N. Mimuro Ohnishi, H. Yuasa, S. Tanaka, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008. - Vol. 105, № 3. - P. 1003–1008.

65. Mimuro H. *Helicobacter pylori* dampens gut epithelial self-renewal by inhibiting apoptosis, a bacterial strategy to enhance colonization of the stomach / H. Mimuro, T. Suzuki, S. Nagai, et al. // *Cell Host and Microbe*, 2007. - Vol. 2, № 4. - P. 250–263.

66. Murata-Kamiya N. *Helicobacter pylori* exploits host membrane phosphatidylserine for delivery, localization, and pathophysiological action of the CagA oncoprotein / N. Murata-Kamiya, K. Kikuchi, T. Hayashi, H. Higashi, M. Hatakeyama // *Cell Host and Microbe*, 2010. - Vol. 7, № 5. - P. 399–411.

67. Necchi V. Intracellular, intercellular, and stromal invasion of gastric mucosa, preneoplastic lesions, and cancer by *Helicobacter pylori* / V. Necchi, M.E. Candusso, F. Tava // *Gastroenterology*, 2007. - Vol. 132, № 3. - P. 1009–1023.

68. Olofsson A. Biochemical and functional characterization of *Helicobacter pylori* vesicles / A. Olofsson, A. Vallström, K. Petzold, et al. // *Molecular Microbiology*, 2010. - Vol. 77, № 6. - P. 1539–1555.

69. Oh J.D. Intracellular *Helicobacter pylori* in gastric epithelial progenitors / J.D. Oh, S.M. Karam, J.I. Gordon // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. - Vol. 102, № 14. - P. 5186–5191.

70. Özbek A. Can *Helicobacter pylori* invade human gastric mucosa?: an in vivo study using electron microscopy, immunohistochemical methods, and real-time polymerase chain reaction / A. Özbek, E. Özbek, H. Dursun, Y. Kalkan, T. Demirci // *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2010. - Vol. 44, № 6. - P. 416–422.

71. Parkin D. M. Global cancer statistics, 2002 // D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay, and P. Pisani, CA: *A Cancer Journal for Clinicians*, 2002. - Vol. 55, № 2. - P. 74–108.

72. Peek R.M. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas / R.M. Peek, M.J. Blaser // *Nature Reviews Cancer*, 2002. - Vol. 2, № 1. - P. 28–37.

73. Polk D.B. *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond / D.B. Polk, R.M. Peek // *Nature Reviews Cancer*, 2010. - Vol. 10, № 6. - P. 403–414.

74. Poppe M. Phosphorylation of *Helicobacter pylori* CagA by c-Abl leads to cell motility / M. Poppe, S. M. Feller, G. Römer, S. Wessler // *Oncogene*, 2007. - Vol. 26, № 24. - P. 3462–3472.

75. Saha A. *Helicobacter pylori* CagL activates ADAM17 to induce repression of the gastric H, K-ATPase α subunit / A. Saha, S. Backert, C.E. Hammond, M. Gooz, A.J. Smolka // *Gastroenterology*, 2010. - Vol. 139, № 1. - P. 239–248.

76. Schmees C. Inhibition of T-cell proliferation by *Helicobacter pylori* gamma-glutamyl transpeptidase / C. Schmees, C. Prinz, T. Treptau, et al. // *Gastroenterology*, 2007. - Vol. 132, № 5. - P. 1820–1833.

77. Sipponen P., Harkonen M., Alanko A., Suovaniemi O. Diagnosis of atrophic gastritis from serum sample. *Clin. Lab.* – 2002. - Vol. 48. – P. 505–515.

78. Sipponen P., Marshall B.J. Gastritis and gastric cancer. Western countries. *Gastroenterol. Clin. North Am.* – 2000. – Vol. 29. – P. 579–92.

79. Suerbaum S. *Helicobacter pylori* evolution and phenotypic diversification in a changing host / S. Suerbaum, C. Josenhans // *Nature Reviews Microbiology*, 2007. - Vol. 5, № 6. - P. 441–452.

80. Take S. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* on the development of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease / S. Take, M. Mizuno, K. Ishiki, et al. // *American Journal of Gastroenterology*, 2005. - Vol. 100, № 5. - P. 1037–1042.

81. Terebiznik M.R. *Helicobacter pylori* VacA toxin promotes bacterial intracellular survival in gastric epithelial cells / M.R. Terebiznik, C.L. Vazquez, K. Torbicki // *Infection and Immunity*, 2006. - Vol. 74, № 12. - P. 6599–6614.

82. Torres V.J. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets / V.J. Torres, S.E. VanCompernelle, M.S. Sundrud, D. Unutmaz, T.L. Cover // *Journal of Immunology*, 2007. - vol. 179, № 8. - pp. 5433–5440.

83. Uemura N. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer / N. Uemura, S. Okamoto, S. Yamamoto // *New England Journal of Medicine*, 2001. - Vol. 345, № 11. - P. 784–789.

84. Wang C., Yuan Y., Hunt R.H. The Association between *Helicobacter pylori* infection and Early Gastric Cancer A Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol.* - 2007. – Vol. 102. – P. 1789–98.

85. Weydig C. CagA-independent disruption of adherence junction complexes involves E-cadherin shedding and implies multiple steps in *Helicobacter pylori* pathogenicity / C. Weydig, A. Starzinski-Powitz, G. Carra, J. Löwer, and S. Wessler // *Experimental Cell Research*, 2007. - Vol. 313, № 16. - P. 3459–3471.

86. Wueppenhorst N. Identification and molecular characterization of triple- and quadruple-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates in Germany / N. Wueppenhorst, H. P. Stueger, M. Kist, and E. Glocker // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009. - Vol. 63, № 4. - P. 648–653.

87. Zou J. Meta-analysis: lactobacillus containing quadruple therapy versus standard triple first-line therapy for *Helicobacter pylori* eradication / J. Zou, J. Dong, X. Yu // *Helicobacter*, 2009. - Vol. 14, № 5. - P. 97–107.

88. «Peptic ulcer disease» <http://lib.bioinfo.pl/meid:32219>, 2010 г.

89. <http://www.minzdravsoc.ru/docs/mzsr/letters/60>, 2006

Baykova E.R., Faslyev M.M.

PATHOGENETIC RELATIONSHIP BETWEEN ULCER OF GASTRIC DISEASE ASSOCIATED WITH *HELICOBACTER PYLORI* AND ATROPHY, DYSPLASIA, STOMACH CANCER (Review of literature)

Abstract. This review summarizes the results of studies of domestic and foreign authors on the relationship in the pathogenesis of gastric cancer due to unfavorable course of peptic ulcer and concomitant pathological changes in the epithelium of the body.

Key words: gastric ulcer, *Helicobacter pylori*, dysplasia, atrophy, mucosa, cancer.

Авторская справка

Байкова Эльвира Рашидовна

Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования Башкирский государственный медицинский университет
Россия, 450073, г. Уфа, ул. Гагарина д. 10, кв. 53
e-mail: elvirab81@mail.ru

Фазлыев Марат Мадарисович

Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования кафедра терапии с курсом клинической фармакологии Института последипломного образования; д.м.н. профессор, начальник госпиталя медико-санитарной части МВД по РБ
Россия, г. Уфа, 450005, ул. Карла Маркса, 59
e-mail: hosp_ufa@mail.ru

Authors

Baykova Elvira R.

State educational institution High vocational training of the Bashkirian State Medical University
Russia, 450073, Ufa, str. Gagarina d. 10, sq. 53
e-mail: elvirab81@mail.ru

Fazlyev Marat M.

State educational institution of Higher professional education of the department of therapy with a course of clinical pharmacology of the Institute of postgraduate education; doctor of medical science, professor, head of the hospital of the Ministry of internal affairs for the republic of Bachkortostan
Russian Federation, Ufa, 450005, str. Karl Marx, 59
e-mail: hosp_ufa@mail.ru

ТРОМБОТИЧЕСКИЕ И НЕТРОМБОТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ТРОМБОФИЛИИ: АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ (обзор литературы)

ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, г. Екатеринбург, Россия

Резюме: В конце XX века выделена группа наследственных и приобретенных дефектов гемостаза, проявляющаяся в повышенной склонности к тромбозу. В литературе данная патология описывается под феноменом «тромбофилия». Сведения о наличии данной патологии, популяционной частоте, ее проявлениях среди детей немногочисленны. Определение распространенности аномальных генов гемокоагуляции и антител к фосфолипидам среди детей позволит по-новому рассмотреть механизмы их неонатальной адаптации и дезадаптации, последующего роста и формирования, а также возможных проявлений различной патологии.

Развитие предиктивной медицины, основу которой составляет выявление «генов риска», поиск локусов генома, формирующих предрасположенность к различным заболеваниям, в том числе и тромбофилии, влечет за собой изменение подходов к отбору больных, определению групп долгосрочного наблюдения. Полученные данные могут быть использованы для разработки мер профилактики и предупреждения реализации тромботических и нетромботических эффектов тромбофилии.

Ключевые слова: тромбофилия, полиморфизмы генов гемостаза, тромбоз, фолатный цикл, антифосфолипидные антитела.

В настоящее время выявлены генетические дефекты, имеющие прямое или опосредованное отношение к нарушениям гемостаза, существенно влияющие на течение основного заболевания [1, 2, 3]. Бесспорным является факт, что нарушения в системе гемостаза и иммунитета являются ведущими во множестве патологических процессов. Группа наследственных и приобретенных дефектов гемостаза, проявляющаяся в повышенной склонности к тромбозу описывается в литературе под феноменом «тромбофилия» [4, 5, 6].

Научные работы последних лет в значительной мере расширили наши представления о молекулярных механизмах формирования тромботических состояний [7, 8, 9, 10]. В целом это объясняется успешным изучением такого основополагающего компонента эндогенного риска, как генетическая предрасположенность.

Изучение тромбофилий выявило многообразие встречаемости отдельных форм, разную степень их влияния на риск развития тромбозов и тромбоэмболий. Показано значимое участие тромботических состояний различного генеза в развитии многих осложнений беременности, родов и послеродового периода [11, 12]. Более того, открытие тромботических полиморфизмов позволило по-новому оценить причины и патогенез привычного невынашивания беременности, синдрома задержки внутриутробного роста плода (СЗВРП), преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты и других патологических состояний, которые представляют угрозу не только для женщины, но прямым или опосредованным образом влияют на жизнь и развитие ребенка [13].

Если ранее роль тромбофилии в патогенезе осложнений беременности рассматривалась только с точки зрения процессов микротромбирования сосудов плацентарного ложа, то в настоящее время взгляды на патогенетическое влияние тромбофилии значительно расширились. Это связано с изучением роли системы гемостаза и нетромботических эффектов тромбофилии еще на этапах имплантации плодного яйца и инвазии трофобласта [14].

Определение популяционной частоты, этиологии и патогенеза наследственных и приобретенных тромбофилий активно изучается во всем мире, однако сведения о наличии данной патологии среди детей немногочисленны [1, 2, 15, 16, 17, 18, 19]. Современные исследования демонстрируют, что проблема тромботических осложнений актуальна для педиатрической практики. В литературе недостаточно данных, характеризующих наследственные факторы риска развития тромбозов у детей, хотя проблемы ранних тромботических эпизодов уже не являются казуисткой [20, 21, 22, 23]. В детском возрасте проявления тромбофилии могут иметь самые драматические последствия. Есть основания полагать, что степень риска при носительстве тромбогенных мутаций и полиморфизмов у детей и взрослых различается в соответствии с возрастом [24].

Расстройства гемостаза возникают приблизительно у 1–2% ново-

рожденных, а среди детей, нуждающихся в интенсивной терапии, – у 16–40% [25]. Примерно у 40–47% умерших новорожденных на аутопсии находят геморрагии и тромбозы различной локализации [26]. Установлено, что тромбозы распространены в педиатрической практике, хотя встречаются реже, чем у взрослых и составляют в среднем 0,07–0,14 на 10 тыс. Частота тромбозов у детей, находящихся на лечении в стационаре составляет 5,3 на 10 тыс., среди новорожденных, потребовавших интенсивной терапии, распространенность данного осложнения достигает 24 на 10 тыс. [1, 27]. На неонатальный период приходится 12% тромбозов, а возрасте от 1 месяца до 10 лет – до 50% всех тромботических состояний детского возраста [28]. По опубликованным данным, распространенность тромбофилий в популяции пациентов, перенесших венозные или артериальные тромбозы, варьирует от 13% до 79% [29, 30].

Выявлено, что перинатальный ишемический инсульт вследствие тромбоза сосудов головного мозга встречается с частотой 1 на 2300 – 5000 детей, родившихся живыми [31]. По другим данным, частота инсультов в педиатрической практике составляет 3–8 на 100 тыс., в неонатальном периоде ишемические инсульты регистрируются с большей частотой – 25–35 на 100 тыс. новорожденных [32, 33, 34].

По данным литературы, ранние эпизоды тромбоэмболий в детском возрасте ассоциируются с наличием двух и более полиморфизмов генов гемокоагуляции [21]. Наиболее значимыми для развития тромбозов являются наследственные тромбофилии и их сочетание с циркуляцией антител к фосфолипидам [35]. Тромбозы артериальных и венозных сосудов играют значительную роль в патогенезе наиболее частых и опасных заболеваний. Природа сосудистых тромбозов многофакторна, определяется сложным характером взаимодействия генетических и экзогенных факторов риска, которые лежат в основе патологических сдвигов в системе гемостаза или провоцируют их развитие [36, 37, 38, 39]. В литературе есть указание на то, что наличие титра антител к протромбину может являться пусковым механизмом развития тромбозов у детей, что подтверждает мультифакторность данной патологии [40].

Немаловажной причиной, способствующей тромбообразованию, является катетеризация сосудов на фоне наследственной предрасположенности [41, 42, 23]. Ряд исследователей придерживаются другой точки зрения. Так, анализ национальных регистров по тромбозам в педиатрической практике Канады и Нидерландов не выявил повышенную распространенность полиморфизмов генов тромбофилии среди детей, перенесших катетер – ассоциированные тромбозы [43].

Известно, что плод, развитие которого происходит в условиях недостаточной плацентарной перфузии, в значительно большей степени подвержен гипоксическим повреждениям жизненно важных органов в процессе внутриутробного развития и риску травматизации в родах [44].

Имеются сведения, что пре-/эклампсия, синдром задержки внутриутробного роста плода, тромбозы в периоде новорожденности ассоциируются с развитием тромботической васкулопатии в плаценте [45]. В литературе приводятся данные о том, что фетальная васкулопатия на фоне врожденной тромбофилии в будущем является причиной формирования неврологического дефицита у детей [46].

Ряд авторов отмечают связь между наличием сочетаний нескольких точечных мутаций у плода и развитием субкомпенсированных и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности и синдрома задержки внутриутробного роста. Количество выявленных полиморфизмов коррелирует со степенью тяжести плацентарной недостаточности. В развитии данных нарушений имеют важное прогностическое значение как материнские, так и фетальные приобретенные тромбофилии [47]. Дети от матерей, имевших проявления плацентарной недостаточности, относятся к группе риска по перинатальной заболеваемости и смертности [44]. Как предполагается, в раннем неонатальном периоде такие дети склонны к нетипичному течению критических состояний.

В настоящее время разработаны лечебные мероприятия, в частности, применение низкомолекулярных гепаринов, внутривенного иммуноглобулина, гормонотерапии, высоких доз витамина Е, группы В, фолиевой кислоты, способствующие вынашиванию плода при форми-

ровании недостаточности плаценты. Между тем, до конца не установлено, насколько эти лечебные мероприятия позволяют компенсировать фето-плацентарные нарушения, тем самым способствуя нормальному созреванию органов и систем плода [48].

На сегодняшний день выделено большое число первичных (генетически обусловленных) и вторичных (приобретенных, симптоматических) тромбофилий, отличающихся друг от друга по этиологии, характеру нарушений в системе гемостаза, осложнениям и прогнозу.

I. Наследственные тромбофилии

Мутация V фактора (G1691A) Лейден характеризуется заменой нуклеотида гуанина в позиции 1691, что приводит к замене аминокислоты аргинина на глутамин в позиции 506. Это, в свою очередь, способствует устойчивости активной формы фактора V к расщепляющему действию активированного протеина С. Тип наследования – аутосомно-доминантный. Распространенность в общей популяции – 3–6% (гетерозиготные носители), среди пациентов с тромбозами – 15–20%. Риск тромбозов возрастает в 3–6 раз за счет резкого нарастания в крови концентрации V и VIII факторов [49, 50, 51, 52].

Полиморфизм протромбина (G20210A) впервые был описан Roort с соавторами в 1996 году [53]. Тип наследования – аутосомно-доминантный. Данная мутация определяет замену нуклеотида гуанина на аденин в позиции 20210. Распространенность в общей популяции – 1–6,5% (гетерозиготные носители), среди пациентов с тромбозами – до 8%. Точечная мутация протромбина может быть причиной цереброваскулярных тромбоокклюзивных заболеваний. Наличие данного полиморфизма сопряжено с трехкратным увеличением риска развития венозного тромбоза за счет повышения уровня нормального протромбина в крови в полтора – два раза [54, 55, 56].

Полиморфизм ингибитора активатора плазминогена (5G6754G). PAI-1 – белок, регулирующий тканевой/урокиназный активаторы плазминогена. Точечная мутация приводит к повышению уровня PAI-1 в крови. Активность тромболитической системы снижается. Распространенность – 5–8% (гомозиготная мутация). Увеличение риска тромбозов в 1,7 раз. При сочетании полиморфизма с ожирением возрастает риск тромбозов в несколько раз [57, 58, 59].

Полиморфизм генов рецепторов тромбоцитов: тромбоцитарного рецептора фибриногена гликопротеина 3a, тромбоцитарного гликопротеина 1b альфа-2 интегрин, гликопротеина 1b. Результат мутаций – повышенная склонность тромбоцитов к адгезии и агрегации. Встречаемость – 8-15%. Клиническое значение: увеличивается риск артериальных и венозных тромбозов, при этом существенно снижается эффективность антиагрегантов [60, 61].

Гипергомоцистеинемия. Тип наследования – аутосомно – рецессивный. Встречаемость в популяции гомозиготного варианта составляет 10–16% среди европейцев, гетерозиготного – у 56% европейцев. При гомозиготном наследовании выявляется гомоцистеинурия. При гетерозиготном – гипергомоцистеинемия. У гомозигот могут быть миопия, остеопороз, раннее развитие атеросклероза, умственная отсталость [62, 63, 64, 65, 66].

II. Приобретенные тромбофилии

Одним из характерных заболеваний группы тромбофилий является антифосфолипидный синдром (АФС).

Предположить развитие АФС у взрослого человека можно при наличии аутоиммунных заболеваний, венозных или артериальных тромбозов, привычного невынашивания беременности (не связанного с эндокринными, генетическими причинами, аномалиями развития половых органов, органической или функциональной истмико - цервикальной недостаточностью), при раннем развитии гестоза (особенно тяжелых его форм), плацентарной недостаточности, гипотрофии плода в течение предыдущих беременностей, тромбоцитопении неясной этиологии, ложноположительных реакциях Вассермана, а также разнообразных неврологических, кожных и сердечно-сосудистых заболеваниях [67, 68, 69, 70, 71, 72].

Различают первичный и вторичный антифосфолипидный синдром. Развитие вторичного АФС ассоциировано с аутоиммунными, онкологическими, а также инфекционными заболеваниями, с воздействием некоторых лекарственных препаратов и токсичных веществ [73].

Первичный АФС чаще развивается в молодом возрасте, описан у детей и даже у новорожденных. Точная распространенность АФС в популяции неизвестна. По данным американских авторов антифосфолипидный синдром встречается в 5% случаев [74]. В общей популяции АФС в 2–5 раз чаще выявляется у женщин. При первичном антифосфолипидном синдроме отношение числа больных женщин и мужчин составляет 4:1, при вторичной форме заболевания этот показатель достигает 7:1, что, вероятно, объясняется большей предрасположенностью

женщин к системным заболеваниям соединительной ткани [75, 76, 77, 78].

Исследования антигенов системы HLA (human leucocytes antigen) показало, что у больных с АФС чаще, чем в популяции, встречаются аллели HLA: DR4, DRw53, DR7, DQw3, что свидетельствует о возможной генетической предрасположенности к заболеванию [79, 80, 81, 82]. В литературе описаны семейные случаи АФС, составляющие, по данным некоторых авторов, до 2% [83]. Возможно, что существуют две формы заболевания: спорадическая и семейная.

Среди работ, посвященных педиатрическим аспектам тромбофилии, в последние годы появились достаточно противоречивые публикации. Ряд авторов отмечают, что те или иные отклонения функционирования органов и систем не оказали существенного воздействия на состояние детей в периоде новорожденности. Они довольно быстро купируются и не препятствуют их своевременной выписке из стационара [84].

Данные о состоянии детей, рожденных от матерей с пре-/эклампсией, HELLP – синдромом и тромбофилией, представлены в ретроспективном исследовании, проведенном группой европейских специалистов [85]. Анализируя ранние исходы, авторы не выявили различий в состоянии детей, рожденных от матерей с тромбофилическими и без тромбофилических заболеваний. Однако в возрасте девяти месяцев жизни уровень развития был значительно ниже у детей, матери которых имели тромбофилические заболевания в анамнезе.

Существуют данные, указывающие на большую распространенность тромбофилических полиморфизмов у детей, родственники (первого и второго порядка) которых имели ранний отягощенный тромбофилический анамнез, по сравнению с общей популяцией [86]. В литературе есть указания на то, что дети от матерей со склонностью к тромбофилическим осложнениям, чаще рождаются с признаками задержки внутриутробного развития, недоношенными. Ранний неонатальный период у таких младенцев протекает с осложнениями. Отмечаются напряжение процессов адаптации, высокая частота конъюгационных желтух, синдрома дыхательных расстройств, внутриутробных инфекций, синдрома дезадаптации сердечно – сосудистой системы, перинатальное поражение ЦНС [87, 88]. Наряду с этим у детей достоверно чаще выявлено наличие тромбогеморрагического синдрома в виде петехиальной экзантемы, гематемезиса, внутрижелудочковых кровоизлияний и тромбозов сосудов головного мозга [89].

У детей, родившихся с синдромом задержки внутриутробного развития, с раннего возраста наблюдаются патологические отклонения нервной системы, для которых характерно сочетание нескольких неврологических синдромов, с ранним появлением и длительным течением синдрома двигательных нарушений [90].

К настоящему времени значительно расширились представления о нетромбофилических эффектах тромбофилии. Так, различные дефекты обмена гомоцистеина являются причиной формирования пороков развития плода, включая дефекты нервной трубки, дефекты лицевого черепа, пороки сердца [91]. Полиморфизм генов MTHFR (C677T) и MTRR (A66G) изучен наиболее полно. Показана выраженная ассоциация точечных мутаций этих ферментов с синдромом Дауна. [92, 93]. Изучение связи тромбофилических полиморфизмов с развитием детского церебрального паралича у пациентов разных сроков гестации показало, что наличие дефекта гена MTHFR (C677T) примерно в 2 раза увеличивает риск возникновения заболевания у недоношенных детей. Комбинация гомозиготного варианта полиморфизма гена MTHFR (C677T) и гетерозиготного варианта полиморфизма гена протромбина (G20210A) увеличивает риск развития квадроплегии у новорожденных всех гестационных возрастов [94].

Оценивая распространенность гипергомоцистеинемии при мигрени у детей З.Г. Тадтаева и Ю.Л. Кацадзе выявили у большого числа детей с мигренью (61,2%) наличие гипергомоцистеинемии на фоне точечной мутации MTHFR (C677T). Уровень гомоцистеина при мигрени значительно выше у носителей гомозиготного TT генотипа [95].

Данные о влиянии тромбофилических полиморфизмов в процессе формирования врожденной атрезии кишечника представлены в исследовании Johnson S.M., Meyers R.L. Было установлено, что полиморфизмы V (FVL) и VII факторов свертывания (R353Q, подтип RR) определяются чаще у детей с врожденной атрезией кишечника [96].

Плаксиной А.Н. совместно с сотрудниками кафедры педиатрии ФПК и ПП Уральской медицинской академии было проведено обсервационное исследование для установления распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, нарушениями фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции в семьях, имеющих синдром потери плода [97]. Было продемонстрировано, что бесплодные пары с синдромом потери плода (основная группа)

имели от трех до четырех точковых мутаций (36% и 39% соответственно), в то время как большинство семейных пар, зачавших детей естественным путем (контрольная группа) – от одного до двух (49% и 41% соответственно) генетических полиморфизмов, что статистически достоверно. Родители детей контрольной группы не имели одновременного носительства четырех и пяти генов, в отличие от бесплодных пар, обладающих в 15% случаев пятью точечными мутациями ($p=0,001$). При анализе носительства генетических полиморфизмов у детей, рожденных в данных семьях, выявлены достоверные различия в распределении количества генов практически во всех вариантах. Дети, зачатые с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (основная группа), в 100% являлись носителями точковых мутаций. Большинство младенцев контрольной группы (44%) имели сочетание двух полиморфизмов генов, тем временем, в основной группе преобладал процент детей (46%), имеющих комбинацию из трех точковых мутаций ($p<0,001$). Одновременное наличие четырех генов имели 16% пациентов основной группы, тогда как дети группы контроля не имели их вовсе ($p=0,02$). У каждого десятого ребенка (11%), зачатого при помощи вспомогательных репродуктивных технологий, обнаруживалось сочетание пяти генетических полиморфизмов по сравнению с группой контроля ($p=0,005$). Частота генетических полиморфизмов была достоверно выше у детей основной группы по следующим генам: фибриноген FGB ($p=0,001$), ингибитор активатора плазминогена – 1 PAI-1, ($p=0,027$), метилентетрагидрофолатредуктаза MTHFR 677 ($p<0,001$), эндотелиальная NO-синтаза e-NOS ($p=0,0001$) и тромбозитарный рецептор к коллагену ITGA2 ($p=0,02$).

На основании балльной оценки развития мультифакторной патологии были выявлены клинико-анамнестические факторы течения и исходы неонатального периода у младенцев группы высокого риска, имеющих четыре балла и более. У данной группы детей было зарегистрировано развитие дезадаптационных состояний, как в антенатальном периоде (осложненное течение беременности, гестоз и хроническая фето – плацентарная недостаточность, неоднократные угрозы прерывания и оперативного родоразрешения), так и в оценке состояния здоровья новорожденных. На этапе раннего неонатального периода шанс наличия в анамнезе низкой оценки по шкале Апгар (менее 6 баллов) у детей группы высокого риска составлял OR=7,9. Младенцы группы высокого риска чаще были переведены на 2-ой этап выхаживания (OR=5,6), находились в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных (OR=7,9), с последующим назначением антибактериальной (OR=4,8) и инфузионной терапии (OR=6,8), парентерального питания (OR=4,9), трансфузии препаратов крови (OR=11,3), а также имели противопоказания для проведения своевременной вакцинопрофилактики (OR=9,5). Таким образом, авторы исследования сделали вывод о том, что в семьях, имеющих синдром потери плода, каждый второй ребенок, рожденный при использовании вспомогательных репродуктивных технологий, относится к группе высокого риска по реализации мультифакторных заболеваний, обусловленных носительством генетических полиморфизмов генов тромбофилии (100%), эндотелиальной дисфункции (73%) и фолатного цикла (43%) [97].

Имеются данные о том, что резистентность Va фактора к активированному протенину C у больных с врожденными пороками развития встречается в 2,6 раз чаще, чем у здоровых детей. Отмечено, что у пациентов с множественными пороками развития данное явление наблюдается с большей частотой, чем у других пациентов [98].

У больных с врожденными пороками развития на фоне первичной тромбофилии, особенно при наличии полиморфизма фактора V (FVL), имеется иммунодефицитное состояние, что проявляется резким снижением IgM и G и его подклассов, но компенсаторно повышен IgA. Как было установлено, у детей с тромбофилией повышена способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты, что создает дополнительный фон для развития гиперкоагуляции и приводит к замыканию порочного круга, усугубляющего течение заболевания [98]. Так, в одном из исследований [99] есть указание на то, что повышение показателей лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, концентрации фибриногена, уровня провоспалительных цитокинов и IgG1, IgG3 свидетельствует о реализации тромбофилии при инфекционных заболеваниях у детей. Для прогнозирования тяжести инфекционного процесса рекомендуется проведение скрининг-диагностики на наличие полиморфизмов генов гемокоагуляции (FVL, MTHFR). Их выявление предполагает более тяжелое течение заболевания и развитие осложнений, ухудшающих прогноз.

Значительный интерес представляют работы по изучению влияния антител к фосфолипидам (аФЛ) на здоровье матери и ребенка. На возможность отрицательного влияния аФЛ, циркулирующих у матерей, в

своем исследовании указывают Ю.Г. Мухина и соав. Показано, что медленные темпы ранней неонатальной адаптации у аФЛ «+» новорожденных тесно связаны с более высокой их заболеваемостью. Ведущие патологические состояния обусловлены последствиями хронической внутриутробной гипоксии и перенесенной острой интранатальной асфиксии, которые достоверно чаще регистрировались в группе аФЛ «+» детей, родившихся у женщин с АФС [87].

У беременных с антифосфолипидным синдромом в результате существования хронической фето – плацентарной недостаточности нарушается иммунологическая барьерная функция плаценты, которая увеличивает ее пропускную способность для иммунокомпетентных клеток. Доказательством этого является количество IgM в пуповинной крови новорожденных, равнозначное таковому у матерей. Проходя через плаценту, IgM к фосфатидилэтаноламину и фосфатидилсерину участвуют в возникновении патологии плода, проявляющейся у новорожденных незрелостью и гипотрофией. В развитии недоношенности новорожденных от матерей с АФС основную роль играют IgM к фосфатидилсерину, имеющие непосредственное влияние на формирование фето – плацентарной недостаточности [100].

Изучение циркуляции аФЛ показало, что у детей, развивших синдромом дыхательных расстройств в раннем неонатальном периоде, достоверно чаще выявляются аФЛ (волчаночный антикоагулянт (ВА)). По-видимому, циркуляция антител к фосфолипидам (ВА) становится дополнительным фактором риска синдрома дыхательных расстройств, усиливая процесс сладжирования в микроциркуляторном русле легких, что следует учитывать при обследовании и проведении лечебных мероприятий у этих новорожденных [101]. Дети, рожденные женщинами с АФС и перенесшие респираторный дистресс - синдром в течение первого года жизни, склонны реагировать на вирусную инфекцию реакцией повышенной чувствительности верхних дыхательных путей [100]. В литературе есть указания на необходимость проведения рутинной скрининг - диагностики наличия аФЛ у новорожденных от матерей с АФС [102].

Заключение

Определение распространенности аномальных генов гемокоагуляции и аФЛ среди детей позволит по-новому рассмотреть механизмы их неонатальной адаптации и дезадаптации, последующего роста и формирования, а также возможного развития патологических процессов. Необходимы новые исследования по изучению рисков, связанных с врожденной и приобретенной тромбофилией, на основании которых могут быть определены показания к скрининг-диагностике на тромбофилические полиморфизмы в педиатрической практике.

Резюмируя вышеизложенное, нам представляется актуальным изучение состояния системы гемостаза и особенностей генотипа тромбофилических нарушений у детей при наличии такого неблагоприятного фактора в анамнезе, как тромбофилия у матери.

Полученные данные могут быть использованы для разработки мер профилактики и предупреждения реализации тромботических и нетромботических эффектов тромбофилии, а при отсутствии возможности предупреждения данных нарушений – мер своевременной коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Andrew M, David M., Ali K., Anderson R., Barnard D., Bernstein M. Venous thromboembolic complications (VTE) in children: first analysis of the Canadian registry of VTE // Blood. – 1994. - Vol.83.(5) – P. 1251 – 1258.
2. Lens D., Brugnini A. Association between recurrent pregnancy loss and prothrombotic gene polymorphisms // Thromb. Haemost. - 2003. – abstract. – P. 951.
3. Richardson M., Monahan P. Thrombosis in children: current perspective and distinct challenges. // Thromb. Haemost. - 2002. - Vol.88.(6) – P. 1223 – 1230.
4. Jordan F.L.J., Nandorff A. The familial tendency in thromboembolic disease // Acta Med Scand. – 1956. – Vol. 156. – P. 267-75
5. British Committee for Standards in Haematology (BCSH). Guidelines on the investigation and management of thrombophilia // J. Clin. Pathol. – 1990. – Vol. 43:703–10.
6. Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1996. - №3. - С. 5
7. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. – М.: Russo, 2001. – 703 с.
8. Капустин С.И., Блинов М.Н., Папаян Л.П., Селиванов Е.А. Наследственная тромбофилия – актуальная проблема современной медицины // Медицинский академический журнал. – 2006. Т.1. - №1. С. 183

– 192.

9. Сидельникова В.М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему // Вестник Российской ассоциации акушеров и гинекологов. - 2005. - №2. - С. 62

10. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. Баранова. – СПб.: «Н – Л», 2009. – 528 с.

11. Kupferminc M.J., Eldor A., Steinman N., Many A., Bar-am A., Jaffa A. et. al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy // *N Eng J Med.* – 1999. Vol. 340. – P. 9-13.

12. Alfirevic, Z., Roberts, D. & Martlew V. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review // *European Journal of Obstetric and Gynaecological Reproductive Biology.* - 2002. – Vol. 101.(1) – P. 6 – 14.

13. Anteby E.Y, B. Musalam, A. Milwidsky, A. Blumenfeld, Sh. Gilis, D.Valsky. Fetal inherited thrombophilias influence the severity of preeclampsia, IUGR and placental abruption // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* - 2004. – Vol.113.(1). – P. 31-35.

14. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акиншина С.В. Тромбозы и тромбоземболии в акушерско-гинекологической клинике: молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбоземболических осложнений: Рук. для врачей. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 1064 с.

15. Chalmers E. A. Heritable thrombophilia and childhood thrombosis // *Blood Reviews.* - 2001. – Vol.15.(4). – P. 181-189

16. Clark P. Changes of hemostasis variables during pregnancy // *Semin Vasc Med.* - 2003 Vol.3. (1) – P. 13-24.

17. Poli D, Pecci A, Noris P, Gensini GF. Peripheral arteriopathy of the lower limbs in a patient with severe congenital thrombocytopenia // *Intern Emerg Med.* - 2006. Vol.1.(1) – P. 83-5.

18. Danckwardt S, Hartmann K, Katz B. The prothrombin 20209 C->T mutation in Jewish-Moroccan Caucasians: molecular analysis of gain-of-function of 3' end processing // *J Thromb Haemost.* – 2006. Vol.4.(5) – P. 1078-85.

19. Zhou R.-F., Xie S. Molecular mechanism for hereditary protein C deficiency in two Chinese families with thrombosis // *Thromb. Haemost.* - 2006. - Vol.4.(5) – P. 1154 – 1156.

20. Monagle P, Adams M. et. al. Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood thrombophilia Registry // *Pediatr. Res.* - 2000. - Vol.47.(6) – P. 763 – 766.

21. Kosch A., Junker R., Kurnik K. et. al. Prothrombotic Risk Factors in Children with Spontaneous Venous Thrombosis and Their Asymptomatic Parents: A Family Study // *Thrombosis Research.* - 2000 – Vol. – 99.(6). - P.531-537.

22. Nowak-Göttl U. Thrombosis in the neonate // *Thrombosis Research.* - 2007. - Vol. 119.(1) - P. S85-S87

23. Cnossen M.H., van Ommen C.H., Appel I.M. Etiology and treatment of perinatal stroke; a role for prothrombotic coagulation factors? *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine.* - 2009. – Vol.14.(5). - P.311-317.

24. Момот А.П., Ройтман Е.В., Свирич П.В и соавт. «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование тромбопрофилактика тромбоземболических осложнений в онтогенезе». Протокол ведения национального регистра, 2010. – 70 с.

25. Chabernaud J.L. et al. Platelet transfusions in neonatology // *Transfus Clin Biol.* – 1995. Vol. 2.(1) - P. 17-25.

26. Aronis S, Platokouki H. et. al. Indications of coagulation and/or fibrinolytic system activation in healthy and sick very-low-birth-weight neonates // *Biol Neonate.* – 1998. Vol.74.(5) – P. 337- 44.

27. van Ommen CH., Heijboer H., Bler HR., Hirasig RA., Heijmans HS., Peters M. Venous thromboembolism in childhood: a prospective two-year registry in the Netherlands. *J Pediatr.* – 2001. – Vol. 139. – P. 676–681.

28. Yang Janet Y.K., Chan Anthony K.C. Neonatal Systemic Venous Thrombosis. Review Article // *Thrombosis Research.* - 2010. - Vol. 1266. – P. 471-476.

29. Ehrenforth S., Junker R., Koch HG, et al. Multicentre evaluation of combined prothrombotic defects associated with thrombophilia in childhood. Childhood Thrombophilia Study Group // *Eur J Pediatr.* - 1999. – Vol. 158.(3) – P. 97-104.

30. Revel-Vilk SK, G. Thrombophilia in children with venous thromboembolic disease // *Thromb Res.* – 2006. Vol.118. – P. 59-65.

31. Barnette A. R., Inder T. E. Evaluation and Management of Stroke in the Neonate // *Clinics in Perinatology.* – 2009. Vol.36.(1). – P. 125-136.

32. Giroud M., Lemesle M., Gouyon JB., et al. Cerebrovascular disease in

children under 16 years of age in the city of Dijon, France: a study of incidence and clinical features from 1985 to 1993 // *J Clin Epidemiol.* – 1995. Vol. 48. – P.1343–1348.

33. Lynch JK., Hirtz DG., DeVeber G., Nelson KB. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop on perinatal and childhood stroke // *Pediatrics.* – 2002. Vol. 109. (1) – P. 116-123.

34. Chalmers EA. Perinatal stroke—risk factors and management // *Br J Haematol.* – 2005. – Vol.130. – P. 333–343.

35. Жданова Л.В., Щербакова М.Ю., Решетник Т.М. Встречаемость антител к фосфолипидам и генетических тромбофилий у детей без системных заболеваний соединительной ткани // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН.* - 2009. - Т. 2. № 2. - С. 50-54.

36. Hagstrom J.N., Walter J., Bluebond-Langner R., Amatniek J. C, Manno C. S., High K. A. Prevalence of the factor V Leiden mutation in children and neonates with thromboembolic disease // *The Journal of Pediatrics.* – 1998. - Vol.13.(6). – P. 777-781.

37. Alt E., Banyai S.M., Koppensteiner R. Blood rheology in deep venous thrombosis—relation to persistent and transient risk factors // *Thrombosis Research.* – 2002. – Vol. 107. (3-4). – P.101 – 107.

38. Heller Ch., Nowak-Göttl U. Maternal thrombophilia and neonatal thrombosis // *Best Practice & Research Clinical Haematology.* - 2003. – Vol. 16.(2). – P. 333-345.

39. Thornburg C., Pipe S. Neonatal thromboembolic emergencies // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine.* – 2006. – Vol.11.(3). – P. 198-206.

40. Rask O., Hillarp A., Berntorp E., Ljung R. Anti-prothrombin antibodies are associated with thrombosis in children // *Thrombosis Research.* - 2010. -Vol. 125.(1). – P. 19-24.

41. Nowak-Göttl U., Dbbbers A., Kececioglu D., Koch H.G., Kotthoff S., Runde J. Factor V Leiden, protein C, and lipoprotein (a) in catheter-related thrombosis in childhood: A prospective study, // *The Journal of Pediatrics.* – 1997. Vol. 131.(4). – P. 608-612.

42. Massicotte M.P., Dix D., Monagle P., Adams M., Andrew M. Central venous catheter related thrombosis in children: Analysis of the Canadian Registry of Venous Thromboembolic Complications // *The Journal of Pediatrics.* – 1998. Vol. 133. (6). – P. 770-776.

43. Revel-Vilk S., Chan A., Bauman M., Massicotte P. Prothrombotic conditions in an unselected cohort of children with venous thromboembolic disease // *J Thromb Haemost.* – 2003. Vol. 1. – P. 915-921.

44. Плацентарная недостаточность: диагностика и лечение: учеб. Пособие / О. Н. Аржанова, Н. Г. Кошелева, Т. Г. Ковалева и др.; под. ред. Э.К. Айламазяна. — СПб, 2002. – 27 с.

45. Leistra M. J., Timmer A., van Spronsen F. J., Geven W. B., van der Meer J., Erwich J. J. H. M. Fetal Thrombotic Vasculopathy in the Placenta: A Thrombophilic Connection Between Pregnancy Complications and Neonatal Thrombosis? *Placenta* – 2004. – Vol.25.(1). – P. S102-S105.

46. Khong T. Yee. Placental vascular development and neonatal outcome // *Seminars in Neonatology.* – 2004. – Vol. 9.(4). – P. 255-263.

47. Стрижаков А.Н., Макацария А.Д., Тимохина Е.В., Баймурадова С.М., Козлова У.А. Фетальные тромбофилии и их роль в патогенезе плацентарной недостаточности // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* - 2009. - № 6. - С. 5-10.

48. Крюков П.М., Шабалдин А.В., Казакова Л.М., Глушков А.Н. Клиническая характеристика новорожденных от матерей с привычным невынашиванием беременности в анамнезе // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* - 2005. - № 1. - С. 106.

49. Rees D.C, Cox M. World distribution of factor V Leiden // *Lancet.* – 1995. Vol. 346.(8983) - P. 1133-4.

50. Bloemenkamp K.W., Rosendaal F.R. et. al. Enhancement by factor V Leiden mutation of risk of deep-vein thrombosis associated with oral contraceptives containing a third-generation progestagen // *Lancet.* – 1995. Vol. 346. – P. 1593-6.

51. Ridker P.M., Miletich J.P. et. al. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening // *JAMA.* -1997. Vol. 277.(8990) – P. 1305-7.

52. De Stefano, Chiusolo P. et. al. Epidemiology of factor V Leiden: clinical implications // *Semin Thromb Hemost.* - 1998. Vol. 24.(4) – P. 367-79.

53. Poort S.R, Rosendaal F.R. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // *Blood.* – 1996. Vol. 88.(10) – P. 3698-703.

54. Heijboer H., Brandjes D.P. et. al. Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis // *N Engl J Med.* – 1990. Vol. 323.(22) – P. 1512-6.

55. De Stefano V., Rossi E., Paciaroni K., Leone G. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications // *Haematologica.*

– 2002. Vol. 87.(10) – P. 1095-1108.

56. Souto JC, Coll I, Llobe D, et al. The prothrombin 20210Aallele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population // *Thromb Haemost.* - 1998. Vol. 80(3). – P. 306–9.

57. Dawson S.J., Hamsten A., et al. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor – 1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor – 1 activity // *Arterioscler Thromb* – 1991. - Vol.11.(1) – P. 183 – 190.

58. Mansfield M.W., Stickland M.H. Plasminogen activator inhibitor – 1 (PAI-1) promoter polymorphism and coronary artery disease in non-insulin-independent diabetes // *Thromb Haemost* – 1995. - Vol.74.(4) – P. 1032 – 1034.

59. Tassies D., Munoz-Rodriguez F.G. The 4G/5G polymorphism of the type 1 plasminogen activator inhibitor gene and thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome // *Arthritis Rheum* – 2000. - Vol.43.(10) – P. 2349 – 2358.

60. Weiss E.J., Bray P.F. Polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inheritant risk factor for coronary thrombosis // *N Engl J Med* – 1996. – Vol. 334.(17) – P. 1080 – 1094.

61. Bray P.F. Platelet glycoprotein polymorphism as a risk factor for thrombosis // *Curr Opin Hematol.* – 2000. - Vol.7.(5) – P. 284 – 289.

62. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // *Nat Genet.* – 1995. Vol. 10(1). – P. 111-3.

63. Den Heijer M, Koster T, Blom HJ et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis // *EN Engl J Med.* – 1996. Vol. 334.(12) - P. 759-62.

64. Cattaneo M. Homocysteine and cardiovascular diseases // *Circulation.* -1999. Vol.100.(25) – P. 151.

65. Perry D.J. Hyperhomocysteinaemia // *Best Practice & Research Clinical Haematology.* -1999. Vol.12.(3) - P. 451-477.

66. De Stefano V., Casorelli I., Rossi E., Zappacosta B., Leone G. Interaction between hyperhomocysteinemia and inherited thrombophilic factors in venous thromboembolism. Review // *Semin Thromb Hemost.* – 2000. Vol.26.(3). - P. 305-11.

67. Hochfeld M., Druzin M.L., Maia D. et. al. Pregnancy complicated by primary antiphospholipid antibody syndrome // *Obstet. Gynec* - 1994. Vol. 83. N 5. (2). - P. 804 - 805.

68. Hohlfield J., Schneider M., Hein R. et. al. Thrombosis of the terminal aorta, deep vein thrombosis, recurrent fetal loss, and antiphospholipid antibodies. Case report // *Vasa.* - 1996. Vol.25.(2). – P. 194-9.

69. Branch D.W., Silver R., Pierangeli S., van Leeuwen I., Harris EN. Antiphospholipid antibodies other than lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in women with recurrent pregnancy loss, fertile controls, and antiphospholipid syndrome // *Obstet Gynecol.* - 1997. Vol. 89.(4). – P. 549-55.

70. Merrill J.T. What causes the antiphospholipid syndrome? // *Curr Rheumatol Rep.* – 2001. Vol. 3.(4) – P. 293-300.

71. Brey R.L., Stallworth CL, McGlasson DL, Wozniak MA, Wityk RJ, Stern BJ, Sloan MA, Sherwin R, Price TR, Macko RF, Johnson CJ, Earley CJ, Buchholz DW, Hebel JR, Kittner SJ. Antiphospholipid antibodies and stroke in young women // *Stroke.* – 2002. Vol. 33.(10) – P. 2396-400.

72. Gezer S. Antiphospholipid syndrome // *Disease-a-Month.* – 2003. Vol. 49.(12). – P. 696-741.

73. Asherson R.A., Cervera R. Antiphospholipid antibodies and infections // *Ann Rheum Dis.* - 2003. - Vol.62.(5). – P. 388 – 393.

74. Triplett D.A. Antiphospholipid antibodies: proposed mechanisms of action // *Am J Reprod Immunol.* – 1992. Vol. 28(3-4). - P. 211-5.

75. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome // *J Autoimmun.* - 2000. - Vol.15. – P. 145 – 151.

76. Verrotti A., Cieri F. Lack of association between antiphospholipid antibodies and migraine in children // *Int J Clin Lab Res* - 2000. - Vol.30. – P. 109 – 11.

77. Tanne D., Levine SR. Epidemiology of the antiphospholipid antibodies and vascular disease. *Clinical Approaches to Antiphospholipid Antibodies.* Butterworth Heineman (Boston): 2000; 1-18.

78. Finazzi G. Epidemiology of the antiphospholipid syndrome: who is at risk? // *Curr Epidemiol Report* - 2001. - Vol.3.(4). – P. 271 – 278.

79. McNeil HP, Gavaghan TP, Krilis SA, Geczy AF, Chesterman CN. HLA-DR antigens and anticardiolipin antibodies // *Clin Exp Rheumatol.* – 1990. Vol.8.(4). – P. 425-6.

80. Sugai S. Antiphospholipid antibody and antiphospholipid antibody syndrome. Review // *Curr Opin Rheumatol.* – 1992. Vol.4.(5) – P. 666-71.

81. Caliz R, Atsumi T, Kondeatis E, Amengual O, Khamashta MA, Vaughan

RW, Lanchbury JS, Hughes GR. HLA class II gene polymorphisms in antiphospholipid syndrome: haplotype analysis in 83 Caucasoid patients // *Rheumatology (Oxford).* – 2001. Vol.40. (1) – P. 31-6.

82. Sebastiani G.D., Minisola G. HLA class II alleles and genetic predisposition to the antiphospholipid syndrome // *Autoimmune Rev* - 2003. - Vol.2. – P. 387 – 394.

83. Dagenais P., Urowitz M.B. A family study of the antiphospholipid syndrome associated with other autoimmune disease. // *J Rheumatol* - 1992. - Vol.19. – P. 1393 – 1396.

84. Пономарева Л.П., Сеникова М.К. // *Вопр. совр. педиатрии.* – 2002. Вып. 1.(3). – С. 28 - 30.

85. Jooske M.F. Boomsma, Richard A. van Lingen, Jim van Eyck, Pieter Tamminga, Boudewijn J. Kollen, Ruurd M. van Elburg. Short- and long-term outcome of infants born after maternal (pre)-eclampsia, HELLP syndrome and thrombophilia: a retrospective, cohort study // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2010. – Vol. 153.(1). – P. 47-51.

86. Calhoun M. J., Ross C. N., Pounder E., Cassidy D., Manco-Johnson M. J., Goldenberg N. A. High Prevalence of Thrombophilic Traits in Children with Family History of Thromboembolism // *The Journal of Pediatrics.* – 2010. – Vol.157. (3). – P. 485 - 489.

87. Мухина Ю.Г., Ильина А.Я., Кириллова Н.И., Дубинкина Е.М., Калимулина Г.А., Лачинян В.Л. Особенности адаптации новорожденных с циркулирующей антифосфолипидных антител в раннем неонатальном периоде // *Тез. докл. Москва, 2008.* С. 354 – 355

88. Барашнев Ю.И. Перинатальная неврология. - М: Триада-Х, 2001.

89. Плюшкин В.А., Маринкин И.О., Белоусова Т.В. Перинатальные аспекты тромбофилических состояний у беременных // *Медицина и образование в Сибири.* - 2009. -№ 2. - С. 2-2.

90. Пюрбеева Е.Н., Зайнулина Е.Н. Значимость врожденной тромбофилии в патогенезе внутриутробной задержки развития плода // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2007. – Т. LVII, Спецвыпуск. – С. 32.

91. Бицадзе В.О., Макацария А.Д. Принципы профилактики развития дефектов нервной трубки плода // *Акушерство и профилактики развития дефектов нервной рубки плода.* – 2007. - №1. – С. 26.

92. Hobbs C.A., Sherman S.L., Yi P. et. al. Polymorphisms in Genes involved in Folate Metabolism as maternal Risk Factors for Down syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol.67. – P. 623 – 630.

93. Bosco P., Gueant – Rodrigues R.M., Anello G. et. al. Methionine synthase (MTR) A2756G polymorphism, double heterozygosity MTGG A55G, and elevated homocysteinemia are three factors for having a child with Down syndrome // *Am. J. Med. Genet. A.* – 2003. – Vol.121.(3) – P. 219 – 224.

94. Gibson C. S., MacLennan A. H., Hague W. M., Haan E. A., Priest K., Chan A., Dekker G. A. Associations between inherited thrombophilias, gestational age, and cerebral palsy // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2005. – Vol. 193.(4). – P. 1437.e1-1437.e12.

95. Тадгаева З.Г. и Кацадзе Ю.Л. Полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы, гипергомоцистеинемия и возможности ее медикаментозной коррекции при миграции у детей // *Казанский медицинский журнал* – 2007. – Т.88. №1. – С. 16-20.

96. Johnson S.M., Meyers R.L. Inherited thrombophilia: A possible cause of in utero vascular thrombosis in children with intestinal atresia // *Journal of Pediatric Surgery.* – 2001. – Vol. 36.(8). – P. 1146-1149.

97. Плаксина А.Н. Прогнозирование здоровья и качества жизни детей, рожденных с помощью вспомогательных репродуктивных технологий: автореф дис. канд. мед. наук / Плаксина Анна Николаевна - Екатеринбург, 2011. – 27с.

98. Богданова А.С. Гемостазиологические и иммунологические особенности у детей с врожденными пороками развития и тромбофилиями: дис. канд. мед. наук. - Чита, 2006. – 138 с.

99. Мироманова Н.А. Особенности иммунитета и гемостаза у детей при некоторых инфекционных заболеваниях, отягощенных и неотягощенных тромбофилией: дис. канд. мед. наук. - Чита, 2006. – 139 с.

100. Бандур Н.Н. Оценка риска развития респираторного дистресс – синдрома у детей, рожденных женщинами с антифосфолипидным синдромом: дис. канд. мед. наук. - Владивосток, 2006. - 141 с.

101. Ильина А.Я. Современные проблемы состояния здоровья новорожденных раннего неонатального периода, родившихся у женщин с кардиоваскулярной патологией, антифосфолипидным синдромом и нарушением антиэндотоксинового иммунитета: дис. докт. мед. наук. - Москва, 2004. - 227 с.

102. Boffa M.-C., Lachassinne E. Infant perinatal thrombosis and antiphospholipid antibodies: a review // *Lupus.* – 2007. – Vol.16. – P. 634–641.

Kovtun O.P., Baranov D.A.,
Kuznetsov N.N., Plaxina A.N.
**THROMBOTIC AND NONTHROMBOTIC
EFFECTS OF THE THROMBOPHILIA:
THE ACTUAL PEDIATRIC ASPECTS**

Abstract. In the end of XX century the group of inherited and acquired defects of the haemostasis, shown in the raised propensity to a thrombosis was allocated. In the literature the given pathology is described under a phenomenon «thrombophilia» (TP). There is a little information about prevalence of the inherited and acquired thrombophilia among children. The definition of the prevalence of abnormal genes among children will allow us to consider the mechanisms of the neonatal adaptations and dysadaptations, the subsequent growth and formation and also possible development of the pathological processes from the origin side.

The development of the predictive medicine will allow us to conduct the selection of patient's groups of supervision in a new fashion. Obtained data can be used for the prevention of the realization of thrombotic and nonthrombotic effects of the thrombophilia.

Key words: Thrombophilia, gene's polymorphisms, thrombosis, folat cycle, aPL.

Авторская справка

Ковтун Ольга Петровна; e-mail: usma@usma.ru
Баранов Дмитрий Алексеевич; e-mail: medicus_br33@rambler.ru
Кузнецов Николай Николаевич; e-mail: niknik@e1.ru
Плаксина Анна Николаевна; e-mail: plak@k66.ru

ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития
Россия, 620028, г. Екатеринбург Репина ул., д. 3

Authors

Kovtun Olga P.
Baranov Dmitriy A.
Kuznetsov Nikolay N.
Plaxina Ann N.

The Ural State Medical Academy;
620028, Russia, Yekaterinburg, Repin Str. 3

УДК 579.61:616-078

Соломенный А.П.
**ИНТЕГРОНЫ: ЗНАЧИМЫЕ СТРУКТУРЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ (ОБЗОР)**

Учреждение Российской академии наук Институт экологии и генетики микроорганизмов

Уральского отделения РАН, г. Пермь, Россия

Резюме. В обзоре представлены современные данные об исключительной важности бактериальных интегров в качестве акцепторов и переносчиков генов (генных каскадов) лекарственной устойчивости. Обсуждаются особенности эволюции резистентных интегров, а также возможные способы контроля их распространения.

Ключевые слова: интегрон, генная каскада, множественная лекарственная устойчивость, молекулярно-генетический анализ.

В отличие от эпидемической ситуации пятидесятилетней давности современные возбудители инфекции характеризуются множественной лекарственной устойчивостью. В словарь клинической микробиологии сегодня введены термины «экстремально-резистентные» и «пан-резистентные» штаммы, что отражает устойчивость к доступным антимикробным препаратам. Для этих штаммов из всего арсенала средств антимикробной химиотерапии лишь одна или две (в лучшем случае) формулы остаются активными [50]. Молекулярно-генетический анализ показал факт концентрации генов лекарственной устойчивости в определенных хромосомных и плазмидных локусах, где с высокой частотой происходят генетические рекомбинации [48]. Таким образом, в середине 1980-х годов были идентифицированы бактериальные резистентные интегроны (РИ) в четырех различных локализациях: на транспозонах Tn21 и Tn1696 и трансмиссивных плаزمидях R46 (IncN) и R388 (IncW) [75]. Интегрированные гены устойчивости были выявлены среди большого списка бактериальных штаммов [11, 32].

Описанию генетической структуры интегров посвящен ряд обзоров, в том числе в отечественной научной литературе [1-4, 13, 27, 49, 66, 69]. Поисковые работы проводятся в большом числе исследовательских лабораторий, так, в мире ежегодно публикуется 150-200 экспериментальных статей по различным аспектам эволюции, генетики и эпидемиологии интегров, при заметном преобладании работ медико-санитарной направленности, но не в отечественной литературе (база данных Scopus). На текущий момент интегроны обнаружены в составе 10% полностью секвенированных микробных геномов, из числа размещенных в базе GenBank. В данной работе интегроны принципиально не подразделяются на резистентные (РИ) и суперинтегроны (СИ), поскольку такое деление (исходя из сегодняшних представлений) выглядит искусственным [35]. Убедительно доказано, что характеристической последовательностью всех интегров является рекомбинационно-активная часть, которая состоит из гена, кодирующего фермент интегразу, подлежащего сайта интеграции/рекомбинации (attI) и промоторного региона [18, 21, 25]. Проксимальнее (в 3'-на-

правлении) могут находиться гены адаптивного ответа, а дистальнее – генетический модуль, необходимый для транспозиции. Организация двух наиболее хорошо изученных вариантов РИ представлена на рис. (а, б). Также стали известны более сложно организованные структуры, например, интегроны комплексного состава (рис., в), равно и другие «неканонические» формы [43, 55, 56, 78].

Подразделить интегроны возможно на основании первичной последовательности гена интегразы, а также количества встроенных генов и локализации интегрона в геноме. Различные интегроны кодируют рекомбинационные ферменты лишь на 39-58% гомологичные между собой и сравнительный анализ (на основании расчета частот нуклеотидных замещений) прояснил, что эволюционное расхождение интегров произошло значительно раньше начала интенсивного использования антибиотиков [24]. По мере совершенствования молекулярно-генетических подходов число известных классов интегров регулярно увеличивается [54].

Практически одновременно с открытием интегров было доказано, что встроенные в них гены адаптивного ответа представляют собой генные каскады, т.е. не только открытую рамку считывания (ORF), но и специфический рекомбинационный сайт (attC) [34, 63]. Размер открытой рамки считывания составляет не менее 250-500 пар оснований, также варьирует и размер attC (в пределах 50-150 п.о.). Генные каскады были обнаружены и автономно в виде мобильных, нереплицирующихся, замкнутых фрагментов ДНК [19]. Разнообразие каскетно-организованных генов метагенома чрезвычайно велико и может считаться важнейшим эволюционно-адаптивным ресурсом микробного мира [37, 52, 71]. Единство происхождения генных каскет не подтверждается филогенетическими данными, поскольку частоты использования кодонов и показатель содержания оснований G+C, мол.% в разных ORF существенно варьируют. Вполне вероятно, генные каскады были образованы в результате обратной транскрипции малых молекул РНК с последующим присоединением attC-последовательностей в ходе многочисленных горизонтальных геномных переносов, причем в некоторых каскетах смогли соединиться две рамки считывания и образоваться собственный промотор [64].

В большинстве случаев (но не всегда) каскады в составе интегров организованы в виде набора из двух и более каскет, т.н. тандемного набора. Число генных каскет в составе интегров может насчитывать вплоть до двухсот в хромосомных элементах, получивших наименование суперинтегроны [70]. Так, СИ галофильного патогенного штамма *Vibrio vulnificus* YJ016 содержит 188 генных каскет и вся последова-

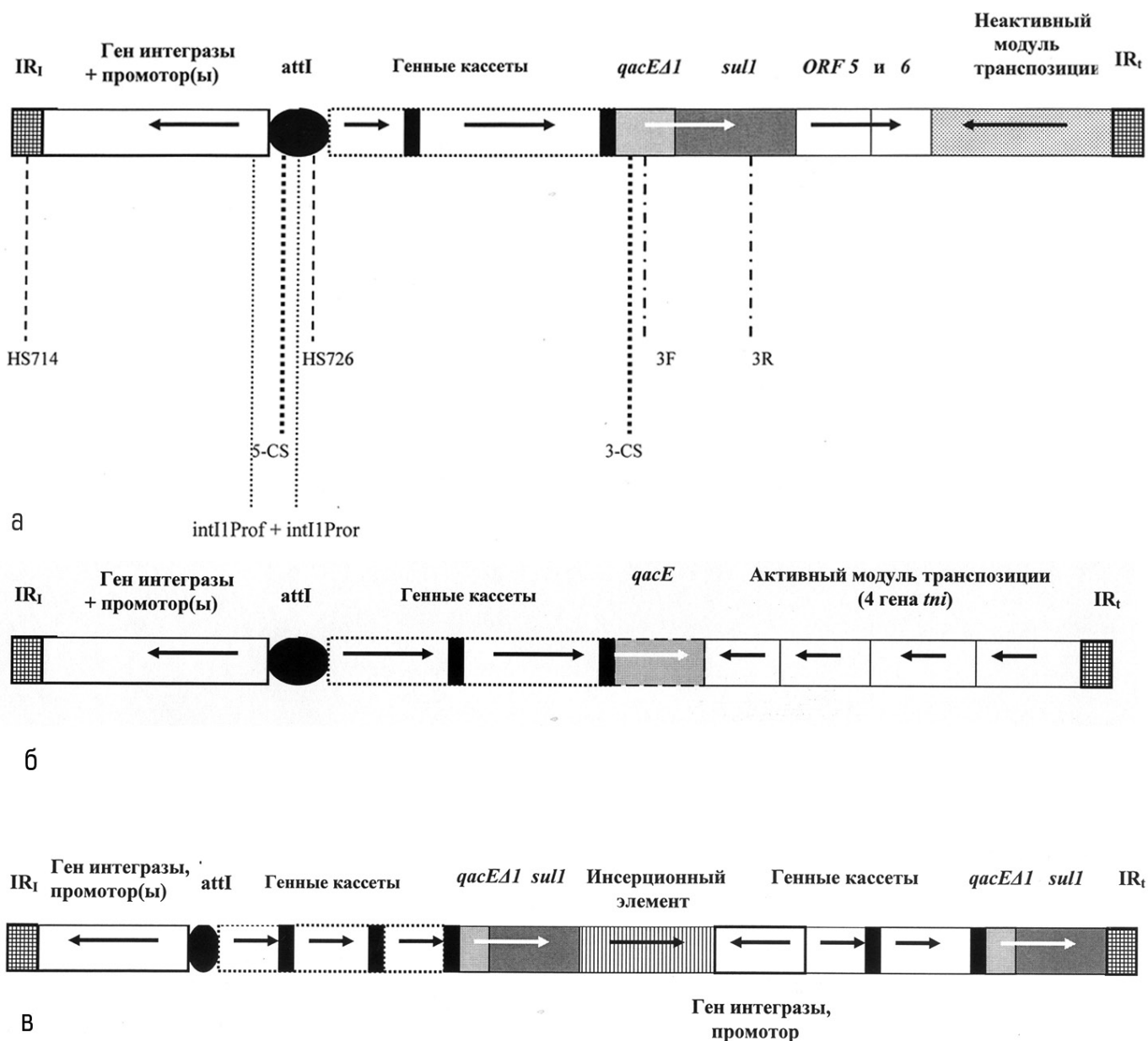


Рисунок. Генетический состав некоторых резистентных интегронов: типовой вариант (а), вариант на транспозоне Tn402 (б) и комплексный интегрон (в). Обозначения: IR – тандемные генные повторы, служащие границами интегрона; attI – сайт рекомбинации (темные прямоугольники – attC генных кассет); *qacE* и *qacE*A1 – активный и неактивный гены устойчивости к дезинфектантам; *sulI* – ген устойчивости к сульфамидам; orf – неидентифицированные гены. Стрелками показано направление транскрипции. Вертикальными линиями отмечены фрагменты, которые амплифицируются в полимеразной цепной реакции при обнаружении интегрона. Каждый фрагмент ограничен участками связывания специфических праймерных последовательностей.

тельность насчитывает 138 тысяч пар оснований (т.п.о.) [22]. У штамма *V. cholerae* El Tor N16961 таких кассет, по-видимому, насчитывается 175, а их общий размер составляет 126 т.п.о. [16]. В СИ штамма *Vibrio* sp. DAT722 определено 116 кассет, причем у ряда из них есть собственные внутренние промоторы в дополнение базового промоторного региона [42]. Оказалось, что СИ характерны для патогенных и условно-патогенных видов семейства *Vibrionaceae* (*V. harveyi*, *V. marinus*, *V. hollisae*, *V. anguillarum*, *V. salmonicida*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. parahaemolyticus*, *V. fischeri*, *Photobacterium* spp.) [51, 66]. СИ размером более 100 т.п.о. выявлены в геноме других гамма-протеобактерий, например, среди представителей родов *Shewanella* и *Xanthomonas* [31]. Обнаружены СИ у псевдомонад (*Pseudomonas alcaligenes*, *Ps. mendocina*, *Ps. stutzeri*), а также бета-протеобактерий (*Nitrosomonas europaea*) [38, 77]. Для некоторых СИ *in vitro* показана способность улавливать генные кассеты антимикробной устойчивости, в т.ч. к аминогликозидам (*aadB*) и активно экспрессировать приобретенный ген [17]. *In vivo* в составе суперинтегронов доказано присутствие других генных кассет, кодирующих устойчивость к антимикробным препаратам. Так, у поп-01/ поп-0139 штаммов *Vibrio cholerae* обнаружены кассеты, кодирую-

щие устойчивость к триметоприму и бета-лактамам антибиотикам [41,57]. Кассетная детерминанта *qnrVC2*, кодирующая устойчивость к хинолонам (в т.ч. ципрофлоксацину), обнаружена в СИ эпидемического штамма *V. cholerae* O1 [28]. Тринадцать кассет, кодирующих компоненты пары токсин/антитоксин, идентифицированы в СИ у штаммов *V. cholerae* N16961 и *V. fischeri*. Привлекательным объяснением адаптивной значимости данного оперона является его участие в обеспечении стабильности СИ, а также защите бактериальной клетки от чужеродной ДНК [13].

В стабильность наследования СИ существенный вклад вносит факт их дислокации исключительно на хромосомах, что характерно даже для небольших по размеру СИ у бактерий родов *Nitrosomonas*, *Shewanella* и *Geobacter* [44]. Состав интеграз и рекомбинационных сайтов позволяет считать хромосомные СИ эволюционными предшественниками более мобильных резистентных интегронов [67]. Так, первичные последовательности некоторых кассет в составе РИ идентичны генным кассетам, амплифицируемым у *V. cholerae*, *Shewanella putrefaciens* и *Xanthomonas* spp. Также и интегразы РИ способны рекомбинировать генные кассеты суперинтегронов холерного вибриона и других патогенов [47].

Согласно данным генного анализа, эволюция интегронов, хотя и началась задолго до терапевтического применения антибиотиков, зависит от тенденций современной антимикробной химиотерапии. Тем не менее у музейных штаммов, датированных столетним периодом, СИ, например, уже присутствуют [68]. Также и РИ показаны в составе «древних» транспозонов, где они соседствуют с генами устойчивости к ионам ртути и другим токсичным неорганическим ионам. В составе РИ штаммов, выделенных из образцов вечной мерзлоты возраста 15-35 тысяч лет обнаруживаются реликтовые генетические элементы, подобно комбинации генов устойчивости к стрептомицину *strA-strB* [58]. Однако, лишь небольшая часть бактериальных клеток в природных средах (вода, почва, седименты) содержит РИ 1-го класса [36]; напротив, фекальная микрофлора человека обогащена интегрон-положительными бактериями [60, 79].

В отличие от суперинтегронов, в РИ наблюдается ограниченное число генных каскет (не более десяти), однако они кодируют именно функциональные продукты защиты от антимикробных препаратов. Так, список генных каскет, кодирующих (аминогликозид)ацетил- и аденилтрансферазы насчитывает более 40 вариантов [15, 55]. Каскет устойчивости к хлорамфениколу (левомицетину) описано 11, к триметоприму – 25, причем число вновь описываемых последовательностей регулярно увеличивается [55]. Генные каскеты, известные в составе РИ, кодируют резистентность к рифампицину (касеты *arr*), эритромицину (*ereA1, A2*), линкомицину (*linF, G*), фосфомицину (*fos*), хинолонам (*qnrVC*), стрептогрицину (*sat*), а также белку множественной лекарственной устойчивости (*smr*) [55]. Каскетную организацию имеет ген устойчивости к четвертичным солям аммония (дезинфектантам) *qac*, присутствующий в РИ в функциональном или делетированном виде (*qacEΔ1*) [75]. Самый значительный пул генных каскет в РИ составляют гены устойчивости к бета-лактамам антибиотикам, включая карбапенемы. В их числе детерминанты, кодирующие бета-лактамазы классов А (*blaP, veb, ges*) и D (*oxa*) [55]. Особую значимость представляют каскеты, кодирующие металло-бета-лактамазы (*imp, gim, sim, vim*), которые определяют наиболее высокий уровень устойчивости к карбапенемным антибиотикам [65]. Из них, касета *vim2*, по-видимому, наиболее широко распространена в клинических штаммах из различных географических зон [80, 82]. Для более шестидесяти генных каскет связь их функционального продукта с обеспечением антимикробной устойчивости пока не подтверждена, в этом случае каскеты получают наименование *orf* [55].

Представлены данные о существовании генетически более «успешных» каскет, которые не только закрепляются в интегронах, но и эволюционируют (посредством точечных мутаций), что выражается в повышении активности кодируемого фермента. Так, согласно [8] родственные гены семейства *dfiA* (продукт – дигидрофолатредуктаза, нечувствительная к триметоприму) встроены в интегроны относительно недавно, но различия в аминокислотном составе принципиально выражены. Семейство генных каскет *ges*, кодирующих оксациллиназу, состоит из 16 вариантов, их продукты различаются лишь одной-тремя аминокислотами, при этом вариант GES-14 приобрел активность в отношении карбапенемов [10].

Посредством РИ осуществляется распространение tandemно-расположенных генов устойчивости между разными физиологическими группами бактерий [11, 59]. В первую очередь это также касается сочетаний генных каскет устойчивости к триметоприму (*dfi*), бета-лактамам и аминогликозидам: *aadA* (определяет устойчивость к стрептомицину), *aacC1* (устойчивость к гентамицину), *aacA4* (устойчивость к гентамицину, амикацину и нетилимицину). Устойчивые сочетания в составе РИ обнаружены и среди грамположительных бактерий *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus* [83]. Отсюда, различия в фенотипе резистентности, которые ранее наблюдали на таксономическом и географическом уровне, практически нивелируются.

При молекулярно-генетических исследованиях госпитальных штаммов отмечено, что доля РИ с tandemным набором каскет существенно возрастает [55, 56]. Отсюда в РИ наблюдается усиление активности промотора, обеспечивающего экспрессию каскет [20]. Согласно силе транскрипции промоторы интегрона 1-го класса подразделяются на слабый, гибридный, сильный и «сверхсильный» типы, различия между ними находятся в нуклеотидных заменах в составе -35 и -10 последовательностей [40, 46]. Слабый промотор может быть компенсирован образованием вторичной промоторной последовательности при добавлении триплета GGG между его -35 и -10 последовательностями. Поскольку экспрессия множества каскет единственным слабым промотором затруднена, лишь модификация к более сильным типам позволяет

преодолеть данное ограничение. При этом, количество транскриптов, детектируемых для генной каскеты может возрастать в несколько раз, а минимальная ингибирующая концентрация антибиотика - увеличиться до 4-8 раз [12]. Для модификации гибридного промотора с 10-кратным усилением его активности достаточно единственной замены гуанина (G) на тимин (T) во втором положении -35 гексамера [11]. Промоторы интегронов различных классов, по-видимому, существенно различаются, но неожиданной оказалось наличие обратной зависимости интеграционной способности от силы промотора [39, 62]. Выдвинуто предположение, что промотор «дикого» типа представляет собой слабый тип, что соответствует наивысшей активности интегразы [74].

Присутствие РИ сегодня может считаться значимым критерием в описании «госпитального штамма» [73]. Так, в рамках проекта РФФИ-Урал «Особенности рекомбинаций и мутаций возбудителей нозокомальных инфекций в многопрофильных стационарах» показано, что в структуре условно-патогенных возбудителей (на примере *Acinetobacter baumannii*) преобладают интегрон-положительные изоляты, несущие в геноме РИ 1-го класса при наличии сильного промотора. Доля таких изолятов составила 64, 8% от всех лекарственно-устойчивых культур. Этот показатель является более высоким, сравнительно с данными, полученными ранее (в 2003-2009 гг.) в различных клиниках России (уровень 15-20%). В других проспективных исследованиях также подтверждается факт связи интегрон-носительства и лекарственной устойчивости [27]. Нами показано, что в ожоговом стационаре г. Санкт-Петербурга интегрон-положительные штаммы являются полирезистентными: 89,6 % таких культур устойчивы к 10 и более антибиотикам. Уровень резистентности составляет: к амикацину – 82%, ципрофлоксацину – 75%, тобрамицину – 71%, цефалоспорином и гентамицину – 100 %. Интегрон-положительные штаммы в отличие от негативных способны к росту в присутствии 2 мг/мл сульфатацетида (устойчивость к сульфаниламидам является дополнительным свидетельством наличия интегрона 1-го класса) [5].

Множественный лекарственно-устойчивый фенотип ферментирующих граммотрицательных бактерий также связан с присутствием РИ [45]. Высокий уровень резистентности энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.) часто обусловлен образованием бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [7]. Роль РИ в распространении бета-лактамазных генов чрезвычайно велика. Так, среди БЛРС-продуцирующих штаммов *E. coli*, выделенных от клинического материала в госпитале в южном Таиланде 75% были интегрон-положительными [61]. Из 176 изолятов холерного вибриона разных сероваров, выделенных из клинического материала и природных источников в Таиланде в период 1982-1995 гг. 44 изолята (25%) были интегрон-положительными [23]. В исследованиях обнаружены генные каскеты *oxa-1, pse1, veb-1* и *bla_{IMP}*, которые распространяются среди энтеробактерий посредством РИ [12, 30, 72, 81]. Интегрон комплексно состава In53 в лекарственно-устойчивом штамме *E. coli*, содержит не менее десяти генных каскет, среди которых кодирующая БЛРС *bla_{VEB-1}*, а также *bla_{oxa-10}* [53]. Генетическая мобильность обеспечивает горизонтальный перенос подобных РИ между видами энтеробактерий, например, *Klebsiella pneumoniae* MG-2 и *Proteus mirabilis* Lil-1 [53].

Препятствий распространению интегрон-положительных штаммов практически не разработано. Рассчитано, что ежегодно более 1019 бактерий, имеющих РИ 1-го класса, контаминируют окружающую среду Великобритании, в том числе водным путем [29]. Ассоциация интегрон-положительных штаммов с растительной пылью способствует их распространению аэрогенным путем [6, 76]. В целом, уровень лекарственной устойчивости позволяет штаммам с РИ укорениться и длительно персистировать в медико-профилактических учреждениях, включая отделения экстренной помощи. Система инфекционного контроля должна учитывать риск дальнейшего роста полирезистентных условно-патогенных штаммов. Показания к применению антимикробных средств следует разрабатывать не только на основе сложившейся клинической практики, позиций фармакоэкономики и данных текущего состояния резистентности, но и с учетом подробного молекулярно-генетического мониторинга штаммов, выделенных в госпитальной среде. В целом, РИ в виде устойчивых элементов генома могут служить эпидемиологически-ценными маркерами, отличая экстремально лекарственно-устойчивые и/или вирулентные штаммы.

Вероятно, в ближайшем будущем клиницистов и клинических микробиологов ожидает дефицит активных антимикробных препаратов выбора. В связи с этим, достаточно перспективны исследования, связанные с разработкой способов инактивации интегрон-положительных штаммов и/или ингибирования экспрессии генов адаптивного ответа. Потенциально интересным представляется синтез ингибиторов ин-

тегронной интегразы, по аналогии с таковыми для вирусных интеграз (например, ВИЧ). Хотя разнообразие интеграз достаточно высоко, они принадлежат к единому семейству тирозиновых рекомбиназ с близкими биохимическими свойствами. В последнее время установлена связь между активностью интегразы и работой компонентов системы SOS-регуляции [9, 33]. Исследования *in silico* и *in vivo* установили, что потеря регуляции со стороны белка LexA может приводить к частичной инактивации интеграз в составе РИ и СИ [14]. Показано, однако, что нарушение сайта связывания LexA в интегразе увеличивает экспрессию генных кассет [14]. В любом случае, поиск молекул с анти-SOS активностью, препятствующих действию белка LexA, имеет определенную фармацевтическую перспективу. Такие препараты можно было бы использовать в очагах эпидемических вспышек [26].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-Урал (Пермский край) № 10-04-96023, номер государственной регистрации 01201057541.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильина Т.С. Суперинтегроны бактерий – источники новых генов с адаптивными функциями // Генетика. 2006, 11: 1536-1546.
- Ковалевская Н.П. Мобильные генные кассеты и интегроны // Молекулярная биология. 2002, 2: 261-267.
- Миндлин С.З., Петрова М.А., Басс И.А., Горленко Ж. М. Происхождение, эволюция и миграция генов лекарственной устойчивости // Генетика. 2006, 11: 1495-1511.
- Романова Ю.М., Ильина Т.С., Гинцбург А.Л. Мобильные генетические элементы и их роль в эволюции патогенных бактерий // Вестник РАМН. 2001, 11: 15–20.
- Соломенный А.П., Демаков В.А., Максимов А.Ю., Гончаров А.Е., Яфаев Р.Х., Крылов К.М. Генетическое разнообразие *Acinetobacter baumannii* в отделении ожоговой реанимации // Журн. микробиол. 2006, 2: 25-30.
- Соломенный А.П., Ляпунов Я.Э., Кузьев Р.З. Генетическая вариабельность резистентных интегронов энтеробактерий // Бюлл. эксперим. биол. мед. // 2011, 5: 556-559.
- Страчунский Л.С. β-лактамазы расширенного спектра – быстро растущая и плохо сознаваемая угроза // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2005, 1: 92-96.
- Adrian P., Thomson C., Klugman K., Amyes S. New gene cassettes for trimethoprim resistance, *dhfr13*, and streptomycin-spectinomycin resistance, *aadA4*, inserted on a class 1 integron // Antimicrob. Agents Chemother. 2000, 44: 355-361.
- Baharoglu Z., Bikard D., Mazel D. Conjugative DNA transfer induces the bacterial SOS response and promotes antibiotic resistance development through integron activation // PLoS Gen. 2010, 6:e1001165.
- Bogaerts P., Naas T., El Garch F. et al. GES extended-spectrum beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium // Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54: 4872-4878.
- Boucher Y., Labbate M., Koenig J.E., Stokes H.W. Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria // Trends Microbiol. 2007, 15: 301-309.
- Boyle F., Healy G., Hale J. et al. Characterization of a novel extended-spectrum β-lactamase phenotype from OXA-1 expression in *Salmonella typhimurium* strains from Africa and Ireland // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2011, 70: 549-553 (к OXA-1)
- Cambray G., Guerout A.-M., Mazel D. Integrons // Annu. Rev. Genet. 2010, 44: 141–66.
- Cambray G., Sanchez-Alberola N., Campoy S. et al. Prevalence of SOS-mediated control of integron integrase expression as an adaptive trait of chromosomal and mobile integrons // Mobile DNA. 2011, 2: 6.
- Cameron F. H., Groot Obbink D. J., Ackerman V. P., Hall R. M. Nucleotide sequence of the AAD(2⁺) aminoglycoside adenyltransferase determinant *aadB*. Evolutionary relationship of this region with those surrounding *aadA* in R538-1 and *dhfrII* in R388 // Nucl. Acids Res. 1986, 14: 8625-8635.
- Clark C. A., Purins L., Kaewrakon P. et al. The *Vibrio cholerae* O1 chromosomal integron // Microbiology (UK). 2000, 146: 2605-2612.
- Coleman N. V., Holmes A. J. The native *Pseudomonas stutzeri* strain Q chromosomal integron can capture and express cassette-associated genes // Microbiology (UK). 2005, 151: 1853-1864.
- Collis C. M., Hall R.M. Site-specific deletion and rearrangement of integron insert genes catalyzed by the integron DNA integrase // J. Bacteriol. 1992, 174: 1574-1585.
- Collis C.M., Hall R.M. Gene cassettes from the insert region of integron are excised as covalently closed circles // Mol. Microbiol. 1992, 6: 2875–2885.
- Collis C.M., Hall R.M. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons // Antimicrob. Agents Chemother. 1995, 39: 155–162.
- Collis C.M., Grammaticopoulos G., Briton J. et al. Site-specific insertion of gene cassettes into integrons // Mol. Microbiol. 1993, 9: 41–52.
- Chung-Yung Chen, Keh-Ming Wu, Yo-Cheng Chang et al. Comparative genome analysis of *Vibrio vulnificus*, a marine pathogen // Genome Res. 2003, 13: 2577–2587.
- Dalsgaard A., Forslund A., Serichantalergs O., Sandvang D. Distribution and content of class 1 integrons in different *Vibrio cholerae* O-serotype strains isolated in Thailand // Antimicrob. Agents Chemother. 2000, 44: 1315-1321.
- Diaz-Mejia J.J., Amabile-Cuevas C.F., Rosas I., Souza V. An analysis of the evolutionary relationships of integron integrases, with emphasis on the prevalence of class 1 integrons in *Escherichia coli* isolates from clinical and environmental origins // Microbiology (UK). 2008, 154: 94-102.
- Drouin F., Melancon J., Roy P.H. The IntI-like tyrosine recombinase of *Shewanella oneidensis* is active as an integron integrase // J. Bacteriol. 2002, 184: 1811-1815.
- Erill I., Campoy S., Barbe J. Aeons of distress: an evolutionary perspective on the bacterial SOS response // FEMS Microbiol. Rev. 2007, 31: 637-656.
- Fluit A.C., Schmitz F.J. Resistance integrons and super-integrons // Clin. Microbiol. Infect. 2004, 10: 272-288.
- Fonseca E.L., Dos Santos Freitas F., Vieira V.V., Vicente A.C. New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1 // Emerg. Infect. Dis. 2008, 14: 1129-1131.
- Gaze W.H., Zhang L., Abdoulsalam N.A. et al. Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and integron-associated genes in the environment // ISME Journal. 2011, 5: 1253-1261.
- Girlich D., Poirel L., Leelaporn A. et al. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended spectrum beta-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand // J. Clin. Microbiol. 2001, 39: 175-182.
- Gillings M.R., Holley M.P., Stokes H.W., Holmes A.J. Integrons in *Xanthomonas*: a source of species genome diversity // PNAS. 2005, 102: 4419-4424.
- Gillings M., Boucher Y., Labbate M. et al. The evolution of class 1 integrons and the rise of antibiotic resistance // J. Bacteriol. 2008, 190: 5095-5100.
- Guerin E., Cambray G., Sanchez-Alberola N. et al. The SOS response controls integron recombination // Science. 2009, 324: 1034.
- Hall R.M. Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic resistance genes in gram-negative bacteria // Ciba Foundation Symp. 1997, 207: 192-202.
- Hall R.M., Stokes H.W. Integrons or super integrons? // Microbiology (UK). 2004, 150: 3-4.
- Hardwick S.A., Stokes H.W., Findlay S. et al. Quantification of class 1 integron abundance in natural environments using real-time quantitative PCR // FEMS Microbiol. Lett. 2008, 278: 207–212.
- Holmes A.J., Gillings M.R., Nield B.S. et al. The gene cassette metagenome is a basic resource for bacterial genome evolution // Environ. Microbiol. 2003, 5: 383–394.
- Holmes A.J., Holley M.P., Mahon A. et al. Recombination activity of distinct integron-gene cassette system associated with *Pseudomonas stutzeri* population in soil // J. Bacteriol. 2003, 185: 918–928.
- Jove T., Da Re S., Denis F. et al. Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons. // PLoS Gen. 2010, 6: e1000793.
- Kim T-E., Kwon H-J., Cho S-H. et al. Molecular differentiation of common promoters in *Salmonella* class 1 integrons // J. Microbiol. Methods. 2007, 68: 453-457.
- Kumar P., Thomas S. Presence of *dhfr6* Gene Cassette in superintegron of non-O1/non-O139 strain of *Vibrio cholerae* // Antimicrob. Agents Chemother. 2009, 53: 4959 - 4960.
- Labbate M., Boucher Y., Joss M.J. et al. Use of chromosomal integron arrays as a phylogenetic typing system for *Vibrio cholerae* pandemic strains // Microbiology (UK). 2007, 153: 1488-1498.
- Laraki N., Galleni M., Thamm I. et al. Structure of In31, a *bla*IMP-*Pseudomonas aeruginosa* integron phylogenetically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes // Antimicrob. Agents Chemother. 1999, 43: 890–901.
- Leon G., Roy P.H. Excision and integration of cassettes by an integron integrase of *Nitrosomonas europaea* // J. Bacteriol. 2003, 185:

2036-2041.

45. Leverstein-van Hall M.A., Blok H.E.M., A. Rogier T. Donders et al. Multidrug resistance among Enterobacteriaceae is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin // *J. Infect. Dis.* 2003, 187: 251-259.

46. Levesque C., Brassard S., Lapointe J., Roy P.H. Diversity and relative strength of tandem promoters for the antibiotic resistance genes of several integrons // *Gene*. 1994, 142: 49-54.

47. MacDonald D., Demarre G., Bouvier M. et al. Structural basis for broad DNA-specificity in integron recombination // *Nature*. 2006, 440: 1157-1162.

48. Martinez E., de la Cruz F. Genetic elements involved in Tn21 site-specific integration, a novel mechanism for the dissemination of antibiotic resistance genes // *EMBO Journal*. 1990, 9: 1275-1281.

49. Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution // *Nat. Rev. Microbiol.* 2006, 4: 608-620.

50. Mazel D., Davies J. Antibiotic resistance in microbes // *Cell Mol. Life Sci.* 1999, 56:742-754. Mazel D., Dychinco B., Webb V.A., Davies J. A distinctive class of integron in the *Vibrio cholerae* genome // *Science*. 1998, 280: 605.

52. Michael C.A., Gillings M.R., Holmes A.J. et al. Mobile gene cassettes: a fundamental resource for bacterial evolution // *Am. Nat.* 2004, 164: 1-12.

53. Naas T., Mikami Y., Imai T. et al. Characterization of In53, a class 1 plasmid- and composite transposon-located integron of *Escherichia coli* which carries an unusual array of gene cassettes // *J. Bacteriol.* 2001, 183: 235-249.

54. Nield B.S., Holmes A.J., Gillings M.R. et al. Recovery of new integron classes from environmental DNA // *FEMS Microbiol. Lett.* 2001, 195: 59-65.

55. Partridge S.R., Tsafnat G., Coiera E., Iredell J.R. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons // *FEMS Microbiol. Rev.* 2009, 33: 757-784.

56. Partridge S.R. Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* 2011, 35: 820-855. Petroni A., Melano R.G., Saka H.A. et al. CARB-9, a carbenicillinase encoded in the VCR region of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 belongs to a family of cassette-encoded beta-lactamases // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004, 48: 4042-4046.

58. Petrova M., Gorlenko Zh., Mindlin S. Molecular structure and translocation of a multiple antibiotic resistance region of a *Psychrobacter psychrophilus* permafrost strain // *FEMS Microbiol. Lett.* 2009, 296: 190-197.

59. Poirel L., Carrère A., Pitout J. D., Nordmann P. Integron mobilization unit as a source of mobility of antibiotic resistance genes // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009, 53:2492-2498.

60. Phongpaichit S., Wuttananupan K., Samasanti W. Class 1 integrons and multidrug resistance among *Escherichia coli* isolates from human stools // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2008, 39: 279-287.

61. Phongpaichit S., Tunyapanit W., Pruekprasert P. Antimicrobial resistance, class 1 integrons and extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* clinical isolates from patients in South Thailand // *J. Health Sci.* 2011, 57: 281-288.

62. Quhao Wei, Xiaofei Jiang, Min Li et al. Transcription of integron-harboured gene cassette impacts integration efficiency in class 1 integron // *Mol. Microbiol.* 2011, 80: 5.

63. Recchia G.D., Hall R.M. Gene cassettes: A new class of mobile elements // *Microbiology*. 1995, 141: 3015-3027.

64. Recchia G.D., Hall R.M. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons // *Trends Microbiol.* 1997, 5: 389-394. Riccio M. L., Franceschini N., Boschi L. et al. Characterization of the metallo-beta-lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of blaIMP allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000, 44: 1229-1235.

66. Rowe-Magnus D.A., Guerout A.-M., Mazel D. Super-integrons // *Res. Microbiol.* 1999, 150: 641-651.

67. Rowe-Magnus D.A., Guerout A.-M., Ploncard P. et al. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multi-resistant integrons // *PNAS*. 2001, 98: 652-657. Rowe-Magnus D.A., Guerout A.-M., Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes // *Mol. Microbiol.* 2002, 43: 1657-1669. Rowe-Magnus D.A., Davies J., Mazel D. Impact of integrons and transposons on the evolution of resistance and virulence // *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 2002, 264: 167-188.

70. Rowe-Magnus D.A., Guerout A.-M., Biskri L. et al. Comparative analysis of superintegrons: engineering extensive genetic diversity in the *Vibrionaceae* // *Genome Res.* 2003, 13: 428-442.

71. Rowe-Magnus, D. A. Integrase-directed recovery of functional genes

from genomic libraries // *Nucl. Acids Res.* 2009, 37: e118 (вообще о СИ).

72. Senda A., Arakawa Y., Ichiyama S. et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (blaIMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams // *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34: 2909-2913.

73. Severino P., Magalhaes V.D. Integrons as tools for epidemiological studies // *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, 10: 156-162.

74. Solomenniy A., Saralov A. Genetic stability and worldwide dissemination of integron insert encoding trimethoprim resistance // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2010, 41: 436-441.

75. Stokes H.W., Hall R.M. A novel family of potentially mobile elements encoding site-specific gene-integration functions: Integrons // *Mol. Microbiol.* 1989, 3: 1669-1683.

76. Tringe S.G., Zhang T., Liu X. et al. The airborne metagenome in an indoor urban environment // *PLoS One*. 2008, 3(4): e1862.

77. Vaisvila R., Morgan R.D., Posfai J., Raleigh E.A. Discovery and distribution of super-integrons among pseudomonads // *Mol. Microbiol.* 2001, 42: 587-601.

78. Villa L., Visca P., Tosini F. et al. Composite integron array generated by insertion of an ORF341-type integron within a Tn21-like element // *Microb. Drug Resist.* 2002, 8: 1-7.

79. Vinué L., Yáenz S., Somalo S. et al. Prevalence and diversity of integrons and associated resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates of healthy humans in Spain // *J. Antimicrob. Chemother.* 2008, 62: 934-937.

80. Walsh T. R., Toleman M.A., Hryniewicz W. et al. Evolution of an integron carrying blaVIM-2 in Eastern Europe: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program // *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 52: 116-119. White P.A., McIver C.J., Rawlinson W.D. Integrons and gene cassettes in the Enterobacteriaceae // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001, 45: 2658-2661.

82. Yun-Song Yu, Ting-Ting Qu, Jian-Ying Zhou et al. Integrons containing the VIM-2 metallo- β -lactamase gene among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from different Chinese hospitals // *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44: 4242-4245.

83. Zhenbo Xu, Lin Li, Lei Shi, Shirriff M.E. Class 1 integron in staphylococci // *Mol. Biol. Rep.* 2011, DOI 10.1007/s11033-011-0676-7.

Solomenniy A.P.

INTEGRONS: IMPORTANT STRUCTURES OF MICROBIAL DRUG RESISTANCE (REVIEW)

Abstract. This review presents recent data on the critical importance of bacterial integrons as acceptors and carriers of drug-resistant genes (gene cassettes). The features of the evolution of resistant integron and possible ways to prevent their spread are discussed.

Key words: integron, gene cassette, multidrug resistance, genotyping

Авторская справка

Соломенный Александр Петрович

Учреждение Российской академии наук Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН

Россия, 614081, Пермь, ул. Голева, 13

e-mail: solomen@iegm.ru

Author

Solomenniy Aleksandr P.

Institution of the Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, the Ural Branch

Russia, 614081, Perm, 13 Goleva street

e-mail: solomen@iegm.ru

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

В журнале «Вестник Уральской медицинской академической науки» публикуются статьи проблемного характера, научные обзоры, лекции, отражающие важнейшие достижения в основных разделах медицинской науки. Решением Президиума ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата медицинских наук.

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

1. Статьи, присылаемые в редакцию, должны сопровождаться официальным направлением от учреждения, в котором выполнена работа.
2. Статьи направляются в редакцию в печатном виде (1 экз.) с подписями всех авторов и в электронном виде, на электронном носителе или по e-mail: vestnik-ural@mail.ru.

3. Формат предоставления статьи:

- 3.1. Номер УДК по международной библиотечно-библиографической классификации.
- 3.2. Фамилия(и) автора(ов) статьи, инициалы на русском и английском языках (Фамилия И.О.).
- 3.3. Название статьи на русском и английском языках.
- 3.4. Полное юридическое название учреждения, из которого вышла работа, страна, город на русском и английском языках.
- 3.5. Резюме (основное содержание работы объемом не более 0,5 стр.) на русском и английском языках.
- 3.6. Ключевые слова на русском и английском языках не более 5, через запятую.
- 3.7. Текст статьи.

Текст статьи и таблицы набираются в редакторе Word, диаграммы в редакторе Excel, рисунки в виде растровых или графических файлов: растровые (фото) с высоким разрешением (желательно 300 dpi) *.tif, *.jpg; графические (чертежи, схемы) *.cdr, *.ai, *.eps, *.wmf и др. Статья должна быть напечатана на одной стороне листа, 12 кеглем, с полуторным интервалом между строчками, с обычными полями. Размер статьи не должен превышать 15 стр., включая таблицы, диаграммы, рисунки и фотографии, которые должны быть напечатаны на отдельных листах. При наличии в статье цитат в сноске обязательно указывается источник цитаты (наименование, издание, год, том, выпуск, страница). Количество графического материала должно быть минимальным, не более 5 рисунков (диаграмм, фотографий). Рисунки не должны содержать текстовых надписей и обозначений, которые могут быть помещены в подписях под рисунками. Сокращение слов, имен, названий (кроме общепринятых) допускается только с первоначальным указанием полного названия. Специальные термины следует приводить в тексте в русской транскрипции.

3.8. Пристатейный список литературы.

Пристатейные ссылки и/или списки литературы следует оформлять в соответствии с требованиями «ГОСТ 7.0.5-2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления».

3.9. В конце статьи обязательно указать контактное лицо для ведения оперативной редакционной переписки по статье – фамилия, имя, отчество, место работы, должность и контактная информация (мобильный телефон, e-mail).

3.10. К статье обязательно прилагается авторская справка на русском и английском языках.

Обязательные сведения авторской справки:

- а) фамилия, имя, отчество в следующем формате: Иванов Иван Иванович/Ivanov Ivan I.;
- б) полное название организации – места работы каждого автора в именительном падеже на русском и английском языках. Если все авторы статьи работают в одном учреждении – указать один раз;
- в) адрес электронной почты каждого автора (можно один для всех авторов);
- г) корреспондентский почтовый адрес (с указанием страны и почтового индекса) для переписки с авторами статьи (можно один на всех авторов) на русском и английском языках.

4. Издание размещает электронную версию журнала в Интернете на сайте elibrary.ru (Научная электронная библиотека). Аннотации статей, ключевые слова, информация об авторах находятся в свободном доступе. Полнотекстовые версии статей находятся в платном доступе для подписчиков.

5. Плата с аспирантов за публикацию не взимается.

6. Все поступившие рукописи подлежат обязательному рецензированию. Экспертные заключения по результатам рецензирования редакция предоставляет авторам и по запросам экспертных советов в ВАК. Редакция оставляет за собой право на литературное редактирование статьи.

7. Направление в редакцию работ, которые уже напечатаны в других изданиях или же посланы для напечатания в другие редакции, не допускается.

8. Статьи, оформленные не по правилам, не рассматриваются.

Адрес редакции: 620014, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 12а, оф. 917

Наш сайт: <http://vestnikural.ru>

e-mail: vestnik-ural@mail.ru

Электронная версия журнала размещена на сайте www.elibrary.ru

Тел./факс (343) 310 03 06 (Диана Яковлевна Воинова, Карина Валериевна Шелепова)

Оформить подписку на журнал можно в почтовых отделениях на всей территории РФ.

Подписной индекс журнала в Каталоге Агентства Роспечать «Издания органов НТИ» – 66014.

От редакции:

Благодарность к статье «Конструирование противораковой ДНК-вакцины, кодирующей поли-СТЛ-эпитопный иммуноген (авторы Пирожкова Д.С., Смирнова О.Ю., Бажан С.И., Чикаев Н.А., Волкова О.Ю., Карпенко Л.И.)», опубликованной в журнале «Вестник Уральской Медицинской Академической Науки, 2011, №3/1, стр. 88-89.

Опубликованные в данной статье результаты были получены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации работ, выполняемых по государственному контракту № 16.512.11.2186.