

ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ
«АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

№ 5 2012
Часть 1

Научный журнал

Электронная версия
www.fr.rae.ru
12 выпусков в год
Импакт фактор
РИНЦ (2011) – 0,144

Журнал включен
в Перечень ВАК ведущих
рецензируемых
научных журналов

Журнал основан в 2003 г.
ISSN 1812-7339

Учредитель – Академия
Естествознания
123557, Москва,
ул. Пресненский вал, 28
Свидетельство о регистрации
ПИ №77-15598
ISSN 1812-7339

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
д.м.н., профессор Ледванов М.Ю.

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА
д.м.н., профессор Курзанов А.Н.
д.м.н., профессор Максимов В.Ю.
к.м.н. Стукова Н.Ю.

АДРЕС РЕДАКЦИИ
440026, г. Пенза,
ул. Лермонтова, 3
Тел/Факс редакции 8 (8412)-56-17-69
e-mail: edition@rae.ru

Ответственный секретарь
к.м.н. Бизенкова М.Н.

Подписано в печать 04.05.2012

Формат 60х90 1/8
Типография
ИД «Академия Естествознания»
440000, г. Пенза,
ул. Лермонтова, 3

Технический редактор
Кулакова Г.А.
Корректор
Сватковская С.В.

Усл. печ. л. 29.
Тираж 1000 экз. Заказ ФИ 2012/05
Подписной индекс
33297

ИД «АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ» 2012

ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ
«АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Медицинские науки

д.м.н., профессор Бессмельцев С.С. (Санкт-Петербург)
д.м.н., профессор Гальцева Г.В. (Новороссийск)
д.м.н., профессор Гладилин Г.П. (Саратов)
д.м.н., профессор Горькова А.В. (Саратов)
д.м.н., профессор Каде А.Х. (Краснодар)
д.м.н., профессор Казиминова Н.Е. (Саратов)
д.м.н., профессор Ломов Ю.М. (Ростов-на-Дону)
д.м.н., профессор Лямина Н.П. (Саратов)
д.м.н., профессор Молдавская А.А. (Астрахань)
д.м.н., профессор Пятакович Ф.А. (Белгород)
д.м.н., профессор Редько А.Н. (Краснодар)
д.м.н., профессор Романцов М.Г. (Санкт-Петербург)
д.м.н., профессор Румш Л.Д. (Москва)
д.б.н., профессор Сентябрев Н.Н. (Волгоград)
д.фарм.н., профессор Степанова Э.Ф. (Пятигорск)
д.м.н., профессор Терентьев А.А. (Москва)
д.м.н., профессор Хадарцев А.А. (Тула)
д.м.н., профессор Чалык Ю.В. (Саратов)
д.м.н., профессор Шейх-Заде Ю.Р. (Краснодар)
д.м.н., профессор Щуковский В.В. (Саратов)
д.м.н., Ярославцев А.С. (Астрахань)

Педагогические науки

к.п.н. Арутюнян Т.Г. (Красноярск)
д.п.н., профессор Голубева Г.Н. (Набережные Челны)
д.п.н., профессор Завьялов А.И. (Красноярск)
д.филос.н., профессор Замогильный С.И. (Энгельс)
д.п.н., профессор Ильмушкин Г.М. (Дмитровград)
д.п.н., профессор Кирьякова А.В. (Оренбург)
д.п.н., профессор Кузнецов А.С. (Набережные Челны)
д.п.н., профессор Литвинова Т.Н. (Краснодар)
д.п.н., доцент Лукьянова М. И. (Ульяновск)
д.п.н., профессор Марков К.К. (Красноярск)
д.п.н., профессор Стефановская Т.А. (Иркутск)
д.п.н., профессор Тутолмин А.В. (Глазов)

Искусствоведение

д. искусствоведения Казанцева Л.П. (Астрахань)

Иностранные члены редакционной коллегии

Asgarov S. (Azerbaijan)
Alakbarov M. (Azerbaijan)
Babayev N. (Uzbekistan)
Chiladze G. (Georgia)
Datskovsky I. (Israel)
Garbuz I. (Moldova)
Gleizer S. (Germany)
Ershina A. (Kazakhstan)

Kobzev D. (Switzerland)
Ktshanyan M. (Armenia)
Lande D. (Ukraine)
Makats V. (Ukraine)
Miletic L. (Serbia)
Moskovkin V. (Ukraine)
Murzagaliyeva A. (Kazakhstan)
Novikov A. (Ukraine)

Технические науки

д.т.н., профессор Антонов А.В. (Обнинск)
д.т.н., профессор Арютов Б.А. (Нижний Новгород)
д.т.н., профессор Бичурин М.И. (Великий Новгород)
д.т.н., профессор Важенин А.Н. (Нижний Новгород)
д.т.н., профессор Гилёв А.В. (Красноярск)
д.т.н., профессор Гоц А.Н. (Владимир)
д.т.н., профессор Грызлов В.С. (Череповец)
д.т.н., профессор Захарченко В.Д. (Волгоград)
д.т.н., профессор Кирьянов Б.Ф. (Великий Новгород)
д.т.н., профессор Клевцов Г.В. (Оренбург)
д.т.н., профессор Корякина С.Я. (Орел)
д.т.н., профессор Косинцев В.И. (Томск)
д.т.н., профессор Литвинова Е.В. (Орел)
д.т.н., доцент Лубенцов В.Ф. (Ульяновск)
д.т.н., ст. науч. сотрудник Мишин В.М. (Пятигорск)
д.т.н., профессор Мухопад Ю.Ф. (Иркутск)
д.т.н., профессор Нестеров В.Л. (Екатеринбург)
д.т.н., профессор Пачурин Г.В. (Нижний Новгород)
д.т.н., профессор Пен Р.З. (Красноярск)
д.т.н., профессор Попов Ф.А. (Бийск)
д.т.н., профессор Пындак В.И. (Волгоград)
д.т.н., профессор Рассветалов Л.А. (Великий Новгород)
д.т.н., профессор Салихов М.Г. (Йошкар-Ола)
д.т.н., профессор Сечин А.И. (Томск)

Экономические науки

д.э.н., профессор Зарецкий А.Д. (Краснодар)
д.э.н., профессор Князева Е.Г. (Екатеринбург)
д.э.н., профессор Куликов Н.И. (Тамбов)
д.э.н., профессор Савин К.Н. (Тамбов)

Химические науки

д.х.н., профессор Полещук О.Х. (Томск)

Геолого-минералогические науки

д.г.-м.н., профессор Лебедев В.И. (Кызыл)

Филологические науки

д.филол.н., профессор Гаджихмедов Н.Э. (Дагестан)

THE PUBLISHING HOUSE «ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

THE FUNDAMENTAL RESEARCHES

№ 5 2012
Part 1
Scientific journal

The journal is based in 2003

The electronic version takes place on a site www.fr.rae.ru
12 issues a year

EDITOR

Ledvanov Mikhail

Senior Director and Publisher

Bizenkova Maria

THE PUBLISHING HOUSE
«ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

THE PUBLISHING HOUSE «ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

EDITORIAL BOARD

Medical sciences

Bessmeltsev S.S. (St. Petersburg)
Galtsev G.V. (Novorossiysk)
Gladilin G.P. (Saratov)
Gorkova A.V. (Saratov)
Cade A.H. (Krasnodar)
Kazimirova N.E. (Saratov)
Lomov Y.M. (Rostov-na-Donu)
Ljamina N.P. (Saratov)
Moldavskaia A.A. (Astrakhan)
Pjatakovich F.A. (Belgorod)
Redko A.N. (Krasnodar)
Romantsov M.G. (St. Petersburg)
Rumsh L.D. (Moscow)
Sentjabrev N.N. (Volgograd)
Stepanova E.F. (Pyatigorsk)
Terentev A.A. (Moscow)
Khadartsev A.A. (Tula)
Chalyk J.V. (Saratov)
Shejh-Zade J.R. (Krasnodar)
Shchukovsky V.V. (Saratov)
Yaroslavtsev A.S. (Astrakhan)

Technical sciences

Antonov A.V. (Obninsk)
Aryutov B.A. (Lower Novgorod)
Bichurin M.I. (Veliky Novgorod)
Vazhenin A.N. (Lower Novgorod)
Gilyov A.V. (Krasnoyarsk)
Gotz A.N. (Vladimir)
Gryzlov V.S. (Cherepovets)
Zakharchenko V.D. (Volgograd)
Kiryanov B.F. (Veliky Novgorod)
Klevtsov G.V. (Orenburg)
Koryachkina S.J. (Orel)
Kosintsev V.I. (Tomsk)
Litvinova E.V. (Orel)
Lubentsov V.F. (Ulyanovsk)
Mishin V.M. (Pyatigorsk)
Mukhopad J.F. (Irkutsk)
Nesterov V.L. (Ekaterinburg)
Pachurin G.V. (Lower Novgorod)
Pen R.Z. (Krasnoyarsk)
Popov F.A. (Biysk)
Pyndak V.I. (Volgograd)
Rassvetalov L.A. (Veliky Novgorod)
Salikhov M.G. (Yoshkar-Ola)
Sechin A.I. (Tomsk)

Pedagogical sciences

Arutyunyan T.G. (Krasnoyarsk)
Golubev G.N. (Naberezhnye Chelny)
Zavialov A.I. (Krasnoyarsk)
Zamogilnyj S.I. (Engels)
Ilmushkin G.M. (Dimitrovgrad)
Kirjakova A.V. (Orenburg)
Kuznetsov A.S. (Naberezhnye Chelny)
Litvinova T.N. (Krasnodar)
Lukyanov M.I. (Ulyanovsk)
Markov K.K. (Krasnoyarsk)
Stefanovskaya T.A. (Irkutsk)
Tutolmin A.V. (Glazov)

Economic sciences

Zaretskij A.D. (Krasnodar)
Knyazeva E.G. (Ekaterinburg)
Kulikov N.I. (Tambov)
Savin K.N. (Tambov)

Chemical sciences

Poleschuk O.H. (Tomsk)

Geologo-mineralogical sciences

Lebedev V.I. (Kyzyl)

Art criticism

Kazantseva L.P. (Astrakhan)

Philological sciences

Gadzhiahmedov A.E. (Dagestan)

Foreign members of an editorial board

Asgarov S. (Azerbaijan)	Kobzev D. (Switzerland)	Novikov A. (Ukraine)
Alakbarov M. (Azerbaijan)	Ktshanyan M. (Armenia)	Rahimov R. (Uzbekistan)
Babayev N. (Uzbekistan)	Lande D. (Ukraine)	Romanchuk A. (Ukraine)
Chiladze G. (Georgia)	Makats V. (Ukraine)	Shamshiev B. (Kyrgyzstan)
Datskovsky I. (Israel)	Miletic L. (Serbia)	Usheva M. (Bulgaria)
Garbuz I. (Moldova)	Moskovkin V. (Ukraine)	Vasileva M. (Bulgaria)
Gleizer S. (Germany)	Murzagaliyeva A. (Kazakhstan)	
Ershina A. (Kazakhstan)		

СОДЕРЖАНИЕ

Медицинские науки

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПСОРИАТИЧЕСКОЙ ОНИХОДИСТРОФИИ	
<i>Байтяков В.В., Филимонкова Н.Н.</i>	11
ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ	
<i>Деркач В.В., Матиенко Л.М.</i>	16
УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ КРОВОТОКА В ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЯХ ПРИ ПОВОРОТАХ ГОЛОВЫ	
<i>Дическул М.Л., Куликов В.П.</i>	22
СОСТОЯНИЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ В ДИНАМИКЕ ХИМИОТЕРАПИИ	
<i>Долгих Т.Ю., Желтова Л.И., Домникова Н.П., Сенчукова С.Р., Торнуев Ю.В.</i>	26
ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ ГИГАНТСКОЙ КИСТЫ ПОЧКИ	
<i>Имамвердиев С.Б., Нагиев Р.Н., Астанов Ю.М.</i>	31
ДЕБЮТ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В СТАРЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ	
<i>Калюта Т.Ю., Артанова Е.Л., Кац Я.А.</i>	36
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ЖЕНЩИН С НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ	
<i>Кокова Д.Х., Лучкевич В.С., Костючек Д.Ф.</i>	44
ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА AGT 174 (C > T) НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ И ХРОНИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ ИБС	
<i>Котловский М.Ю., Котловская О.С., Кириченко Д.С., Говорун В.М., Гитлина А.Г., Шестакова Л.А., Котловский Ю.В.</i>	48
ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У РАБОЧИХ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С РТУТЬЮ	
<i>Кудаева И.В., Бударина Л.А.</i>	52
СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА, АЛКОГОЛИЗИРОВАННОГО В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ	
<i>Курч Н.М., Высокогорский В.Е.</i>	58
СВЯЗЬ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И АНДРОГЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ У МУЖЧИН ЗАПАДНО-ЯКУТСКОГО ПРОМЫШЛЕННОГО РАЙОНА	
<i>Лутов Ю.В., Селятицкая В.Г., Кузьминова О.И., Новикова Е.Г.</i>	63
РОЛЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ДЕТРУЗОРА И ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РАЗВИТИИ ГИПЕРАКТИВНОГО МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ	
<i>Лушников Е.Л., Непомнящих Л.М., Неймарк А.И., Исаенко В.И., Молодых О.П., Колдышева Е.В., Жук А.Г., Лихачев А.Г.</i>	68
ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНДЕРНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА, ЗУБОВ И ПАРОДОНТА	
<i>Максюков С.Ю., Гаджиева Д.Н., Шахбазов О.И., Беликова Е.С.</i>	74
СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ СПЛЕНЭКТОМИИ	
<i>Масляков В.В., Громов М.С., Киричук В.Ф., Поляков А.В.</i>	80
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДВУСТОРОННЕЙ ГЕРНИОПЛАСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИЭСТЕРОВОГО ИМПЛАНТАТА	
<i>Михалева Л.М., Протасов А.В., Геворгян А.О., Табуйка А.В., Титаров Д.Л., Шемятовский К.А.</i>	86

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ПРИ КАРЦИНОМАХ ЖЕЛУДКА <i>Непомнящих Г.И., Мезенцева Г.А., Постникова О.А., Русинова С.Г.</i>	91
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ПРИ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАЛЛЕЛЯХ ПРОГНОЗА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Павлова Т.В., Комисов А.А., Бессмертный Д.В., Павлов И.А., Нестеров А.В., Белянский К.Д., Перишин Е.В.</i>	96
ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО ВЛИЯНИЯ АЭРОТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ <i>Петров С.Б., Петров Б.А.</i>	100
РОЛЬ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СИСТЕМЕ МЕСТНОГО ИММУНОФАГОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ПАРОДОНТА У ДЕТЕЙ <i>Рева Г.В., Русакова Е.Ю., Толмачёв В.Е., Первов Ю.Ю., Разумов П.В., Игнатенко К.А., Голенкова Н.А., Погорелый В.В., Игнатъев С.В., Денисенко Ю.В., Рева И.В.</i>	105
ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ МАССЫ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОСТЯХ СКЕЛЕТА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ <i>Свешников К.А., Свешников А.А.</i>	110
КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ КОЖИ ПРИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОПИСТОРХОЗОМ <i>Сенчукова С.Р., Романов Е.Б., Колдышева Е.В., Торнуев Ю.В.</i>	115
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И КОЛИЧЕСТВО ГЕПАТОЦИТОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЛАНИНАМИДА БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ <i>Толстикова Т.Г., Жукова Н.А., Семенов Д.Е., Бессергенева Е.П., Сорокина И.В., Баев Д.С., Глухов Б.М.</i>	120
ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Хафизов Н.Х., Идрисова Л.Т., Васильева Т.В., Еникеев Д.А.</i>	124
ОСОБЕННОСТИ АКТИВАЦИИ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО АППАРАТА И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА <i>Хидирова Л.Д., Маянская Н.Н.</i>	130
Биологические науки	
КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ Г. САРАТОВА ПО ДАННЫМ ХИМИЧЕСКОГО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ <i>Быкова М.А., Абросимова О.В., Тихомирова Е.И., Макарова А.А.</i>	133
ИНТЕРЬЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ КРОЛЬЧАТ РАЗНОГО ВОЗРАСТА <i>Ефремов А.П., Мартынов П.Н.</i>	138
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛЫНЕЙ В КУЛЬТУРЕ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМ. ПРОФ. Б.М. КОЗО-ПОЛЯНСКОГО ВОРОНЕЖСКОГО ГОСУНИВЕРСИТЕТА <i>Землянухина О.А., Калаев В.Н., Лепешкина Л.А., Карпеченко К.А., Вепринцев В.Н., Серикова В.И.</i>	143
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА СУММАРНОЙ ДНК ВЫСОКОГО КАЧЕСТВА ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА RHODODENDRON <i>Калаев В.Н., Землянухина О.А., Карпеченко И.Ю., Карпеченко К.А., Кондратьева А.М., Вепринцев В.Н., Карпеченко Н.А., Карпова С.С.</i>	148
МИКРОБИОЦЕНОЗЫ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ РАСТВОРОВ ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ УРАНОВОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ «КАРАМУРУН» <i>Канаева З.К., Канаев А.Т.</i>	153

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO ШАЛФЕЯ КЛЕЙКОГО (SALVIA GLUTINOSA L.) <i>Карпеченко К.А., Землянухина О.А., Вепринцев В.Н., Карпеченко Н.А., Карпеченко И.Ю., Кондратьева А.М., Калаев В.Н., Лепешкина Л.А., Серикова В.И.</i>	158
КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ СТУДЕНТОВ ФАКУЛЬТЕТА ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ <i>Кокурин А.В., Шанкин А.А., Малышев В.Г., Кошелева О.А.</i>	163
ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В КРАСНОМ КОСТНОМ МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА <i>Лазько А.Е., Овсянникова О.А., Карпеева Д.В.</i>	167
ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ХИНОЛИНОВОГО РЯДА НА ВСХОЖЕСТЬ И РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ РОДОДЕНДРОНА ЛЕДЕБУРА (RHODODENDRON LEDEBOURII ROJARK.) <i>Моисеева Е.В., Баранова Т.В., Калаев В.Н., Кузнецов Б.И., Щербаков Г.С., Воронин А.А., Потапов А.Ю., Шихалиев Х.С.</i>	172
ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ АКВАТОРИЙ И ПРИБРЕЖНЫХ ЭКОСИСТЕМ: ОРГАНИЗАЦИОННО-ТЕХНИЧЕСКИЕ И ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЕ РЕШЕНИЯ <i>Подольский А.Л., Бобырев С.В., Тихомирова Е.И., Беляченко А.А., Лобачёв Ю.Ю., Угланов Н.А., Михалёв С.Э.</i>	177
ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БИОУПРАВЛЕНИИ ПАРАМЕТРАМИ РИТМА СЕРДЦА У ПОДРОСТКОВ ПРИПОЛЯРНОГО РЕГИОНА <i>Поскотинова Л.В., Демин Д.Б., Кривоногова Е.В.</i>	180
ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ ВОЛЧЕЯГОДНИКА БОРОВОГО (DAPHNE SNEORUM L.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO <i>Семенова В.А., Карпеченко К.А., Калаев В.Н., Лепешкина Л.А., Муковнина З.П., Серикова В.И.</i>	185
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС ПРИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕОЛИТА <i>Сергеевич А.А., Григорьев Н.Р.</i>	189
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ НА ПОЗНАВАТЕЛЬНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ <i>Стасюк О.Н., Альфонсова Е.В.</i>	193
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИОКСИДОНΙΑ <i>Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Михайлова М.Н., Мухаммад Захид, Бессонова К.В.</i>	197
ВОЗРАСТНАЯ ИНВЕРСИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ИМПЕДАНСА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЯХ МЕТАБОЛИЗМА <i>Торнурев Ю.В., Колдышева Е.В., Балахнин С.М., Глухов Б.М., Жук А.Г., Исаенко В.И., Сенчукова С.Р.</i>	203
ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ ОСНОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ <i>Шамова О.В., Орлов Д.С., Пазина Т.Ю., Ямищикова Е.В., Орлов С.Б., Жаркова М.С., Гринчук Т.М., Арцыбашева И.В., Юхнев В.А., Кокряков В.Н.</i>	207

Медицинские науки

КЛИНИЧЕСКИЕ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА НА ФОНЕ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ <i>Булкина Н.В., Осипова Ю.Л.</i>	213
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ	217

CONTENTS

Medical sciences

THE CLINICAL, ANAMNESTICAL AND IMMUNOLOGICAL PECULIARITIES OF THE PSORIATIC ONYCHODYSTROPHY <i>Baytyakov V.V., Filimonkova N.N.</i>	11
THE EFFICIENCY OF THE BASIC THERAPY AND ITS INFLUENCE ON THE CYTOKINE STATUS OF THE CHILDREN ILL WITH ATOPIC DERMATITIS <i>Derkach V.V., Matyenko L.M.</i>	16
ULTRASOUND ESTIMATION OF BLOOD FLOW DYNAMICS IN VERTEBRAL ARTERIES ON HEAD ROTATION <i>Dicheskul M.L., Kulikov V.P.</i>	22
STUDY OF AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM OF THE HEART AT PATIENTS WITH NON-HODGKIN'S LYMPHOMA IN THE DYNAMICS OF CHEMOTHERAPY <i>Dolgikh T.Y., Zheltova L.I., Domnikova N.P., Senchukova S.R., Tormuev Y.V.</i>	26
LAPAROSCOPIC REMOVAL OF GIANT RENAL CYST <i>Imamverdiyev S.B., Naghiyev R.N., Astanov Y.M.</i>	31
DEBUT RHEUMATOID ARTHRITIS IN OLD AGE <i>Kalyuta T.Y., Artanova E.L., Kats Y.A.</i>	36
THE DYNAMICS OF THE QUALITY OF LIFE OF WOMEN WITH BENIGN AND NONINFLAMMATORY GYNECOLOGICAL DISEASES AFTER SPARING SURGERY <i>Kokova D.H., Luchkevich V.S., Kostyuchek D.F.</i>	44
INFLUENCE OF GENETIC POLYMORPHISM AGT 174 (C > T) OF THE ANGIOTENSINOGEN GENE ON FUNCTION OF SYSTEM OF AN ORGANISM IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AND CHRONIC FORM OF ISCHEMIC HEART DISEASE <i>Kotlovskiy M.U., Kotlovskaya O.S., Kirichenko D.S., Govorun V.M., Gitlina A.G., Shestakova L.A., Kotlovskiy U.V.</i>	48
DYNAMIC STADY OF LIPID METABOLISM IN EMPLOYEES EXPOSED TO MERCURY <i>Kudayeva I.V., Budarina L.A.</i>	52
PANCREAS GLUTATHIONE SYSTEM OF POSTERITY ALCOHOLIZED IN PRENATAL PERIOD <i>Kurch N.M., Vysokogorskiy V.E.</i>	58
THE RELATIONSHIP OF ERECTILE DYSFUNCTION WITH METABOLIC SYNDROME AND ANDROGEN DEFICIENCY IN MEN OF THE WEST YAKUT INDUSTRIAL REGION <i>Lutov Y.V., Selyatitskaya V.G., Kuzminova O.I., Novikova E.G.</i>	63
ROLE OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL REORGANIZATIONS OF DETRUSOR AND PROSTATIC SMOOTH MUSCLE CELLS IN DEVELOPMENT OF OVERACTIVE BLADDER <i>Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Neimark A.I., Isaenko V.I., Molodykh O.P., Koldysheva E.V., Zhuk A.G., Likhachev A.G.</i>	68
AGE AND GENDER SENSITIVE MINERAL DENSITY CHANGES IN THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM, TEETH AND PERIODONTAL DISEASES <i>Maksyukov S.Y., Gadjiyeva D.N., Shahbazov O.I., Belikova E.S.</i>	74
WAY OF CORRECTION OF IMMUNOLOGICAL COMPLICATIONS AFTER SPLEEN REMOVAL <i>Maslyakov V.V., Gromov M.S., Kirichuk V.F., Polykov A.B.</i>	80
THE MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THE REPRODUCTIVE ORGANS AFTER THE OPERATION OF THE BILATERAL HERNIOPLASTY WITH THE POLYESTER IMPLANT <i>Mikhaleva L.M., Protasov A.V., Gevorgyan, A.O., Tabuyka A.V., Titarov D.L., Shemyatovsky K.A.</i>	86

STRUCTURAL CHANGES OF EPITHELIOCYTES IN GASTRIC CARCINOMAS <i>Nepomnyashchikh G.I., Mezentseva G.A., Postnikova O.A., Rusinova S.G.</i>	91
DIFFERENTIAL CRITERIA FOR CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARALLELS OF PROSTATE CANCER PREDICTION <i>Pavlova T.V., Komisov A.A., Bessmertny D.V., Pavlov I.A., Nesterov A.V., Belyanskiy K.D., Pershin E.V.</i>	96
ESTIMATION OF COMPLEX INFLUENCE OF AEROTECHNOGENIC POLLUTANTS OF THE CITY ENVIRONMENT ON THE POPULATION MORBIDITY <i>Petrov S.B., Petrov B.A.</i>	100
THE ROLE OF MAST CELLS IN THE SYSTEM OF THE LOCAL IMMUNE AND PHAGOCYTIC PART OF CHILDREN'S PERIODONTIUM <i>Reva G.V., Rusakova E.Y., Tolmachev V.E., Pervov Y.Y., Razumov P.V., Ignatenko K.A., Golenkova N.A., Pogoreliy V.V., Ignatiev S.V., Denichenko J.V., Reva I.V.</i>	105
GENDER DIFFERENCES OF MASS MINERALS IN BONES IN AGE ASPECT <i>Sveshnikov K.A., Sveshnikov A.A.</i>	110
CLINICAL PECULIARITIES AND SCINS PATHOMORPHOLOGY IN ALLERGODERMATOSIS, ASSOCIATED WITH OPISTHORCHIASIS <i>Senchukova S.R., Romanov E.B., Koldysheva E.V., Tornuev Y.V.</i>	115
BIOCHEMICAL BLOOD INDICES AND THE NUMBER OF HEPATOCYTES IN RAT LIVER UNDER TOXIC HEPATITIS AND ACTION OF BETULONIC ACID ALANINAMID <i>Tolstikova T.G., Zhukova N.A., Semenov D.E., Bessergeneva E.P., Sorokina I.V., Baev D.S., Glukhov B.M.</i>	120
BRAIN BIOELECTRIC ACTIVITY BY SEVERE ALCOHOL INTOXICATION <i>Haphyzov N.H., Idrisova L.T., Vasileva T.V., Enikeev D.A.</i>	124
PECULIARITIES OF ACTIVATION LYSOSOMAL APPARATUS AND THE EXCHANGE OF TRACE ELEMENTS IN THE EXPERIMENTAL DAMAGED MYOCARDIUM <i>Hiidirova L.D., Mayanskaya N.N.</i>	130
Biological sciences	
INTEGRATED ASSESSMENT OF THE STATE OF THE ENVIRONMENT IN THE CITY OF SARATOV BASED ON CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION <i>Bykova M.A., Abrosimova O.V., Tikhomirova E.I., Makarova A.A.</i>	133
INTERIOR OF DIFFERENT AGE DIFFERENCES RABBITS <i>Efremov A.P., Martynov P.N.</i>	138
PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME SPECIES OF ARTEMISIA IN THE CULTURE OF BOTANICAL GARDEN OF VORONEZH STATE UNIVERSITY <i>Zemlyanuhina O.A., Kalaev V.N., Lepeshkina L.A., Karpechenko K.A., Veprintsev V.N., Serikova V.I.</i>	143
DEVELOPMENT OF METHOD FOR OBTAINING OF TOTAL HIGH QUALITY DNA-PREPARATIONS FROM PLANTS OF RHODODENDRON <i>Kalaev V.N., Zemlyanukhina O.A., Karpechenko I.Y., Karpechenko K.A., Kondratieva A.M., Veprintsev V.N., Karpechenko N.A., Karpova S.S.</i>	148
MICROBIOCENOSIS OF CHEMOLITHOTROPHIC MICROBIAL BACTERIA OF IN SITU LEACHING SOLUTIONS OF «KARAMURAN» URANIUM DEPOSITS <i>Kanayeva Z.K., Kanayev A.T.</i>	153

IN VITRO INTRODUCTION OF SALVIA GLUTINOSA L.

Karpechenko K.A., Zemlianukhina O.A., Veprintsev V.N., Karpechenko N.A., Karpechenko I.Y., Kondratieva A.M., Kalaev V.N., Lepeshkina L.A., Serikova V.I. 158

CONSTITUTIONAL FEATURES OF PHYSICAL FITNESS OF STUDENTS FACULTY OF PHYSICAL CULTURE

Kokurin A.V., Shankin A.A., Malyshev V.G., Kosheleva O.A. 163

GEMOMICROCIRCULATION IN RED BONE MARROW UNDER THE EFFECT OF SULFUR-CONTAINING GAS

Lazko A.E., Ovsyannikova O.A., Karpeeva D.V. 167

IMPACT OF NEW COMPOUNDS SYNTHESIZED SERIES ON THE GERMINATION AND GROWTH PROCESSES OF RHODODENDRON LEDEBOUR (RHODODENDRON LEDEBOURII POJARK.)

Moiseeva E.V., Baranova T.V., Kalaev V.N., Kuznetsov B.I., Scherbakov G.S., Voronin A.A., Potapov A.Y., Shihaliyev H.S. 172

INTEGRATED ENVIRONMENTAL MONITORING OF WATER BODIES AND SHORE ECOSYSTEMS: ORGANISATIONAL DESIGN, SOFTWARE AND HARDWARE

Podolsky A.L., Bobyrev S.V., Tikhomirova E.I., Belyachenko A.A., Lobachev Y.Y., Uglanov N.A., Mikhalev S.E. 177

AGE FEATURES OF A BRAIN BIOELECTRIC ACTIVITY DURING HRV BIOFEEDBACK SESSION IN ADOLESCENTS OF SUBPOLAR REGION

Poskotinova L.V., Demin D.B., Krivinogova E.V. 180

THE PECULIARITIES OF REPRODUCTION OF DAPHNE CNEORUM L. IN VITRO

Semenova V.A., Karpechenko K.A., Kalaev V.N., Lepeshkina L.A., Mukovnina Z.P., Serikova V.I. 185

DYNAMICS OF INDICATORS OF DEFENSIVE BEHAVIOUR AT RATS AT THE PSYCHOEMOTIONAL STRESS AGAINST ZEOLITE APPLICATION

Sergieievich A.A., Grigorev N.R. 189

INFLUENCE RHODIOLAE ON THE COGNITION AT THE EXPERIMENT

Stasjuk O.N., Alfonsova E.V. 193

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THYMUS AFTER USE POLIOXIDONIUM

Struchko G.Y., Merkulova L.M., Moskvichev E.V., Kostrova O.Y., Mikhaylova M.N., Muhammad Zahid, Bessonova K.V. 197

INVERSION OF INDICATORS OF THE ELECTRIC IMPEDANCE ADRENAL GLANDS OF RATS WITH GENETICALLY DETERMINED METABOLISM DISORDERS

Tornuyev Y.V., Koldysheva E.V., Balakhnin S.M., Glukhov B.M., Zhuk A.G., Isaenko V.I., Senchukova S.R. 203

STUDY OF MOLECULAR MECHANISMS OF THE CYTOTOXIC ACTION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES TOWARDS TUMOR CELLS

Shamova O.V., Orlov D.S., Pazina T.Y., Yamschikova E.V., Orlov S.B., Zharkova M.S., Grinchuk T.M., Artzibasheva I.V., Yuhnev V.A., Kokryakov V.N. 207

Medical sciences

CLINICAL AND IMMUNOMORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE COURSE OF CHRONIC PERIODONTITIS ON THE BACKGROUND OF GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE

Bulkina N.V., Osipova J.L. 213

RULES FOR AUTHORS 217

УДК 616.517

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПСОРИАТИЧЕСКОЙ ОНИХОДИСТРОФИИ

¹Байтяков В.В., ²Филимонкова Н.Н.

¹ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,
Саранск, e-mail: inst-med@adm.mrsu.ru;

²ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии
и иммунопатологии» Минздрава России, Екатеринбург, e-mail: urniidvi@etel.ru

С целью изучения клинических, анамнестических и иммунологических особенностей псориатической ониходистрофии обследовано 253 пациента с прогрессирующей стадией распространенного вульгарного псориаза в возрасте от 18 до 72 лет. Изучалась клиническая картина, дерматологический индекс качества жизни, данные анамнеза, некоторые показатели клеточного и гуморального иммунитета, состояние фагоцитарного звена защиты. Псориатическая ониходистрофия была выявлена у 44,7% пациентов с распространенным псориазом. Наиболее часто отмечались точечная ониходистрофия (65,5%), симптом «масляного пятна» (49,6%), онихогрифоз (10,6%) и онихолизис (6,2%). Частота поражения ногтей повышалась с увеличением возраста пациента, длительности заболевания, тяжести кожного процесса и не зависела от возраста дебюта заболевания и типа псориаза. У больных псориазом отмечалось повышение содержания иммуноглобулинов М и А, циркулирующих иммунных комплексов, дисбаланс Т-клеточного иммунитета, увеличение активности нейтрофильного звена защиты. У пациентов с псориатической ониходистрофией отмечался более высокий уровень лейкоцитов, иммуноглобулина А, циркулирующих иммунных комплексов и более низкий уровень CD8+-лимфоцитов, чем у больных без поражения ногтей.

Ключевые слова: псориаз, ногти, псориатическая ониходистрофия, клеточный иммунитет, фагоцитарный процесс, иммунные комплексы, иммуноглобулины

THE CLINICAL, ANAMNESTICAL AND IMMUNOLOGICAL PECULIARITIES OF THE PSORIATIC ONYCHODYSTROPHY

¹Baytyakov V.V., ²Filimonkova N.N.

¹Mordovia N.P. Ogarev State University, Saransk, e-mail: inst-med@adm.mrsu.ru;

²Ural Research Institute of Dermatovenereology and Immunopathology,
Ekaterinburg, e-mail: urniidvi@etel.ru

In order to study the clinical, anamnestic and immunological peculiarities of the psoriatic onychodystrophy 253 patients with the progressive stage of extensive psoriasis from the age of 18 to 72 have been investigated. The clinical picture, dermatological index of life quality, anamnesis, some indices of cellular and humoral immunity, phagocytic immunity component rate have been studied. The psoriatic onychodystrophy has been revealed in 44,7% patients with the extensive psoriasis. The nail pitting (65,5%), «oil spots» (49,6%), onychogryphosis (10,6%) and onycholysis (6,2%) has been marked more often. The frequency of nail damage has been increased with the age of the patients, the duration of the disease and the severity of skin process but it has not depended on the time of disease onset and the type of psoriasis. The increase in the levels of immunoglobulins M and A, circulating immune complexes, disbalance of T-cellular immunity as well as the increase in the activity of neutrophil protection component have been marked. In patients with psoriatic onychodystrophy higher level of leucocytes, immunoglobulin A, circulating immune complexes and lower level of CD8+-lymphocytes have been revealed than in patients without nail psoriasis.

Keywords: psoriasis, nails, psoriatic onychodystrophy, cellular immunity, phagocytic processes, immune complexes, immunoglobulins

В настоящее время псориаз рассматривается как системное заболевание – «псориатическая болезнь», при котором, наряду с поражением кожи, отмечаются нарушения микроциркуляции, обмена веществ, системная дезорганизация соединительной ткани, поражение суставов, внутренних органов, лимфатических узлов [3, 5, 7].

Из придатков кожи псориаз наиболее часто поражает ногтевые пластины. Частота псориатической ониходистрофии, по данным различных авторов [4, 5, 9], варьируется от 30 до 87,7%. Псориатическая ониходистрофия может возникать до появления псориатических высыпаний, обычно как симметричный процесс с поражением не-

скольких ногтевых пластинок, и являться единственным симптомом псориаза [4].

Характер изменений ногтевых пластинок и их выраженность при псориазе зависят от степени вовлечения в патологический процесс матрицы, ногтевого ложа и околоногтевых тканей [4]. Наиболее часто авторы отмечают развитие при псориазе точечной ониходистрофии, подногтевого гиперкератоза, симптома «масляного пятна» Готтрона, онихолизиса, продольную и поперечную исчерченность, деформацию ногтевых пластин [3, 5, 9].

По современным представлениям, в многофакторном патогенезе псориаза ключевое значение отводится нарушению

иммунных процессов [1, 2, 3, 4]. Накоплен обширный материал, подтверждающий многообразие иммунологических феноменов при псориазе, выявлена взаимосвязь изменений иммунокомпетентных клеток периферической крови с состоянием клеток кожи [2, 3]. В литературе недостаточно сведений об особенностях иммунологических нарушений у пациентов с псориазическим поражением ногтевых пластин.

Цель исследования — исследование клинических вариантов псориазического поражения ногтевых пластинок, анамнестических и иммунологических особенностей пациентов с псориазической онихоидиофией.

Материал и методы исследования

Проведено открытое проспективное исследование, протокол которого был одобрен локальным этическим комитетом. Обследовано 253 пациента с распространенным вульгарным псориазом в возрасте от 18 до 72 лет (средний возраст — $37,2 \pm 0,79$ лет). Среди обследованных мужчин было 202 (79,8%), женщин — 51 (20,2%). Все пациенты находились на стационарном лечении в Мордовском республиканском кожно-венерологическом диспансере (г. Саранск) в период с 2007 по 2010 г.

Критерии включения больного в исследование: прогрессирующая стадия распространенного вульгарного псориаза; добровольное письменное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения больного из исследования: предшествующая терапия цитостатиками, ароматическими ретиноидами, системными кортикостероидами; наличие декомпенсированной соматической патологии; опухолевые заболевания; перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания.

Возраст дебюта заболевания у обследованных больных варьировался от 5 до 71,5 лет, составив в среднем $26,6 \pm 0,69$ лет. Длительность заболевания у обследованных больных варьировалась от 2 месяцев до 47 лет, составив в среднем $10,6 \pm 0,60$ лет. I тип псориаза, характеризующийся ранним началом заболевания, отягощенного наследственностью [8], отмечался у 85 пациентов (33,6%). II тип заболевания с более поздним началом болезни, отсутствием семейного анамнеза выявлен у 168 больных (66,4%).

Коморбидная патология отмечалась у 167 больных (66,0%). Преобладали хронические заболевания сердечно-сосудистой системы, органов желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, микозы стоп и другие инфекции кожи, болезни печени и желчевыводящих путей, патология дыхательной системы, дегенеративно-дистрофические заболевания опорно-двигательного аппарата.

У всех пациентов проводился осмотр кожных покровов с определением индекса охвата и тяжести псориаза PASI (Psoriasis Area and Severity Index) [4]. Для оценки негативного влияния заболевания на качество жизни больного определялся дерматологический индекс качества жизни (ДИКЖ) [6], русифицированный проф. Н.Г. Кочергиным (2001). ДИКЖ состоит из 10 вопросов, характеризующих разные аспекты жизни больного: профессиональные, бытовые, сексуальные, социальные.

Проводился клинический осмотр ногтевых пластин кистей и стоп. У всех пациентов с поражением ногтей проведено микроскопическое и культуральное исследование на грибы.

В образцах периферической крови, взятой асептически из локтевой вены утром до еды, определяли общее количество лейкоцитов (подсчёт в камере Горяева); относительное число лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов (в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе); субпопуляции лимфоцитов, несущих антигены CD3, CD4, CD8, CD20 (метод проточной цитофлуориметрии с помощью аппарата «BD FACSCalibur» и тест-систем «BD Multitest» («Becton Dickinson», США)); активность фагоцитоза (по поглотительной способности нейтрофилов в отношении частиц меламинаформальдегидного латекса); НСТ-тест (тест восстановления нитросинего тетразолия); содержание иммуноглобулинов классов M, G, A (метод радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини); содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) крупного, среднего и мелкого размера (метод преципитации с разной концентрацией раствора полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 Д). Иммунорегуляторный индекс рассчитывали по соотношению CD4/CD8.

Контрольную группу составили 26 здоровых лиц (средний возраст — $42,9 \pm 2,30$ лет), не имевших на момент обследования клинических признаков иммунопатологии.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы «Microsoft Excel». Применяли методы описательной статистики с вычислением средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (m). Степень достоверности различия показателей определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Корреляционный анализ проводили с помощью критерия Спирмена (r). Оценку достоверности различия сравниваемых групп проводили с помощью критерия соответствия χ^2 . Достоверно значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Индекс тяжести и распространенности псориаза PASI у исследованных больных варьировался от 7,0 до 40,0 баллов (среднее значение индекса составило $15,0 \pm 0,45$ баллов). Прямая умеренная корреляция ($r = 0,45$; $p < 0,01$) отмечена между величиной индекса PASI и возрастом пациентов. Выявлена также прямая корреляция средней силы ($r = 0,50$; $p < 0,01$) между индексом PASI и давностью заболевания, то есть с увеличением возраста пациентов и длительности заболевания отмечается увеличение распространенности и тяжести кожного процесса.

Уровень дерматологического индекса качества жизни у обследованных больных варьировался от 11,0 до 29,0 баллов, составив в среднем $20,1 \pm 0,29$ баллов. У 122 пациентов (48,2%) отмечалось умеренное нарушение качества жизни (величина ДИКЖ до 20 баллов). У 131 больного (51,8%) выявлено выраженное снижение

уровня качества жизни (ДИКЖ 20 и более баллов). Сильную прямую корреляцию между величинами ДИКЖ и PASI ($r = 0,90$; $p < 0,001$) можно объяснить естественной зависимостью степени нарушения качества жизни от распространенности кожного процесса, выраженности субъективных ощущений.

Сопутствующее псориазическое поражение ногтевых пластинок отмечалось у 113 больных (44,7% от всех обследованных). У пациентов с сопутствующей ониходистрофией средний возраст, длительность заболевания, величина PASI (табл. 1) были выше ($p < 0,001$), чем у больных без поражения ногтей.

Таблица 1

Сравнительная характеристика клинико-анамнестических показателей больных вульгарным псориазом с ониходистрофией и отсутствием ониходистрофии ($M \pm m$)

Показатель	Псориаз без поражения ногтевых пластинок ($n = 140$)	Псориаз с сопутствующей ониходистрофией ($n = 113$)
Возраст, лет	$34,5 \pm 1,07$	$40,5 \pm 1,11^*$
Возраст дебюта заболевания, лет	$26,9 \pm 0,96$	$26,3 \pm 1,00$
Длительность болезни, лет	$7,64 \pm 0,68$	$14,3 \pm 0,94^*$
PASI, баллов	$12,9 \pm 0,43$	$17,6 \pm 0,78^*$
ДИКЖ, баллов	$19,0 \pm 0,34$	$21,5 \pm 0,46^*$
I тип псориаза, абс. (%)	47 (33,57%)	38 (33,63%)
II тип псориаза, абс. (%)	93 (66,43%)	75 (66,37%)

Примечание. * – достоверность различия показателей у больных псориазом с ониходистрофией и без поражения ногтевых пластинок ($p < 0,001$).

Более высокий уровень ДИКЖ у больных с ониходистрофией, вероятно, обусловлен как большей тяжестью кожного процесса, так и дополнительным негативным влиянием поражения ногтей на качество жизни больных.

Средний возраст дебюта заболевания у пациентов с сопутствующей ониходистрофией и без поражения ногтевых пластинок отличался незначительно ($p > 0,05$). Соотношение пациентов с I и II типом псориаза среди больных с сопутствующей ониходистрофией и без поражения ногтей практически не различалось ($\chi^2 < 0,01$; $p > 0,05$). Таким образом, нами не выявлена, отмеченная в литературе [4] ассоциация псориазической ониходистрофии со II типом псориаза, для которого характерны более позднее начало заболевания, слабая связь с антигенами системы HLA, отсутствие семейного риска развития заболевания [8].

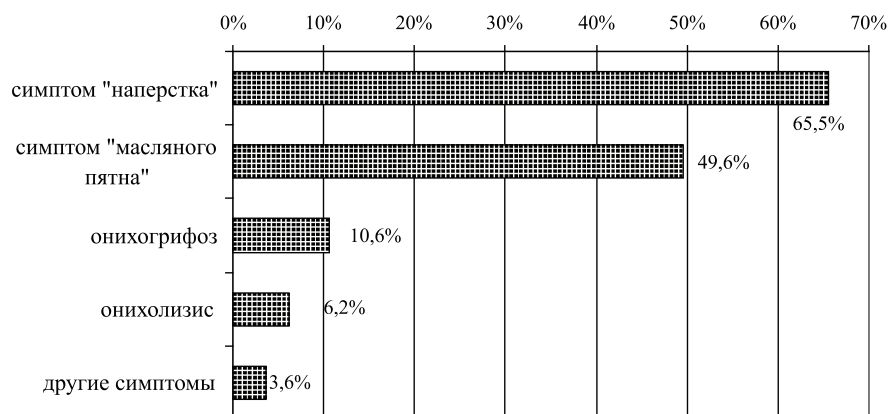
Поражение ногтевых пластинок только на кистях было выявлено у 37 пациентов (32,7% случаев ониходистрофии), только на стопах – у 1 больного (0,9%), на кистях и стопах одновременно – у 70 пациентов (61,9%).

В структуре поражения ногтей (рисунок) преобладали псориазические онихии с точечными углублениями на ногтевых пластинках – симптом «наперстка» (65,5%); псориазические папулы розового или желтоватого цвета, расположенные на ногтевом ложе и просвечивающие сквозь ногтевую пластинку – симптом «масляного пятна» (49,6%); онихогрифоз со значитель-

ным утолщением и деформацией ногтевых пластинок (10,6%); онихолизис с отслоением дистальной части ногтевой пластины от ногтевого ложа (6,2%). Другие разновидности ониходистрофии (онихорексис, койлонихия, выраженная поперечная исчерченность) отмечались в единичных случаях. У большинства пациентов (95,6%) отмечалось сочетание клинических разновидностей псориазической ониходистрофии.

Сопутствующее микотическое поражение ногтевых пластинок стоп было выявлено у 13 больных (11,5% случаев ониходистрофии). У всех пациентов при посеве была получена культура *Trichophyton rubrum*. Мицелий гриба при микроскопии был обнаружен у 10 больных (0,9% случаев ониходистрофии).

При исследовании показателей иммунной защиты у больных псориазом выявлен выраженный дисбаланс специфического клеточного иммунитета (табл. 2). Прежде всего, отмечалось повышение уровня лимфоцитов за счет увеличения числа Т-лимфоцитов. Уровень CD4⁺-лимфоцитов, обладающих хелперной активностью, у пациентов с обострением псориаза был повышен. Удельный вес супрессорно-цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов, напротив, был меньше, чем у здоровых лиц ($p < 0,001$). Возможной причиной снижения в крови больных псориазом CD8⁺-лимфоцитов является их мобилизация в очаге воспаления. Иммунорегуляторный индекс у больных псориазом был в 2,4 раза выше, чем в контроле.



Характер сопутствующего поражения ногтевых пластин у больных вульгарным псориазом

Таблица 2
Некоторые показатели иммунной защиты у больных псориазом ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n = 26)	Все больные псориазом (n = 253)	Псориаз без пора- жения ногтевых пластин (n = 140)	Псориаз с сопут- ствующей ониходи- строфией (n = 113)
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	$6,22 \pm 0,18$	$6,05 \pm 0,18$	$5,76 \pm 0,19$	$6,39 \pm 0,25^{\#}$
Нейтрофилы, %	$62,5 \pm 1,17$	$52,9 \pm 0,95^*$	$53,4 \pm 1,43$	$52,3 \pm 1,20$
Активность фагоцитоза, %	$68,0 \pm 1,43$	$77,7 \pm 0,94^*$	$76,4 \pm 1,31$	$79,3 \pm 1,32$
НСТ-тест, %	$13,8 \pm 0,43$	$58,2 \pm 1,67^*$	$59,7 \pm 2,11$	$56,3 \pm 2,67$
Лимфоциты, %	$28,3 \pm 1,28$	$40,6 \pm 0,92^*$	$40,8 \pm 1,32$	$40,3 \pm 1,27$
CD3, %	$59,0 \pm 1,35$	$74,6 \pm 1,16^*$	$74,0 \pm 1,53$	$75,5 \pm 1,79$
CD4, %	$46,5 \pm 1,58$	$56,4 \pm 1,07^*$	$56,4 \pm 1,57$	$56,3 \pm 1,40$
CD8, %	$14,9 \pm 0,68$	$10,5 \pm 0,56^*$	$11,4 \pm 0,81$	$9,18 \pm 0,70^{\#}$
CD4/CD8	$3,24 \pm 0,17$	$7,69 \pm 0,51^*$	$7,20 \pm 0,75$	$8,32 \pm 0,67$
CD20, %	$10,3 \pm 0,50$	$9,72 \pm 0,46$	$10,3 \pm 0,59$	$9,02 \pm 0,72$
Ig M, г/л	$0,88 \pm 0,04$	$1,41 \pm 0,07^*$	$1,44 \pm 0,09$	$1,37 \pm 0,11$
Ig G, г/л	$11,1 \pm 0,42$	$11,6 \pm 0,32$	$12,1 \pm 0,44$	$11,0 \pm 0,46$
Ig A, г/л	$1,79 \pm 0,06$	$3,05 \pm 0,16^*$	$2,71 \pm 0,18$	$3,47 \pm 0,27^{\#}$
ЦИК крупные, усл. ед.	$1,15 \pm 0,42$	$4,38 \pm 0,43^*$	$4,19 \pm 0,58$	$4,61 \pm 0,65$
ЦИК средние, усл. ед.	$5,58 \pm 0,64$	$16,1 \pm 0,95^*$	$14,4 \pm 1,22$	$18,1 \pm 1,44^{\#}$
ЦИК мелкие, усл. ед.	$50,4 \pm 2,46$	$115,5 \pm 2,11^*$	$112,8 \pm 2,86$	$118,8 \pm 3,08$

Примечание. * — достоверность различия показателей у больных псориазом и здоровых лиц (p во всех случаях $< 0,001$); $^{\#}$ — достоверность различия показателей у больных псориазом с онихоидистрофией и без поражения ногтевых пластин (p во всех случаях $< 0,05$).

Также значительные изменения наблюдались в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. У больных с обострением распространенного вульгарного псориаза относительное количество нейтрофилов было меньше, чем у здоровых лиц ($p < 0,001$). Вместе с тем у них выше была поглотительная активность нейтрофильных гранулоцитов. Увеличение показателя НСТ-теста указывает на повышение киллинговой функции нейтрофилов, в частности — кислородзависимой цитотоксичности, связанной с образованием активных форм кислорода. Дисбаланс в системе нейтрофильных фагоцитов, возможно, является одной из причин прогрессирования заболевания и развития коморбидных состояний.

Существенные изменения выявлены у больных псориазом и в гуморальном звене иммунитета. У них отмечалось повышение уровня иммуноглобулинов М и А ($p < 0,001$). При этом количество Ig G в крови существенно не отличалось от аналогичной величины у здоровых лиц. Количество крупно-, средне- и, особенно, мелкодисперсных ЦИК было существенно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$).

Гиперактивный гуморальный иммунный ответ с высоким уровнем ЦИК, гипериммуноглобулинемией М и А свидетельствует о развитии при псориазе патологического «иммунокомплексного синдрома», способствующего системному характеру заболевания.

При исследовании зависимости иммунологических показателей от наличия сопутствующего поражения ногтевых пластин (см. табл. 2) выявлено, что у пациентов с сопутствующей ониходистрофией общий уровень лейкоцитов, содержание Ig A и ЦИК среднего диаметра были достоверно выше, чем у больных без поражения ногтевых пластин (p во всех случаях $< 0,05$). Напротив, у больных с сопутствующим поражением ногтевых пластин более низким, чем у пациентов без ониходистрофии, было содержание CD8⁺-лимфоцитов ($p < 0,05$).

Выявленные иммунологические особенности можно объяснить более тяжелым течением псориатической болезни у больных с сопутствующей ониходистрофией. Вместе с тем, учитывая ведущую роль иммунных факторов в патогенезе псориаза, нельзя исключить наличие иммунологической предрасположенности к развитию тех или иных проявлений псориатической болезни (в том числе – псориатической ониходистрофии). Представляется перспективным дальнейшее изучение особенностей иммунной защиты, обмена веществ при различных клинических формах псориаза.

Заключение

Таким образом, сопутствующая псориатическая ониходистрофия была выявлена нами у 44,7% пациентов с распространенным вульгарным псориазом. Наиболее часто отмечалось поражение ногтевых пластин по типу точечной ониходистрофии (65,5%), симптома «масляного пятна» (49,6%), онихогрифоза (10,6%) и онихолизиса (6,2%).

Вероятность развития псориатической ониходистрофии повышалась с увеличением возраста пациента, длительности заболевания, тяжести кожного процесса и не зависела от возраста дебюта заболевания и типа псориаза.

У пациентов с прогрессирующей стадией распространенного вульгарного псориаза выявлены нарушения во всех основных звеньях иммунной защиты: дисбаланс адаптивного клеточного иммунитета с увеличением количества CD3⁺-лимфоцитов и резким сдвигом иммунорегуляторного индекса в сторону клеток с хелперной функцией, вторичная гранулоцитопатия с повышением поглотительной и киллинговой активности нейтрофилов, гиперактивный гуморальный иммунный ответ с высоким уровнем ЦИК, гипериммуноглобулинемией M и A.

У пациентов с сопутствующей ониходистрофией иммунологические нарушения были более выражены, чем у больных без поражения ногтей. У них отмечались более высокий уровень лейкоцитов, содержание секреторного Ig A и циркулирующих иммунных ком-

плексов среднего диаметра. Уровень супрессорно-цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов у больных с ониходистрофией был ниже, чем у больных без поражения ногтей.

Список литературы

1. Байтяков В.В., Дикова О.В. Псориатическая болезнь: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2010. – 92 с.
2. Иммунные механизмы псориаза. Новые стратегии биологической терапии / А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Дж.Ф. Николас и др. // Вестн. дерматол. венерол. – 2010. – № 1. – С. 35–47.
3. Кунгуров Н.В., Филимонкова Н.Н., Тузанкина И.А. Псориатическая болезнь. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2002. – 200 с.
4. Псориаз и псориатический артрит / В.А. Молочков, В.В. Бадюкин, В.И. Альбанова, В.А. Волнухин. – М.: Т-во науч. изд. КМК: Авт. акад., 2007. – 300 с.
5. Филимонкова Н.Н., Кашеева Я.В., Топычанова Е.П. Современные клинико-анамнестические особенности псориаза // Урал. мед. журн. – 2011. – № 8 (86). – С. 43–45.
6. Finlay A.Y., Khan G.K. Dermatology Life Quality Index (DLQI) – a simple practical measure for routine clinical use // Clin. Exp. Dermatol. – 1994. – Vol. 19. – P. 210–216.
7. Gottlieb A.B., Chao C., Dann F. Psoriasis comorbidities // J. Dermatol. Treatment. – 2008. – Vol. 19, N 1. – P. 5–21.
8. Evidence that a locus for familial psoriasis maps to chromosome 4q / D. Matthews, L. Fry, A. Powles et al. // Nat. Genet. – 1996. – Vol. 14. – P. 231–233.
9. Rich P., Scher R.K. Nail psoriasis severity index: a useful tool for evaluation of nail psoriasis // J. Am. Acad. Dermatol. – 2003. – Vol. 49, №2. – P. 206–212.

References

1. Baytyakov V.V., Dikova O.V. *Psoriaticeskaya bolesn: etiopatogenez, klinika, diagnostika, lechenie* [The psoriatic disease: aetiopathogenesis, clinical features, diagnosis, treatment]. Saransk, Mordovskii Univ., 2010. 92 p.
2. Kubanova A.A., Kubanov A.A., Nikolas J.F., Puig L., Prince J., Katunina O.R., Znamenskaya L.F. *Vestnik dermatologii i venerologii*, 2010, no. 1, pp. 35–47.
3. Kungurov N.V., Filimonkova N.N., Tuzankina I.A. *Psoriaticeskaya bolesn* [The psoriatic disease]. Ekaterinburg, Ural'skii Univ., 2002. 200 p.
4. Molochkov V.A., Badokin V.V., Albanova V.I., Volnuhin V.A. *Psoriaz i psoriaticeskii artrit* [The psoriasis and the psoriatic arthritis]. Moscow, Avt. Acad., 2007. 300 p.
5. Filimonkova N.N., Kasheeva Ya.V., Topychkanova E.P. *Uralskii meditsinskii zhurnal*, 2011, vol. 86, no. 8, pp. 43–45.
6. Finlay A.Y., Khan G.K. *Clin. Exp. Dermatol.*, 1994, vol. 19, pp. 210–216.
7. Gottlieb A.B., Chao C., Dann F. *J. Dermatol. Treatment.*, 2008, vol. 19, no 1, pp. 5–21.
8. Matthews D., Fry L., Powles A., Weber J., McCarthy M., Fisher E., Davies K., Williamson R. *Nat. Genet.*, 1996, vol. 14, pp. 231–233.
9. Rich P., Scher R.K. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2003, vol. 49, no 2, pp 206–212.

Рецензенты:

Клеменова И.А., д.м.н., заместитель директора по научно-исследовательской работе ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский кожно-венерологический институт Минздрава России», г. Нижний Новгород;

Галлямова Ю.А., д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии, микологии и косметологии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава России», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 13.04.2012.

УДК 616.5-001/-002-085-097.3:577.112.5

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Деркач В.В., Матиенко Л.М.

ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»,
Владивосток, e-mail: ladislavad@mail.ru

Исследование проводили с целью изучения эффективности базисной терапии у детей, больных атопическим дерматитом (АтД) и оценки ее влияния на иммунные и цитокиновые механизмы патогенеза заболевания. Было обследовано 200 детей с атопическим дерматитом, получавших базисную терапию, до начала лечения и в динамике через 1, 3, 6 месяцев терапии. Ведущими параметрами, составляющими исходную формулу расстройств иммунной системы, оказались – $IFN\gamma_3^-$ IgE_3^+ $IL-4_3^+$ $IL-13_3^+$, характеризующие наличие у детей, больных АтД, дисбаланса иммунной системы. Формула иммунных нарушений через три и шесть месяцев базисной терапии у детей с АтД не изменялась. Проведенные исследования отметили, что базисная терапия купирует клинические проявления АтД у детей, особенно при легком течении заболевания, обладает умеренным терапевтическим эффектом, снижает активность и степень аллергического воспаления в коже, значимо не меняя иммунных механизмов развития АтД. При атопическом дерматите у детей наблюдались выраженные изменения в балансе $IL-4$, $IL-13$ и $IFN\gamma$, продукция которых не зависела от продолжительности базисной терапии.

Ключевые слова: атопический дерматит, дети, базисная терапия, цитокины

THE EFFICIENCY OF THE BASIC THERAPY AND ITS INFLUENCE ON THE CYTOKINE STATUS OF THE CHILDREN ILL WITH ATOPIC DERMATITIS

Derkach V.V., Matyenko L.M.

Vladivostok State Medical University, Vladivostok, e-mail: vladislavad@mail.ru

A study conducted to examine the effectiveness of the basic therapy of children with atopic dermatitis (AD) and evaluating its effects on immune and cytokines are mechanisms of pathogenesis of the disease. Were surveyed 200 children with atopic dermatitis who received basic treatment prior to treatment and dynamics through 1, 3, 6 months of therapy. Key parameters that make up the original formula of the disorders of the immune system, are – $IFN\gamma_3^-$ IgE_3^+ $IL-4_3^+$ $IL-13_3^+$ showing that children with AD, imbalance of the immune system. Formula of immune violations after three and six months of basic therapy in children with AD has not changed. Studies have indicated that the basic therapy attenuates clinical manifestations of AD in children, especially in light throughout the illness, has moderate therapeutic effect, reduces activity and degree of allergic inflammation in the skin significantly without changing the immune mechanisms of development of AD. Atopic dermatitis in children were expressed by changes in the balance of $IL-4$, $IL-13$ and $IFN\gamma$, which did not depend on the length of the basic therapy.

Key words: atopic dermatitis, children, basic therapy, cytokine

Атопический дерматит (АтД) – хроническое заболевание, в основе которого лежит IgE-зависимое воспаление кожи, требующее длительного контроля за течением болезни, а мультифакторность патогенеза, системность и полиорганность поражения при АтД обуславливают необходимость комплексного подхода к его терапии. Базисная терапия детей, страдающих АтД, складывается из диеты, мероприятий по контролю окружающей среды, наружной терапии и уходу за кожей, системной фармакотерапии и реабилитации [1, 6]. Базисная (противовоспалительная) терапия у детей с АтД направлена на достижение и поддержание устойчивой ремиссии, обеспечение контроля над болезнью, повышение качества жизни ребенка [5].

Иммунопатогенез данного заболевания сложен. При АтД инициация иммунного ответа протекает на фоне измененной дифференцировки Т-хелперов. Показано, что при АтД антигенные воздействия и повреждения

выявляют нарушенный профиль цитокиновой регуляции, состоящий в том, что цитокины Th2-типа образуются в более высоких концентрациях, чем цитокины Th1-типа [2, 4, 5]. Правильное понимание механизмов, лежащих в основе развития АтД, позволяет адекватно оценить необходимый объем терапевтической помощи в каждом конкретном случае и избежать возможных ошибок.

В настоящем исследовании была изучена эффективность базисной терапии, а также оценено ее влияние на цитокиновый спектр у детей, больных атопическим дерматитом.

В исследовании участвовали 200 детей, больных АтД, в стадии обострения. Диагноз АтД установлен согласно критериям Hanifin и Rajka [7], модифицированным и отраженным в Российском национальном согласительном документе по АтД [1]. Тяжесть заболевания оценивали по индексу SCORAD (Severity Scoring of Atopic Dermatitis, 1993). Контрольную группу со-

ставили 30 здоровых сверстников. Всем пациентам, помимо сбора аллергологического анамнеза, оценки соматического статуса, клинических симптомов и тяжести атопического дерматита по индексу SCORAD, проводили стандартное общеклиническое и аллергологическое обследование (аллерго-пробы, определение уровня общего и аллерген-специфических IgE в сыворотке крови). Концентрацию общего IgE в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на планшетах ЗАО «Вектор-Бест» (г.Новосибирск). Количественное определение аллерген-специфических IgE в сыворотке крови проводили с помощью набора реагентов «C.A.R.L.A. System» итальянской компании «Radim» методом твердофазного ИФА.

Специальное обследование включало исследование уровней интерлейкина (IL) 4, IL-8,13, IFN γ (интерферона) в сыворотке крови и слюне методом ИФА сэндвич-вариант реактивами фирмы «R&D diagnostics Inc.» (США) на базе лаборатории неинфекционного иммунитета Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН.

Программа базисного лечения АтД включала элиминационные мероприятия, образовательные аспекты, системные антигистаминные препараты, энтеросорбенты, препараты, корригирующие нарушения в системе желудочно-кишечного тракта и наружную местную терапию с учетом тяжести и фазы течения процесса. Во время обострения назначались наружные кортикостероиды в сочетании с увлажняющими средствами, при стихании обострения нестероидные иммуномодуляторы наружного действия – пимекролимус в комбинации с увлажняющими средствами. Препараты принимали в возрастных дозировках. Состояние пациента оценивалось на протяжении 6 мес. Клиническую эффективность терапии оценивали по результатам анкетирования, проводимого среди пациентов до и после лечения. Каждый из симптомов (зуд кожи, эритема, шелушение, инфильтрация и т.д.) оценивали по 4-балльной шкале: от 0 до 3 баллов: 0 – отсутствие симптома; 1 – легкая выраженность; 2 – умеренная выраженность; 3 – значительная степень выраженности симптома.

Из иммунологических и цитокиновых критериев оценки эффективности базисной фармакотерапии мы использовали динамику клеточных показателей иммунитета, общего IgE, системного и локального уровня IL-4, IL-13, IFN γ . В оценке влияния базисной терапии на иммунологические и цитокиновые маркеры аллергического воспаления при АтД был использован анализ степени

стимуляции иммунных показателей, частотный анализ, индекс стимуляции по Б.П. Бакулину и рейтинговый алгоритм [3].

Для статистической обработки результатов использован пакет программ «MS Excel 2007» и «Statistica 6». Для описания данных при нормальном распределении изучаемых признаков оценивали их среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента (t) и уровню значимости (p). Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

Из всех детей, находившихся под наблюдением, было 106 (53 %) девочек и 94 (47 %) мальчика в возрасте от 7 до 17 лет. У половины из них отмечалось среднетяжелое течение, у трети детей легкое течение АтД и у 12 % тяжелое (табл. 1).

Таблица 1
Возрастные, гендерные и клинические характеристики детей с атопическим дерматитом, получавших базисную терапию

Показатели	Количество детей
Общее число, из них:	
Мальчики (абс. число)	94
%	47
Девочки (абс. число)	106
%	53
Тяжесть клинического течения болезни	
Легкая (абс. число)	73
%	36,5
Средней тяжести (абс. число)	103
%	51,5
Тяжелая (абс. число)	24
%	12
Шкала SCORAD ($M \pm \sigma$)	
Легкая	18,6 $\pm$ 1,8
Средней тяжести	34,7 $\pm$ 2,9
Тяжелая	67,6 $\pm$ 5,3

При определении степени тяжести заболевания по индексу шкалы SCORAD у детей с АтД преобладало среднетяжелое и легкое течение болезни (51,5 и 36,5 % соответственно).

Распространенность и тяжесть кожного процесса у детей, больных АтД, представлены в табл. 2. При локализованной форме заболевания в 100 % случаев встречалось легкое течение АтД, при диффузной форме дерматита у всех больных тяжелое течение. При распространенной форме в 2/3 случаев – среднетяжелое течение, у 10 % детей – тяжелой и у 3 % – легкое (см. табл.2).

Таблица 2

Распространенность и тяжесть кожного процесса у детей, больных АтД

Распространенность заболевания (формы)	Тяжесть течения заболевания					
	легкое		средней тяжести		тяжелое	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Локализованная	30	15	0	—	0	—
Распространенная	6	3	124	62	20	10
Диффузная	0	—	0	—	20	10

Общим для всех детей с АтД являлось хроническое рецидивирующее течение заболевания, в период обострения зуд различной степени интенсивности, расстройство сна, раздражительность, повышенная утомляемость, склонность к хроническим рецидивирующим инфекциям кожи. У 133 больных (66,5%) отмечался умеренный зуд, у 67 (33,5%) – нестерпимый. Кожные поражения у больных АтД характеризовались чаще симметричной, склонной к группировке эритематозно-папулезной сыпью, очагами инфильтрации и лихенификации, точечными и линейными экскорациями, корочками, мелко- и среднепластинчатым шелушением. Монотонное течение болезни отмечалось у 28% детей, прогрессирующее – у 67%, регрессирующее – у 5%.

Часто встречающейся сопутствующей патологией у детей, больных АтД, являлись заболевания, протекающие с аллергическим поражением дыхательных путей. С учетом бронхиальной астмы и аллергического ринита эти дети составили 55% из всех наблюдавшихся больных. Значимым фактором риска развития и прогрессирования АтД является наличие у больного ребенка различных форм патологии желудочно-кишечного тракта, как органических, так и функциональных [1]. У 44% обследованных нами детей с АтД отмечалась разнообразная патология желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит и гастродуоденит, дискинезия желчевыводящих путей, дисбиоз кишечника и др.).

Частые вирусные инфекции способствуют более тяжелому течению АтД у детей, так как при этом снижается иммунная толерантность и увеличивается продукция IgE [1]. У 17% больных была выявлена герпетическая инфекция, у 44% частые острые респираторные заболевания. У 85% детей с АтД наблюдались сезонные колебания в течение заболевания с преимущественными обострениями в холодное время года.

У детей с АтД, получавших базисную терапию, отмечалась положительная клиническая динамика. Так, уже через 1 мес. базисной терапии была отмечено улучшение в состоянии пациентов, которое стано-

вилось выраженным к 6 мес. от начала лечения ($p < 0,05$). При легком течении АтД использование базисной терапии сопровождалось уменьшением гиперемии кожи к концу 2–3 суток, зуд кожи уменьшался на 4–5 сутки и полностью купировался на 2-й недели лечения, но оставались выраженные проявления сухости кожи и шелушения. К 3 месяцу терапии сухость и шелушение купировались более чем у половины пациентов с легким течением АтД. Суммарная оценка тяжести течения дерматита по шкале SCORAD составила в начале лечения $18,6 \pm 1,8$ балла, на фоне базисной терапии через 1 месяц уменьшилась в 2,1 раза, через 3 месяца почти в 5 раз (рис. 1). При среднетяжелом течении АтД базисная терапия способствовала уменьшению гиперемии на 4–5 сутки и купированию ее на 2-й неделе лечения, зуд кожи уменьшался на 5–6 сутки у трети больных, к концу 3-й недели у 74% детей. Сухость и шелушение были более выражены и сохранялись более длительно, чем при легкой форме АтД. Суммарная оценка динамики симптомов по шкале SCORAD составила $34,7 \pm 2,9$ баллов, на фоне базисного лечения через 1 месяц она уменьшилась на 30,1%, через 3 месяца на 59,1% (см. рис. 1). Наименее выраженный эффект от проведения базисной терапии отмечен у детей с тяжелым течением АтД. При данной форме заболевания значительно дольше сохранялись гиперемия и сильный зуд кожи, уменьшаясь к 6 месяцу терапии у половины больных с дерматитом. Сухость и шелушение кожных покровов практически не изменялись на фоне проведения базисной терапии в течение 6 месяцев. Суммарная оценка по шкале SCORAD, составившая в начале лечения при тяжелой форме $67,6 \pm 5,3$ балла, незначительно уменьшилась через 1 месяц терапии, через 6 месяцев – на 44,3% (см. рис. 1).

Родители в 44% случаев оценивали базисную терапию при АтД у ребенка как высокоэффективную, в 36% – как умеренно эффективную, в 12% – отмечали незначительную эффективность терапии и в 8% случаев как неэффективную, в основном при среднетяжелом и тяжелом течении дерматита.

У детей с АтД до начала проведения базисного лечения отмечались активация синтеза общего IgE, IL-4 и IL-13 в сыворотке крови и слюне, сочетающаяся

со снижением показателей клеточного иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов и недостаточностью IFN γ (рис. 2).

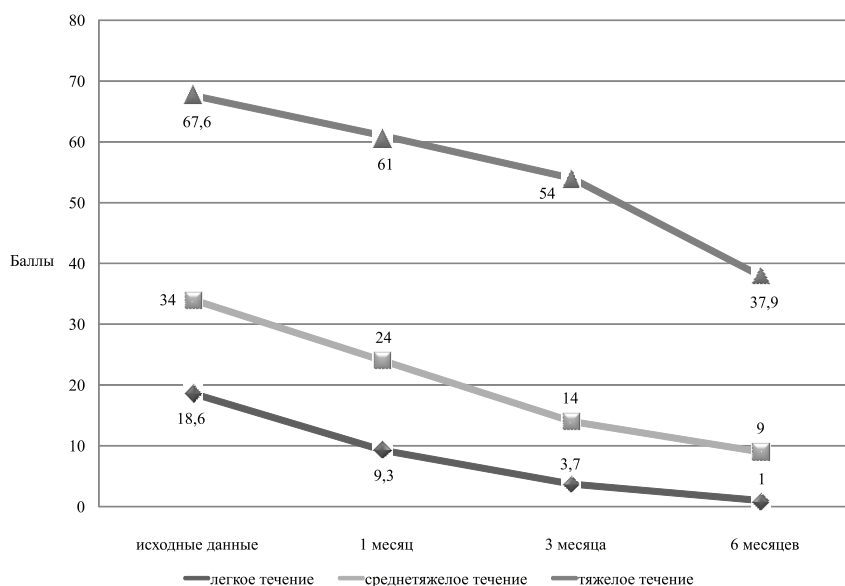


Рис. 1. Динамика симптомов атопического дерматита (по шкале SCORAD) у детей на фоне проведения базисной терапии

Ведущими параметрами, составляющими исходную формулу расстройств иммунной системы, оказались – IFN γ_3^- IgE $_3^+$ IL-4 $_3^+$ IL-13 $_3^+$ характеризующие наличие у детей, больных АтД, дисбаланса иммунной системы. Формула иммунных нарушений через три и шесть месяцев базисной терапии у детей с АтД не изменялась. Проведенные нами

исследования зафиксировали у детей с АтД сохранение угнетения клеточного звена иммунитета и фагоцитарной активности лейкоцитов на всем протяжении базисной терапии, выражавшееся в снижении показателей CD3 $^+$, CD4 $^+$, фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ) следующих степеней – CD3 $_1^-$ CD4 $_2^-$ ФИ $_1^-$ ФЧ $_2^-$ (рис. 2).

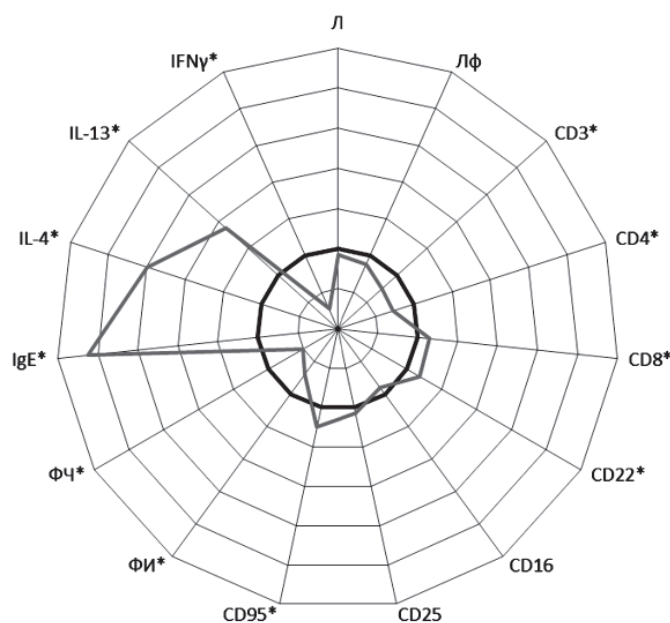


Рис. 2. Средние значения иммунных и цитокиновых параметров у детей с атопическим дерматитом до начала проведения базисной терапии:

* – достоверность от заданного уровня при $p < 0,05$, окружность – нормальные значения

Базисная терапия в течение месяца не оказывала влияния на цитокиновые показатели: уровень IL-4 в сыворотке крови практически не изменялся от уровня до лечения и составил $30,17 \pm 0,96$ pg/ml, и по-

прежнему превышал уровень здоровых детей как в сыворотке ($8,51 \pm 1,10$ pg/ml, $p < 0,001$), так и в слюне ($0,3 \pm 0,1$ pg/ml, $p < 0,001$). Аналогичная динамика отмечена в содержании IL-13 и общего IgE (табл. 3).

Таблица 3

Динамика иммунологических и цитокиновых маркеров воспаления у детей, больных atopическим дерматитом на фоне базисной терапии, средний уровень ($M \pm m$)

Показатели и ед. измерения	Контрольная группа (n = 30)	Продолжительность терапии		
		до начала проведения базисной терапии	через 1 мес. терапии	через 6 мес. терапии
Сыворотка крови				
Общий IgE, МЕ/мл	31,52 ± 8,66	367,34 ± 18,95 [#]	336,21 ± 15,67 [#]	301,04 ± 11,17 [#]
IL-4, pg/ml	8,51 ± 1,10	33,0 ± 0,92 [#]	30,17 ± 0,96 [#]	26,36 ± 0,59 [#]
IL-13, pg/ml	8,01 ± 1,60	64,90 ± 5,27 [#]	59,81 ± 1,62 [#]	53,64 ± 1,11 ^{#*}
IFNγ, pg/ml	50,61 ± 4,24	19,92 ± 1,67 [#]	26,62 ± 1,95 [#]	29,24 ± 2,36 [#]
Слюна				
IL-4, pg/ml	0,3 ± 0,10	61,54 ± 1,87 [#]	58,87 ± 1,56 [#]	52,16 ± 1,22 [#]
IL-13, pg/ml	2,25 ± 0,41	302,41 ± 13,07 [#]	272,49 ± 14,43 [#]	261,56 ± 8,61 [#]
IFNγ, pg/ml	65,20 ± 3,41	17,12 ± 1,90 [#]	23,72 ± 2,16 [#]	28,01 ± 2,78 ^{#*}

Примечания: p^* – достоверность различий к показателям до лечения;
 $p^{\#}$ – достоверность различий к показателям здоровых детей.

Не зафиксировано достоверной динамики в содержании IFN γ в сыворотке крови и слюне в течение месячной базисной терапии ($26,62 \pm 1,95$ и $23,72 \pm 2,16$ pg/ml соответственно при $p > 0,05$ к показателям до лечения). Базисная терапия в течение месяца не изменила формулу расстройств иммунной системы. Продолжение терапии в течение 3 месяцев определяло дальнейшее незначительное снижение IL-4, IL-13, общего IgE и повышение IFN γ , но не обеспечивало нормализации данных показателей как системно, так и локально. Уровень IL-4 в сыворотке крови через 3 месяца составил $28,25 \pm 0,84$ pg/ml, через 6 месяцев продолжал снижаться до $26,36 \pm 0,59$ pg/ml, не достигая показателей контрольной группы $8,51 \pm 1,10$ pg/ml ($p < 0,001$) (см. табл. 3). Сывороточная концентрация IL-13 у детей с atopическим дерматитом при проведении базисной терапии колебалась от $64,90 \pm 5,27$ до $53,64 \pm 1,11$ pg/ml при уровне IFN γ от $19,92 \pm 1,67$ до $29,24 \pm 2,36$ pg/ml, что определяло регуляторный цитокиновый индекс $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-13}} = 0,54 \pm 0,08$. У детей с изолированным atopическим дерматитом цитокиновый регуляторный индекс $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-4}}$ в сыворотке крови после 6 месяцев терапии составил $1,11 \pm 0,12$, его локальный уровень в слюне – $0,57 \pm 0,11$.

Соотношение оппозиционных цитокинов IL-4 и IFN γ достоверно различалось во время проведения базисной терапии в за-

висимости от клинических проявлений, сопутствующей респираторной патологии. До начала лечения atopического дерматита сывороточное содержание IL-4 составило – $33,00 \pm 0,92$ pg/ml, IFN γ – $19,92 \pm 1,67$ pg/ml, при наличии клинических проявлений ринита данные показатели были соответственно – $55,2 \pm 4,2$ и $23,5 \pm 3,4$ pg/ml ($p < 0,001$) и цитокиновый регуляторный коэффициент $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-4}} = 0,42 \pm 0,03$, при сочетании аллергического ринита и бронхиальной астмы $60,4 \pm 2,8$ pg/ml и $18,4 \pm 2,6$ pg/ml при $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-4}} = 0,34 \pm 0,06$.

При проведении базисной терапии у больных с разной степенью тяжести дерматита отмечалась односторонняя динамика содержания цитокинов. До начала базисной терапии уровень сывороточного IL-4 превышал показатели здоровых детей, более выражено при среднетяжелом ($27,46 \pm 2,82$ pg/ml) и тяжелом ($58,93 \pm 3,41$ pg/ml) течении, через 6 месяцев лечения данные показатели снижались, но в большинстве случаев среднетяжелого и тяжелого течения АД нормализации данных показателей не отмечено ($p < 0,001$). Аналогичная динамика отмечалась и при исследовании сывороточного уровня IL-13, но содержание цитокина достоверно зависело от длительности базисной терапии. До начала лечения уровень IL-13 при тяжелом и среднетяжелом течении составил ($63,76 \pm 3,78$ и $97,11 \pm 11,12$ pg/ml), а через

6 месяцев терапии он уменьшился в 1,5 раза ($p < 0,05$). Исследование содержания IFN γ у детей с АтД при различной степени тяжести не зафиксировало достоверного повышения показателя через 6 месяцев базисной терапии.

Проведенные исследования отметили, что базисная терапия купирует клинические проявления АтД у детей, особенно при легком течении заболевания, обладает умеренным терапевтическим эффектом, снижает активность и степень аллергического воспаления в коже, значимо не меняя иммунных механизмов развития АтД. При atopическом дерматите наблюдаются выраженные изменения в балансе IL-4, IL-13 и IFN γ , продукция которых не зависит от продолжительности базисной терапии.

Список литературы

1. Атопический дерматит: рекомендации для практических врачей // Российский согласительный документ по atopическому дерматиту. – М., 2002. – 190 с.
2. Геворкян О.В., Оспельникова Т.П., Ершов Ф.И. Иммунологические изменения при atopическом дерматите // Рос. аллергол. журнал. – 2010. – №6. – С. 14–19.
3. Клиническая иммунология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. А.М. Земскова. – М.: GEOTAR-Media, 2005. – 320 с.
4. Кудрявцева А.В. Современные аспекты патогенеза atopического дерматита у детей // Рос. аллергол. журнал. – 2010. – №5. – С. 48–57.
5. Современные аспекты иммунопатогенеза atopического дерматита // Рос. аллергол. журнал. – 2006. – №3. – С. 5–12.

6. Феденко Е.С. Основы рациональной терапии atopического дерматита // Рос. аллергол. журнал. – 2005. – №6. – С. 32–41.
7. Hanifin J.M., Rajka G. Diagnostic features of atopie dermatitis // Acta Derm. Venerol. – 1980. – Vol. 92. – P. 44–47.

References

1. Atopicheskiy dermatit: rekomendacii dlja prakticheskikh vrachej – Rossijskij soglasitel'nyj dokument po atopicheskomu dermatitu. M., 2002. 190 p.
2. Gevorkjan O.V., Ospel'nikova T.P., Ershov F.I. Immunologicheskie izmenenija pri atopicheskom dermatite // Ros. Allergol. Zhurnal. 2010. no. 6. pp. 14–19.
3. Klinicheskaja immunologija: uchebnoe posobie dlja studentov medicinskih vuzov – Pod red. A.M. Zemskova. M.: GEOTAR-Media, 2005. 320 p.
4. Kudrjavceva A.V. Sovremennye aspekty patogeneza atopicheskogo dermatita u detej // Ros. Allergol. Zhurnal. 2010. no. 5. pp. 48–57.
5. Sovremennye aspekty immunopatogeneza atopicheskogo dermatita – Ros. Allergol. Zhurnal. 2006. no. 3. pp. 5–12.
6. Fedenko E.S. Osnovy racional'noj terapii atopicheskogo dermatita – Ros. Allergol. Zhurnal. 2005. no. 6. pp. 32–41.
7. Hanifin J.M., Rajka G. Diagnostic features of atopie dermatitis – Acta Derm. Venerol. 1980. Vol. 92. pp. 44–47.

Рецензенты:

Осин А.Я., д.м.н., профессор кафедры факультетской педиатрии ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет», г. Владивосток;

Мирошниченко В.А., д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет», г. Владивосток.
Работа поступила в редакцию 01.03.2012.

УДК 616–134.9

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ КРОВОТОКА В ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЯХ ПРИ ПОВОРОТАХ ГОЛОВЫ

Дическул М.Л., Куликов В.П.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития
России», Барнаул, e-mail: mldicheskul@mail.ru

Цель работы – изучить динамику показателей кровотока в субокципитальном (ПА3) и интракраниальном (ПА4) сегментах позвоночной артерии при поворотах головы у пациентов со спондилогенной вертебробазилярной недостаточностью I–II ст. При помощи транскраниального цветового дуплексного сканирования были исследованы линейные скорости кровотока (V_{ps} и V_m) в ПА у 70 пациентов со спондилогенной ВБН I–II ст. (группа ВБН) и 28 здоровых добровольцев (группа Контроль). Скоростные показатели оценивали в положении пациента лежа на животе, изначально при нейтральном положении головы, затем при максимальной ротации вправо и после этого при максимальной ротации влево. Вычисляли коэффициент реактивности (КР, %). Результаты: Достоверные различия скоростных показателей между правой и левой ПА, а также при контрлатеральном и ипсилатеральном поворотах отсутствовали в обеих группах. В сегменте ПА3 величины V_{ps} и V_m при поворотах головы у испытуемых обеих групп не различались и значимо не изменялись по сравнению с нейтральным положением головы. В сегменте ПА4 степень снижения V_{ps} при поворотах головы была достоверно больше у пациентов с ВБН. Группы различались по количеству случаев снижения V_{ps} на 30 % и более ($P < 0,05$). Было установлено, что критерий положительного поворотного теста «снижение $V_{ps} \geq 30\%$ » обладает высокой специфичностью 98 % и прогностической ценностью (+PV) – 94,6 %, при этом отношение правдоподобия (+LR) составило 7,5. В группе ВБН при поворотах головы изменения как V_{ps} , так и V_m были значимо больше в четвертом сегменте, тогда как у здоровых только КР Vps ПА4 был достоверно больше, чем КР Vps ПА3. Выводы: 1) снижение линейной скорости кровотока при поворотах головы характерно для интракраниального, но не для субокципитального сегмента позвоночных артерий и не зависит от стороны поворота; 2) диагностическим критерием положительного поворотного теста является снижение пиковой скорости кровотока $\geq 30\%$, вероятность положительного теста в 7,5 раза больше у пациентов с вертебробазилярной недостаточностью I–II ст., чем у здоровых.

Ключевые слова: позвоночная артерия, поворотный тест, транскраниальное цветовое дуплексное сканирование

ULTRASOUND ESTIMATION OF BLOOD FLOW DYNAMICS IN VERTEBRAL ARTERIES ON HEAD ROTATION

Dicheskul M.L., Kulikov V.P.

Altai State Medical University, Barnaul, e-mail: mldicheskul@mail.ru

The aim of the present research was to study the dynamics of blood flow indices in suboccipital (VA_3) and intracranial (VA_4) segments of vertebral artery on head rotation in patients with I–II degree spondylogenic vertebrobasilar insufficiency. Using transcranial color-coded duplex sonography linear blood flow velocity (V_{ps} and V_m) in VA was examined in 70 patients with I–II degree spondylogenic VBI (VBI group) and in 28 healthy volunteers (C group). Velocity was estimated in patients' prone position, initially, in the head's neutral position, then on maximum rightwards rotation, and after that on maximum leftwards rotation. Reactivity ratio (RR, %) was calculated. Results: No significant differences in velocity indices between the right and the left VA, as well as on contralateral or ipsilateral rotation were noted in either of the groups. In the VA_3 segment V_{ps} and V_m values on head rotation did not vary in subjects from both groups, and did not change significantly as compared with head's neutral position. In VA_4 segment V_{ps} decrease degree on head rotation was significantly higher in patients with VBI. The groups had variations in the number of V_{ps} decrease cases by 30 % and more ($P < 0.05$). It was established that the positive head rotation criterion « $V_{ps} \geq 30\%$ decrease» enjoys high specificity of 98 % and prognostic value (+PV) – 94,6 %, along with that likelihood ratio (+LR) made up 7.5. In VBI group changes of both V_{ps} and V_m on head rotation were significantly greater in the fourth segment, whereas in healthy adults only RR $V_{ps} VA_4$ was significantly higher than RR $V_{ps} VA_3$. Conclusions: 1) linear blood flow velocity decrease on head rotation is characteristic of intracranial segment of vertebral arteries, but no dynamics of blood flow indices in suboccipital segment, and does not depend on the rotation direction; 2) the positive head rotation diagnostic criterion is peak blood flow velocity decrease by $\geq 30\%$; a positive test result is 7.5 times more possible in patients with I–II degree vertebrobasilar insufficiency than in healthy adults.

Keywords: vertebral artery, head rotation, transcranial color-coded duplex sonography

Поворотные пробы для выявления экстравазального воздействия на позвоночную артерию, как причины вертебробазилярной недостаточности, являются традиционной частью исследования шейного отдела позвоночника (ШОП). Известно, что ротация головы может индуцировать снижение кровотока по позвоночным артериям [3, 6], поэтому большинство мануальных терапевтов, используя ультразвуковую доплерографию (УЗДГ), проводят скрининговое

исследование кровотока в позвоночных артериях (ПА). Однако этот метод не обладает достаточной надежностью полученных результатов [3, 8]. Метод транскраниального цветового дуплексного сканирования (ТЦКД) позволяет визуализировать сосуд и регистрировать в нем возможные изменения показателей кровотока, но работы, посвященные изучению динамики параметров кровотока в ПА при поворотах головы с помощью этого метода немногочисленны [5].

Цель настоящей работы – изучить динамику показателей кровотока в субокципитальном и интракраниальном сегментах ПА при поворотах головы у пациентов со спондилогенной ВБН I-II ст.

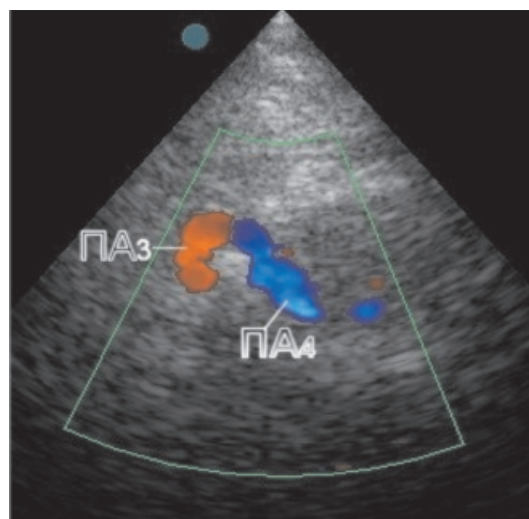
Материал и методы исследования

Исследование показателей кровотока в позвоночных артериях при поворотных пробах было проведено у 70 пациентов со спондилогенной вертебробазилярной недостаточностью I-II ст. по классификации А.Б. Сителя [2], из них 19 мужчин и 51 женщина в возрасте от 18 до 53 лет (группа ВБН). Основной жалобой у этих пациентов были периодические боли в области головы и/или шеи, которые возникали при движении головой или изменении позы, сочетались с умеренно выраженными головокружением, реже наблюдались зрительные или слуховые нарушения, тошнота. Проявления остеохондроза ШОП были в виде дистрофических процессов в дисках (73%), нестабильности (34%), унковертебрального или другого артроза (40%), протрузии или пролапса дисков (5%), в 12,5% случаев имелись аномалии на верхнешейном уровне, и в половине случаев было отмечено сочетание указанных нарушений.

Контрольную группу составили 28 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 50 лет, из них 9 мужчин и 19 женщин. У всех испытуемых было получено информированное согласие об участии в исследовании. Критериями исключения из исследования были ультразвуковые признаки атеросклеротических бляшек, гемодинамически значимых деформаций в изучаемых артериях.

При помощи транскраниального цветового дуплексного сканирования была проведена оценка показателей кровотока в субокципитальном и интракраниальном сегментах позвоночной артерии. Исследование ПА было выполнено на ультразвуковой системе Vivid-3 Pro (GE, США) секторным датчиком 2,5–3,6 МГц из трансокипитального доступа (срединный и парамедианный). Субокципитальный сегмент (ПА_з) оценивали в дугообразном отрезке позвоночных артерий, непосредственно перед их входом в череп, интракраниальный сегмент (ПА_к) – в дистальных отрезках, перед слиянием ПА в основную артерию (рисунок). Показатели кровотока в ПА оценивали в положении пациента лежа на животе, изначально при нейтральном положении головы, затем при максимальной ротации вправо и после этого при максимальной ротации влево. По записанной доплерограмме регистрировали пиковую и усредненную линейную скорости кровотока (V_{ps} и V_m , см/с), вычисляли индекс резистентности (RI, усл.е). Оценку реакции параметров кровотока на пробы проводили путем расчета коэффициента реактивности (КР, %) по формуле: $(\Pi_{фп}/\Pi_{исх} - 1) \cdot 100$, где $\Pi_{фп}$ и $\Pi_{исх}$ – значения показателя после функциональной пробы и при нейтральном положении головы.

Статистический анализ был проведен с помощью программы Statistica 6 для Windows. Количественные данные представлены в виде медианы, 5-го и 95-го перцентилей (Me [5; 95]). Полученные результаты сравнивались при помощи критерия Манна – Уитни, парного теста Вилкоксона и двухстороннего критерия Фишера (Р). Дополнительно проводили ROC-анализ (receiver operating characteristic curves). Статистическая значимость принималась для всех параметров при $p < 0,05$.



Сканограмма позвоночной артерии в субокципитальном (ПА_з) и интракраниальном сегментах (ПА_к) в режиме ЦДК

Результаты исследования и их обсуждение

Изначально в обеих группах показатели кровотока в правой и левой ПА сравнивались и, учитывая отсутствие между ними значимых различий, в дальнейшем оценивались суммарно. Величины параметров кровотока в ПА при контрлатеральном повороте достоверно не различались от таковых при ипсилатеральном повороте, поэтому в каждой группе испытуемых они также были проанализированы суммарно.

При нейтральном положении головы величины показателей кровотока в субокципитальном сегменте ПА не различались между группами (табл. 1).

Таблица 1
Величины показателей кровотока в субокципитальном сегменте позвоночной артерии у испытуемых обеих групп

Показатель	Группа ВБН (n = 140)	Группа контроль (n = 56)
$V_{ps \text{ исх}}$, см/с	32,2 [20,9; 47,3]	34,0 [25,0; 47,0]
КР V_{ps} , %	-2,9 [-27,0; 41,1]	0,0 [-25,0; 36,1]
$V_m \text{ исх}$, см/с	22,2 [11,8; 32,6]	22,8 [16,2; 31,7]
КР V_m , %	-3,1 [-29,9; 41,7]	-1,4 [-26,5; 29,6]
$RI_{исх}$, усл.ед.	0,53 [0,42; 0,68]	0,51 [0,43; 0,59]
КР RI, %	0,7 [-17,0; 22,6]	2,2 [-16,7; 26,1]

Примечания: n – количество исследованных сосудов, в каждом 2 измерения при поворотах; $V_{ps \text{ исх}}$, $V_m \text{ исх}$, $RI_{исх}$ – исходные показатели при нейтральном положении головы.

Как видно из представленной табл. 2, значимые изменения изученных показателей при поворотах головы отсутствовали как у здоровых, так и у пациентов с ВБН. По данным литературы, просвет ПА обычно не изменяется при атланта-аксиальной ротации, а сужение, как правило, обусловлено экстравазальным воздействием или перегибом сосуда [4]. Таким образом, полученные результаты позволяют думать об отсутствии экстравазального воздействия в субокципитальном сегменте ПА при поворотах головы у испытуемых данных групп.

Величины показателей кровотока в интракраниальном сегменте ПА в состоянии покоя соответствовали данным других авторов [7]. Межгрупповые различия были установлены по величине средней линейной скорости кровотока (табл. 2), но динамика V_m на повороты головы в обеих группах была идентична.

Таблица 2
Показатели кровотока в интракраниальном сегменте позвоночной артерии у испытуемых обеих групп

Показатель	Группа ВБН (n = 140)	Группа контроль (n = 56)
$V_{ps\text{ исх.}}$ см/с	61,4 [34,1; 88,0]*	63,2 [41,0; 81,8]*
КР V_{ps} %	-10,7 [-33,5; 20,0] §	-6,1 [-28,0; 26,3]
$V_{m\text{ исх.}}$ см/с	38,1 [18,6; 60,8] *§	43,9 [30,3; 59,0]*
КР V_m %	-11,7 [-37,8; 33,9]	-7,6 [-31,9; 40,9]
$RI_{\text{исх.}}$ усл.ед.	0,52 [0,43; 0,65]*	0,52 [0,41; 0,6]
КР RI %	2,3 [-17,3; 22,5]	0,0 [-18,3; 24,5]

Примечания:

n – количество исследованных сосудов, в каждом 2 измерения при поворотах; $V_{ps\text{ исх.}}$, $V_{m\text{ исх.}}$, $RI_{\text{исх.}}$ – исходные показатели при нейтральном положении головы;

* – достоверность изменения показателя при пробе при $p < 0,05$; § – достоверность различия между группами при $p < 0,05$.

Значения пиковой систолической скорости при нейтральном положении головы не различались у здоровых и пациентов с ВБН, но степень снижения V_{ps} при поворотах головы была достоверно больше у пациентов с ВБН. Кроме того, группы различались по количеству случаев снижения V_{ps} на 30% и более ($P < 0,05$).

При сравнении реакции на повороты головы скоростных показателей в субокципитальном и интракраниальном сегментах было установлено, что в группе ВБН изменения как V_{ps} , так и V_m были значимо больше в четвертом сегменте, тогда как у здоровых только КР $V_{ps\text{ ПА4}}$ был достоверно больше, чем КР $V_{ps\text{ ПА3}}$.

Большинство авторов при оценке результатов функциональных тестов анализируют динамику средней линейной скорости кровотока [1, 4, 5, 8]. Однако, учитывая, что пиковая систолическая скорость кровотока характеризует состояние проходимости сегментов сосудистого русла, она существенно изменяется при стенозах, других локальных поражениях артерий и служит критерием их гемодинамической значимости, нам кажется правомочным оценивать результаты поворотной пробы по динамике пиковой систолической скорости. Данные ROC анализа показали, что критерий положительного поворотного теста «снижение $V_{ps} \geq 30\%$ » обладает высокой специфичностью 98% (ДИ 94,8–99,8%) и прогностической ценностью (+PV) – 94,6% (ДИ 81,8–99,2%) при отношении правдоподобия (+LR) 7,5 (ДИ 5,5–10,2). Вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате теста (–PV) составила 32,1%, что не позволяет исключить нарушения кровотока в ПА при отрицательном тесте у каждого третьего пациента.

Выводы

1. Исследование артериальной реактивности при поворотах головы позволяет диагностировать нарушения кровотока в позвоночных артериях, связанные с экстравазальным воздействием окружающих структур. Отрицательный тест не является гарантией отсутствия патологического воздействия на позвоночную артерию.

2. Снижение линейной скорости кровотока при поворотах головы характерно для интракраниального сегмента позвоночных артерий и не зависит от стороны поворота.

3. Диагностическим критерием положительного поворотного теста является снижение пиковой скорости кровотока $\geq 30\%$, вероятность положительного теста в 7,5 раз больше у пациентов с вертебробазилярной недостаточностью I–II ст., чем у здоровых.

4. Динамика показателей кровотока в субокципитальном сегменте позвоночных артерий при поворотах головы у здоровых и пациентов с вертебробазилярной недостаточностью I–II ст. отсутствует.

Список литературы

1. Транскраниальная доплерография в нейрохирургии / Б.В. Гайдар, В.Б. Семенютин, В.Е. Парфенов, Д.В. Сви-стов. – СПб.: Элби, 2008. – 281 с.

2. Сител' А.Б., Неведов А.Ю. Лечение спондилоген-ной вертебрально-базиллярной недостаточности методами мануальной терапии – активная профилактика мозгового ишемического инсульта // Мануальная терапия. – 2008. – № 1 (29). – С. 22–30.

3. Buckenham T.M. Ultrasound of the extracranial vertebral artery / T.M. Buckenham, I.A. Wright // Brit. J. Radiol. – 2004. – Vol. 77. – P. 15–20.

4. Vertebral arteries and cervical rotation: modeling and magnetic resonance angiography studies / M.J. Haynes, L.A. Cala, A. Melsom, F.L. Mastaglia, N. Milne, J.K. McGea-chie // J. Manipulative Physiol. Ther. – 2002. – Vol. 25, № 6. – P. 370–383.

5. Mitchell J. Vertebral artery blood flow velocity changes associated with cervical spine rotation: a meta-analysis of the evidence with implications for professional practice // J. Man. Manip. Ther. – 2009. – Vol. 17, №1. – P. 46–57.

6. The association between positional vertebral and basilar artery flow lesion and prevalence of vertigo in patients with cervical spondylosis / J. Olszewski, J. Majak, P. Pietkiewicz, C. Luszcz, M. Repetowski // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2006. – Vol. 134, № 4. – P. 680–684.

7. Schoning M., Walter J. Evaluation of the vertebrobasilar-posterior system by transcranial color duplex sonography in adults // Stroke. – 1992. – Vol. 23, № 9. – P. 1280–1286.

8. Thomas L.C. Validity of the Doppler velocimeter in examination of vertebral artery blood flow and its use in pre-manipulative screening of the neck / L.C. Thomas, D.A. Rivett, P.S. Bolton // Man Ther. – 2009. – Vol. 14, № 5. – P. 544–549.

References

1. Gajdar B.V., Semenjutin V.B., Parfenov V.E., Svi-stov D.V. *Transcranial dopplerografiya v nejrohirurgii* [Transcranial Doppler in neurosurgery]. SPb.: Jelbi, 2008. 281 p.

2. Sitel' A.B., Nefedov A. – Ju. *Manual'naja terapija*, 2008, no. 1 (29), pp. 22–30.

3. Buckenham T.M., Wright I.A. *Ultrasound of the ex-tracranial vertebral artery* – Brit. J. Radiol., 2004, Vol. 77, pp. 15–20.

4. Haynes M.J., Cala L.A., Melsom A., Mastaglia F.L., Milne N., McGeachie J.K. *Vertebral arteries and cervical rota-tion: modeling and magnetic resonance angiography studies* – J. Manipulative Physiol. Ther., 2002, Vol. 25, no. 6, pp. 370–383.

5. Mitchell J. *Vertebral artery blood flow velocity changes associated with cervical spine rotation: a meta-analysis of the evidence with implications for professional practice* – J. Man. Manip. Ther., 2009, Vol. 17, no. 1, pp. 46–57.

6. Olszewski J., Majak J., Pietkiewicz P., Luszcz C., Repe-towski M. *The association between positional vertebral and basilar artery flow lesion and prevalence of vertigo in patients with cervical spondylosis* – Otolaryngol. Head Neck Surg., 2006, Vol. 134, no. 4, pp. 680–684.

7. Schoning M., Walter J. *Evaluation of the vertebrobasi-lar-posterior system by transcranial color duplex sonography in adults* – Stroke, 1992, Vol. 23, no. 9, pp. 1280–1286.

8. Thomas L.C., Rivett D.A., Bolton P.S. *Validity of the Doppler velocimeter in examination of vertebral artery blood flow and its use in pre-manipulative screening of the neck* Man Ther., 2009, Vol. 14, no. 5, pp. 544–549.

Рецензенты:

Шульгина Л.Э., д.м.н. заведующая от-делением функциональной диагностики КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул;

Смирнова Ю.В., д.м.н., врач отделения функциональной диагностики №1 заболе-ваний нервной, мышечной систем, КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 12.03.2012.

УДК 616.12-009:616-006.44:615.28

СОСТОЯНИЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ В ДИНАМИКЕ ХИМИОТЕРАПИИ

Долгих Т.Ю., Желтова Л.И., Домникова Н.П., Сенчукова С.Р., Торнуев Ю.В.

ФГБУ «НИИ региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН,

Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru

Проведено клинико-функциональное обследование с использованием стандартных вегетативных тестов 90 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. При неходжкинских лимфомах до начала цитостатического лечения выявлено поражение вегетативной нервной системы сердца в виде кардиоваскулярной автономной нейропатии (у каждого второго пациента) и снижения вариабельности сердечного ритма (у каждого третьего пациента). Факторами, ассоциированными с кардиоваскулярной автономной нейропатией и снижением вариабельности сердечного ритма, являются анемия и возраст пациентов старше 60 лет, активность опухолевого процесса, устанавливаемая по биохимическим показателям (уровням С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, фибриногена). Установлено, что на фоне химиотерапии частота снижения вариабельности сердечного ритма возрастает, в структуре кардиоваскулярной автономной нейропатии увеличивается доля более тяжелых форм. Усиление поражения вегетативной нервной системы сердца объясняется применением курсов ЧОП с включением таких препаратов, как циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, кардиоваскулярная автономная нейропатия, вариабельность сердечного ритма, факторы риска, химиотерапия

STUDY OF AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM OF THE HEART AT PATIENTS WITH NON-HODGKIN'S LYMPHOMA IN THE DYNAMICS OF CHEMOTHERAPY

Dolgikh T.Y., Zheltova L.I., Domnikova N.P., Senchukova S.R., Tornuev Y.V.

Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,

Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru

Clinical and functional investigation with the use of standard vegetative tests was carried out in 90 patients with lymph proliferative diseases. In non-Hodgkin's lymphomas the damage of autonomic nervous system of the heart was revealed in the form of cardiovascular autonomic neuropathy (in every second patient) and in reducing variability of a heart rhythm (in each third patient). Factors associated with cardiovascular autonomic neuropathy and the reduction in the variability of cardiac rhythm are an anemia and age of patients older than 60 years, so as an activity of the tumor process that is installed on the biochemical indices (the levels of C-reactive protein, lactate dehydrogenase, fibrinogen). It is established, that on the background of chemotherapy, the frequency of reducing the variability of cardiac rhythm increases, in the structure of cardiovascular autonomic neuropathy the share of the more severe forms increases. The strengthening of damage of heart autonomic nervous system is caused by courses of CHOP with the inclusion of such drugs, as cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone.

Keywords: non-Hodgkin's lymphoma, cardiovascular autonomic neuropathy, heart rate variability, risk factors, chemotherapy

Во всем мире заболеваемость неходжкинскими лимфомами имеет неблагоприятную тенденцию. Препараты, включаемые в схемы лечения этих заболеваний, обладают высокой кардиотоксичностью, что приводит к увеличению количества кардиологических осложнений [5]. Для контроля состояния сердечно-сосудистой системы наряду со стандартным электрокардиографическим исследованием, а также эхокардиографическим исследованием и холтеровским мониторингом ЭКГ рекомендуют выполнение сцинтиграфии миокарда и коронарографии, а в ряде случаев – эндомиокардиальной биопсии [6]. Однако ни одна из предлагаемых методик исследования не дает представления о функциональном состоянии вегетативной нервной системы сердца.

Известно, что повреждение вегетативной нервной системы сердца при сахарном

диабете может являться одним из механизмов формирования артериальной гипертензии, безболевой ишемии миокарда, приводить к внезапной смерти [7, 9]. В настоящее время данных о распространенности поражения вегетативной нервной системы сердца у пациентов с неходжкинскими лимфомами в динамике химиотерапии в литературе практически не встречается. Следует отметить, что такие факторы, как оксидативный стресс и гипоксия, играющие роль в развитии диабетической нейропатии, наблюдаются и при неходжкинских лимфомах вследствие часто встречающейся анемии, применения химиотерапии и хронического воспаления.

Цель исследования – оценка частоты поражения вегетативной нервной системы сердца у пациентов с неходжкинскими лимфомами в динамике стандартной химиотерапии.

Материал и методы исследования

Обследованы 46 пациентов с агрессивными лимфомами (26 мужчин, 20 женщин, от 18 до 70 лет, средний возраст – $50,33 \pm 1,54$ лет) и 44 пациента с индолентными лимфомами (25 мужчин, 19 женщин, от 26 до 78 лет, средний возраст – $57,72 \pm 2,10$ лет) в динамике химиотерапии. Все пациенты находились на лечении в ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» с 2008 по 2010 г. Для контроля результатов стандартных вегетативных тестов и показателя вариабельности сердечного ритма была набрана группа из 10 соматически здоровых человек (7 мужчин, 3 женщины в возрасте от 33 до 62 лет, средний возраст – $48,15 \pm 3,02$ лет). Все исследования выполнены с информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации (2000 г.) и одобрены биоэтическим комитетом ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН.

Диагноз лимфомы устанавливали в соответствии с классификацией ВОЗ (2008). Группа агрессивных лимфом была преимущественно представлена диффузной В-крупноклеточной и Т-клеточной периферической лимфомами. Группа индолентных лимфом включала неходжкинскую лимфому из малых лимфоцитов, MALT-экстранодальную и фолликулярную лимфому I и II цитологического типов. Определение стадий лимфом осуществляли в соответствии с критериями классификации Ann Arbor (1971).

Оценку общесоматического статуса проводили по шкале Восточной кооперативной онкологической группы – ECOG performance status score. Лабораторные маркеры активности опухолевого процесса включали уровень лактатдегидрогеназы, С-реактивного белка, фибриногена и СОЭ. Клинические признаки опухолевой активности (В-симптомы) определяли как наличие хотя бы одного из симптомов: лихорадка выше 38°C в течение не менее 3-х дней подряд без признаков воспалительного процесса, профузные ночные поты, потеря веса более чем на 10% за 6 мес. Для определения степени тяжести анемии использовали классификацию ВОЗ: легкая анемия – Hb от 95 до 119 г/л, умеренная – 80–94 г/л, выраженная – 65–79 г/л и тяжелая – менее 65 г/л.

Для лечения больных с агрессивными лимфомами применяли лечение по схеме CHOP. Пациенты с индолентными лимфомами получали цитостатическую терапию в виде курсов COP, RCOP, CVP, RCVP, LVP.

С целью выявления признаков кардиоваскулярной автономной нейропатии оценивали результаты стандартных вегетативных тестов: пробы на глубокое дыхание, пробы Вальсальвы, ортостатические пробы [1], используя предложенные ранее критерии [8]. Тесты выполняли на 6-канальном электрокардиографе FUKUDA DENSHI CARDIMAX FX – 326 U. Для анализа вариабельности сердечного ритма измеряли интервал RR в 5 последовательных сердечных циклах стандартной ЭКГ и определяли его среднее значение и стандартное отклонение SDNN (The European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996). Снижение вариабельности сердечного ритма констатировали на основании порогового прогностического индекса $\text{SDNN} \leq 20 \text{ ms}$ [4].

В исследование были включены пациенты без сердечно-сосудистой патологии, либо имеющие арте-

риальную гипертензию 1–2-й степени, скорректированную приемом ингибиторов АПФ и/или мочегонных препаратов. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS (версия 17.0).

Результаты исследования и их обсуждение

В половине случаев независимо от агрессивности лимфомы диагностирована кардиоваскулярная автономная нейропатия. В 68% случаев выявленной кардиоваскулярной автономной нейропатии обнаружено начальное поражение, в 20% – несомненное, в 6% – грубое поражение, в 6% случаев – атипичные варианты; при этом грубое поражение и атипичные варианты выявлены только у пациентов с анемией.

Однофакторный анализ показал (табл. 1), что при агрессивных лимфомах кардиоваскулярная автономная нейропатия чаще наблюдалась у пациентов в возрасте старше 60 лет ($p = 0,006$, $\text{OR} = 9,33$; $\text{CI} = 1,91\text{--}45,58$), с наличием анемии ($p = 0,012$, $\text{OR} = 9,36$; $\text{CI} = 1,64\text{--}53,62$), входящих в группу промежуточного/высокого и высокого риска согласно международному прогностическому индексу ($p = 0,032$, $\text{OR} = 4,80$; $\text{CI} = 1,15\text{--}20,09$), при увеличении уровней С-реактивного белка ($p = 0,001$, $\text{OR} = 37,50$; $\text{CI} = 5,46\text{--}257,59$), лактатдегидрогеназы ($p = 0,001$, $\text{OR} = 41,6$; $\text{CI} = 4,31\text{--}401,99$) и гиперфибриногенемии ($p = 0,001$, $\text{OR} = 40,80$; $\text{CI} = 4,21\text{--}395,52$).

При индолентных лимфомах (табл. 2) кардиоваскулярная автономная нейропатия чаще была ассоциирована с возрастом пациентов старше 60 лет ($p = 0,041$, $\text{OR} = 4,13$; $\text{CI} = 1,06\text{--}16,10$), наличием анемии ($p < 0,001$, $\text{OR} = 48,17$; $\text{CI} = 7,12\text{--}325,70$), повышенным уровнем С-реактивного белка ($p = 0,001$, $\text{OR} = 16,0$; $\text{CI} = 3,25\text{--}78,88$) и лактатдегидрогеназы ($p = 0,004$, $\text{OR} = 8,75$; $\text{CI} = 2,03\text{--}37,67$).

Обнаружено, что до химиотерапии снижение вариабельности сердечного ритма отмечено у каждого третьего пациента. Показано, что к факторам, ассоциированным с этим состоянием, относятся возраст пациентов старше 60 лет ($p = 0,020$, $\text{OR} = 5,17$; $\text{CI} = 1,01\text{--}14,08$) и наличие анемии ($p = 0,015$, $\text{OR} = 7,52$; $\text{CI} = 2,11\text{--}18,30$).

В динамике химиотерапии изменилась структура кардиоваскулярной автономной нейропатии: частота начального поражения уменьшилась на 44,3% ($p = 0,021$), несомненного – увеличилась на 16,8% ($p > 0,05$); частота атипичных вариантов возросла на 30,8% ($p = 0,007$). Грубое поражение и атипичные варианты, как и до начала лечения, выявлялись только у анемичных пациентов с агрессивными и индолентными лимфо-

мами. Число пациентов с неходжкинскими лимфомами со сниженной вариабельностью сердечного ритма на фоне химиотерапии увеличилось до 50% случаев.

Статистически значимыми ($p < 0,05$) факторами, ассоциированными со сниженной

вариабельностью сердечного ритма, а также с наличием кардиоваскулярной автономной нейропатии при агрессивных и индолентных лимфомах на фоне химиотерапии явились возраст пациентов старше 60 лет, анемия и применение химиотерапии по схеме CHOP.

Таблица 1

Факторы, ассоциированные с кардиоваскулярной автономной нейропатией у пациентов с агрессивными лимфомами до начала химиотерапии

Показатель	Группы пациентов		OR 95 % CI	Достоверность различий, p
	наличие кардиоваскулярной автономной нейропатии ($n = 18$)	отсутствие кардиоваскулярной автономной нейропатии ($n = 17$)		
Возраст: > 60 лет ≤ 60 лет	12 6	3 14	9,33 1,91 – 45,58	0,006
Анемия: нет есть	8 10	15 2	9,36 1,64 – 53,62	0,012
Значение международного прогностического индекса: менее 3-х 3 и более	6 12	12 5	4,80 1,15 – 20,09	0,032
С-реактивный белок: выше нормы норма	15 3	2 15	37,50 5,46 – 257,59	0,001
Лактатдегидрогеназа: выше нормы норма	13 5	1 16	41,6 4,31 – 401,99	0,001
Фибриноген: выше нормы норма	17 1	5 12	40,80 4,21 – 395,18	0,001

Таблица 2

Факторы, ассоциированные с кардиоваскулярной автономной нейропатией у пациентов с индолентными лимфомами до начала химиотерапии

Показатель	Группы пациентов		OR 95 % CI	Достоверность различий, p
	наличие кардиоваскулярной автономной нейропатии ($n = 19$)	отсутствие кардиоваскулярной автономной нейропатии ($n = 20$)		
Возраст: > 60 лет ≤ 60 лет	11 8	5 15	4,13 1,06 – 16,10	0,041
Анемия: нет есть	2 17	17 3	48,17 7,12 – 325,70	< 0,001
С-реактивный белок: выше нормы норма	16 3	5 15	16 3,25 – 78,88	0,001
Лактатдегидрогеназа: выше нормы норма	15 4	6 14	8,75 2,03 – 37,67	0,004

Нами продемонстрирована значимость анемии в снижении вариабельности сердечного ритма. Экспериментальных данных по влиянию анемии на вегетативные нервы сердца в литературе практически не

встречается. Вероятно, объяснение того, что анемия ассоциирована с поражением вегетативной нервной системы сердца кроется в развитии хронической гипоксии, индуцирующей оксидативный

стресс. В свою очередь, на модели сахарного диабета показано, что оксидативный стресс является основным патогенетическим звеном вегетативной нейропатии сердца [8].

Показана ассоциация между наличием биохимических маркёров активности опухолевого процесса и кардиоваскулярной автономной нейропатией. Известно, что при лимфопролиферативных заболеваниях, в том числе при неходжкинских лимфомах, изменен цитокиновый баланс с повышением уровня провоспалительных цитокинов, коррелирующих с биохимическими маркёрами активности опухолевого процесса. В частности, ИЛ-6 имеет прямую корреляционную связь с С-реактивным белком ($r = 0,85$, $p < 0,001$), что подтверждает опубликованные ранее данные о стимулирующем действии этого цитокина на продукцию белков острой фазы [2]. Исследование патогенеза таких сердечно-сосудистых заболеваний, как хроническая сердечная недостаточность и ишемическая болезнь сердца показало роль избытка провоспалительных цитокинов в усилении тканевой гипоксии и нарушении окислительных процессов [10]. В свою очередь, как уже упоминалось, оксидативный стресс приводит к поражению вегетативных нервов сердца при сахарном диабете [7, 8] и, возможно, индуцирует подобные процессы при лимфопролиферативных заболеваниях.

Поражение автономной нервной системы сердца помимо этого ассоциировано с возрастом пациентов старше 60 лет. Доказано, что при старении рефлекторные влияния на сердечно-сосудистую систему ослабевают, наблюдается дезинтеграция различных уровней вегетативной регуляции сердечной деятельности, снижаются суточные колебания показателей вариабельности сердечного ритма [3].

Представленные в работе результаты свидетельствуют об усугублении поражения вегетативной нервной системы сердца у пациентов с неходжкинскими лимфомами при проведении химиотерапии: возрастает частота снижения вариабельности сердечного ритма до 50%, в структуре кардиоваскулярной автономной нейропатии увеличивается доля более тяжёлых форм. Обнаружена связь химиотерапии по схеме СНОР с кардиоваскулярной автономной нейропатией и снижением вариабельности сердечного ритма. Входящие в состав схемы СНОР цитостатические препараты циклофосфан, доксорубин, винкристин и преднизолон являются кардиотоксичными. Особое значение имеют побочные эффекты винкристина, поскольку виналкало-

иды могут вызывать кардиоваскулярную нейропатию [5].

Заключение

При неходжкинских лимфомах до химиотерапии развиваются поражения вегетативной нервной системы: у каждого второго пациента отмечается кардиоваскулярная автономная нейропатия, у каждого третьего – снижение вариабельности сердечного ритма. В процессе химиотерапии наблюдается усугубление изменений вегетативной нервной системы сердца. Эти изменения можно обнаружить только при проведении стандартных вегетативных тестов и вычислении показателя вариабельности сердечного ритма. Стандартное обследование (ЭКГ в 12 отведениях в течение 1 мин) не даёт такой информации.

Показано, что поражение вегетативной нервной системы сердца носит мультифакторный характер и ассоциировано как с эндогенными (анемия, биохимические маркеры активности опухолевого процесса, возраст пациентов старше 60 лет), так и экзогенными факторами (химиотерапия).

Таким образом, оценка стандартных вегетативных тестов и вычисление показателя вариабельности сердечного ритма позволяют выявить изменения со стороны вегетативной нервной системы сердца при онкологических заболеваниях до лечения и в динамике химиотерапии. Выявленные изменения вегетативной нервной системы сердца (кардиоваскулярная автономная нейропатия и снижение вариабельности сердечного ритма) можно рассматривать в качестве раннего маркера кардиотоксичности неопластического процесса при неходжкинских лимфомах.

Список литературы

1. Бондарь И.А., Демин А.А., Королева Е.А. Диабетическая автономная нейропатия. – Новосибирск: Изд-во НГТУ, 2006. – 164 с.
2. Грачева Л.В. Цитокины в онкогематологии. – М.: Алтус, 1996. – 168 с.
3. Коркушко О.В., Писарук А.В., Лишневская В.Ю. Возрастные и патологические изменения суточной вариабельности сердечного ритма // Вестник аритмологии. – 1999. – № 14. – С. 30–33.
4. Никитин Ю.П., Кузнецов А.А. Прогностическое значение замедленной и негомогенной реполяризации желудочков и сниженной вариабельности сердечного ритма у мужчин с артериальной гипертензией (клинико-популяционное исследование) // Артериальная гипертензия. – 2003. – Т. 9, № 6. – С. 30–37.
5. Неантрациклиновая кардиотоксичность / М.Г. Матяш, Т.Л. Кравчук, В.В. Высоцкая, В.И. Чернов, В.Е. Гольдберг // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 5 (35). – С. 73–82.
6. Эндомиокардиальная биопсия – первый опыт / Д.Г. Сощенко, А.А. Фокин, А.В. Важенни, Е.Л. Куренков,

М.И. Воронин, А.А. Лукин // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – № 3. – С. 94–96.

7. The value of cardiovascular autonomic tests: 10 years experience in diabetes / D.J. Ewing, C.N. Martin, R.G. Young et al. // *Diabetes Care*. – 1985. – Vol.8. – P. 491–498.

8. Fluvastatin attenuates diabetes-induced cardiac sympathetic neuropathy in association with a decrease in oxidative stress / A. Matsuki, T. Nozawa, N. Igarashi et al. // *Circ. J.* – 2010. – Vol. 74(3). – P. 468–475.

9. Vinik A.I., Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy // *Circulation*. – 2007. – Vol. 115. – P. 387–397.

10. Zhang L., Zhang S., Jiang H. Effects of statin therapy on inflammatory markers in chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials // *Arch. Med. Res.* – 2010. – Vol. 41(6). – P. 464–471.

References

1. Bondar I.A., Demin A.A., Koroleva E.A. *Diabeticheskaya avtonomnaya neyropatiya* [Diabetic autonomic neuropathy]. Novosibirsk, NGTU Publ., 2006. 164 p.

2. Gracheva L.V. *Tsytokiny v onkogematologii* [Cytokines in oncohematology]. Moscow, Altus Publ., 1996. 168 p.

3. Korkushko O.V., Pizaruk A.V., Lishnevskaya V.Yu. *Vestnik aritmologii*. 1999. no. 14. pp. 30–33.

4. Nikitin Yu.P., Kuznetsov A.A. Arterialnaya gipertenziya. 2003. Vol. 9, no. 6. pp. 30–37.

5. Matyash M.G., Kravchuk T.L., Vysotskaya V.V. et al. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal*. 2009, no. 5 (35), pp. 73–82.

6. Soschenko D.G., Fokin A.A., Vazhenin A.V. et al. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal*. 2007, no. 3, pp. 94–96.

7. Ewing D.J., Martin C.N., Young R.G. et al. The value of cardiovascular autonomic tests: 10 years experience in diabetes // *Diabetes Care*. 1985. Vol.8. P. 491–498.

8. Matsuki A., Nozawa T., Igarashi N. et al. Fluvastatin attenuates diabetes-induced cardiac sympathetic neuropathy in association with a decrease in oxidative stress // *Circ J.* 2010. 74(3): 468–75.

9. Vinik A.I., Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy // *Circulation*. 2007. Vol. 115. pp. 387–397.

10. Zhang L., Zhang S., Jiang H. Effects of statin therapy on inflammatory markers in chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials // *Arch Med Res*. 2010. Vol. 41(6), pp. 464–71.

Рецензенты:

Гуляева Л.Ф., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза ФГБУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Любарский М.С., д.м.н., профессор, зав. отделом клинической морфологии и заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 13.04.2012.

УДК 616.61-004+616.381-072.1

ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ ГИГАНТСКОЙ КИСТЫ ПОЧКИ

Имамвердиев С.Б., Нагиев Р.Н., Астанов Ю.М.

Азербайджанский медицинский университет, Баку, e-mail: rauf_naghiyev@mail.ru

В данной работе демонстрируется эффективность лапароскопического метода в хирургическом лечении гигантских кист почки. Больной 57 лет поступил в клинику с жалобами на постоянные тупые, ноющие боли в правой поясничной области. КТ: в области переднего, заднего сегментов и верхнего полюса почки определяется солитарная киста размерами 16,5×12,5×10 см. В левой почке определяются четыре кисты размерами от 1,5 до 5,0 см. Диагноз: гигантская киста правой почки, множественные кисты левой почки, ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз. Больному было выполнено лапароскопическое трансперитонеальное удаление гигантской кисты правой почки. Продолжительность операции составила 75 минут, интраоперационная кровопотеря – 20 мл, время госпитализации 2 суток. Результат патогистологического исследования: стенки иссеченной кисты состоят из фиброзных тканей. Больной находился под наблюдением, исследования, проведенные через год после операции, выявили удовлетворительную функцию правой почки, отсутствие пиелозктазии, гидронефроза и наличия признаков повторения кисты. Марсупиализация гигантских кист почки при помощи лапароскопической техники является оптимальным и наименее инвазивным методом хирургического лечения.

Ключевые слова: гигантская киста почки, лапароскопия

LAPAROSCOPIC REMOVAL OF GIANT RENAL CYST

Imamverdiyev S.B., Naghiyev R.N., Astanov Y.M.

Azerbaijan Medical University, Baku, e-mail: rauf_naghiyev@mail.ru

This case demonstrates the effectiveness of laparoscopic method in the surgical treatment of giant kidney cyst. A 57 year-old patient arrived to clinic with the complaints of constant dull pains in the right lumbar area. CT: Solitary cyst of sizes 16,5×12,5×10 cm, compressing a kidney is detected in the region of front, back segments and upper pole of the kidney at ultrasonography and contrast computer tomography. Four cysts of sizes 1,5×1,5, 1,8×1,7, 3,1×2,4, 5,4×5,0 cm are detected in the left kidney. Sizes, thickness of parenchyma and functionality status of kidney are satisfactory. The diagnosis: Giant cyst in the right kidney, multiple cysts of the left kidney, ischemic cardiac disease, atherosclerotic cardiosclerosis. Laparoscopic transperitoneal removal of giant cyst was performed. The duration of the operation was 75 minutes, estimated blood loss – 20 ml and hospitalization period – 2 days. The result of pathohistological examination: the walls of excised cyst consist of fibrous tissues. The patient was under observation; the study conducted a year after the surgery revealed satisfactory functioning of the right kidney and signs of cysts' recurrence. Marsupialization of giant kidney cysts by means of laparoscopic technique is considered to be an optimal and a less invasive method of surgical treatment.

Keywords: giant renal cyst, laparoscopy

Киста почки является распространенным доброкачественным поражением почек и встречается по меньшей мере у 24% лиц старше 40 лет и у 50% лиц старше 50 лет [2, 8]. В связи с развитием методов диагностики выявляемость кист почек во всем мире увеличивается.

Почечные кисты могут вызывать обструкцию коллекторной системы, сжимать почечную паренхиму или вызывать спонтанную геморрагию, индуцируя боль и гематурию. Кроме того, они могут инфицироваться или могут вызывать обструктивную уропатию и гипертонию [3, 5]. Еще не так давно, до того, как в медицине стали широко применяться эндоскопические методы хирургии, больному с кистой почки предлагали в основном динамическое наблюдение за размерами кисты. По показаниям проводилось открытое оперативное вмешательство, которое при сопутствующей патологии не всегда было выполнимо.

Bosniak (1997) разработал удобную классификацию, подразделяющую кисты почек на категории по степени их возможной малигнизации:

Категория I – это неосложненные, простые, доброкачественные кисты почек, которые четко визуализируются ультразвуком, компьютерной или магнитно-резонансной томографией.

Категория II – доброкачественные, минимально осложненные кисты, которые характеризуются появлением перегородок, отложением кальция в их стенках, инфицированные кисты, а также гиперденсивные. Данная категория кист практически никогда не озлокачивается и нуждается в динамическом ультразвуковом наблюдении.

Категория III – эта группа более неопределенная и имеет тенденцию к озлокачиванию. Радиологические особенности включают нечеткий контур, утолщенные перегородки и неоднородные участки отложения кальция, при которых показано оперативное лечение.

Категория IV – образования имеют большой жидкостный компонент, неровный и даже бугристый контур и, что особенно важно, местами накапливают контрастное вещество за счет тканевого компонента, что косвенно указывает на малигнизацию [6].

Показаниями к операции при кисте почек являются: сдавление кистой мочевыводящих путей, сдавление кистой ткани почки, инфицирование полости кисты и формирование абсцесса, разрыв кисты, большие размеры кисты, болевой симптом и злокачественная гипертония. Большинство пациентов с размером кист более 3 см рано или поздно начинают испытывать боль. Гигантские же кисты почки размерами более 15 см являются довольно редким наблюдением в практике [15].

Hulbert в 1992 году впервые выполнил и описал технику лапароскопической кистэктомии [11]. Эта техника позволяет удалять солитарные, множественные, перипелвикальные и двусторонние почечные кисты в одной операции. Сегодня кистэктомия выполняется лапароскопическим и ретроперитонеоскопическим методами. Лапароскопический подход является минимально инвазивным способом, позволяет произвести декомпрессию кист под прямым контролем зрения. Лапароскопия является эффективным средством лечения больных аутосомно-доминантным поликистозом почек, у которых наблюдается болевой симптом (Bosniak II и III) [8].

В доступной нам литературе мы нашли лишь несколько случаев лапароскопического удаления гигантских кист почек [1, 7, 9, 12, 13, 14, 15]. Представленный нами слу-

чай является довольно редким наблюдением в урологической практике и, по нашему мнению, вызовет интерес у коллег.

Цель работы – наглядно продемонстрировать эффективность лапароскопического метода в хирургическом лечении гигантских кист почки.

Материал и методы исследования

Больной Х. 57 лет поступил в урологическую клинику Азербайджанского медицинского университета в ноябре 2010 года с жалобами на постоянные тупые, ноющие боли в правой поясничной области. Заболевание со слов больного началось приблизительно 4 месяца до госпитализации. При поступлении общее состояние удовлетворительное. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечаются ишемическая болезнь сердца и атеросклеротический кардиосклероз. Показатели общего и биохимического анализов крови в пределах нормы. При ультразвуковом исследовании (УЗИ) и контрастной компьютерной томографии (КТ) в органах брюшной полости патологических изменений не обнаружено. Размеры, толщина паренхимы и функциональное состояние почек удовлетворительны. В области переднего, заднего сегментов и верхнего полюса почки определяется солитарная киста размерами 16,5×12,5×10 см (рис. 1). Киста не имеет спаек с правой долей печени. В левой почке определяются четыре кисты размерами 1,5×1,5; 1,8×1,7; 3,1×2,4; 5,4×5,0 см (рис. 2). Абдоминальные и ретроперитонеальные лимфоузлы без изменений. Больному установлен диагноз: Гигантская киста правой почки, множественные кисты левой почки, ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз.

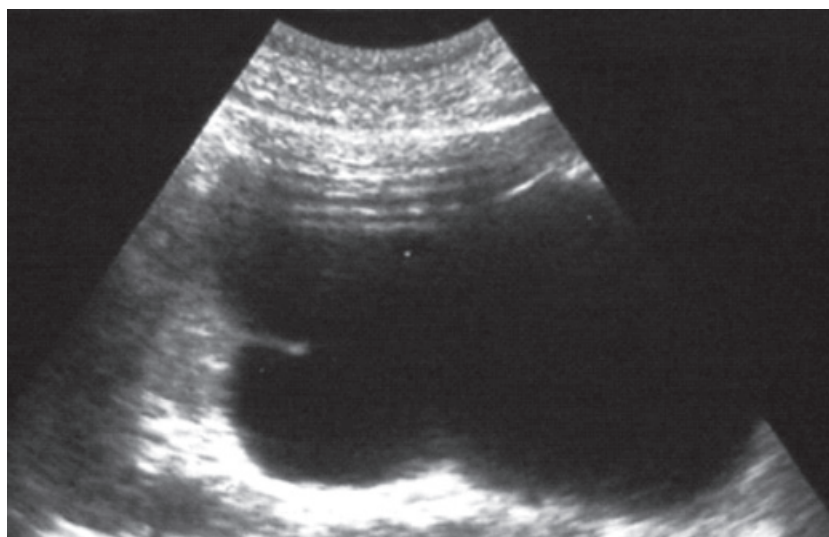


Рис. 1. УЗИ больного до операции. Гигантская киста правой почки. Почка из-за больших размеров кисты не визуализируется

Больному было выполнено лапароскопическое трансперитонеальное удаление гигантской кисты правой почки.

Пациент располагается в латеральной декубитальной позиции под углом 45 градусов. Учитывая местоположение кисты, первый порт (11 мм) был размещен на 2 см выше и дистальной пупка и создан пневмоперитонеум. Далее под лапароскопическим контролем

установили еще два порта (13 и 5 мм). После разделения спаек в брюшной полости, рассекли брюшину по задней стенке брюшной полости вдоль белой линии Тольдта до печеночного изгиба толстой кишки, далее отсепарировали толстую кишку от тканей забрюшинного пространства и обнажили фасцию Героты. Наружная поверхность кисты была полностью мобилизована от окружающих тканей (рис. 3).

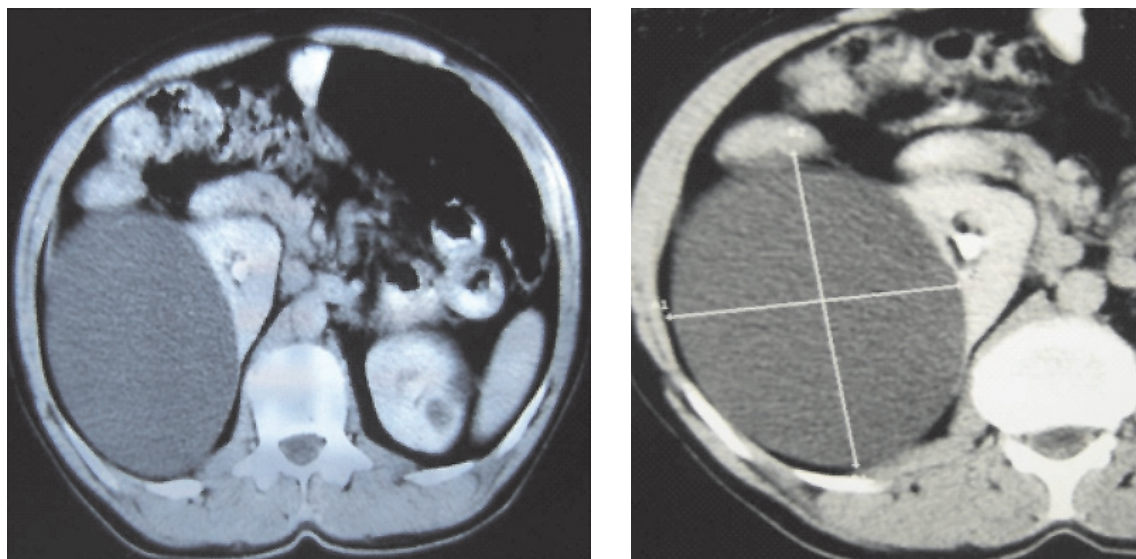


*Рис. 2. Компьютерная томография больного до операции.
Гигантская киста правой почки, ткань почки оттеснена под печень и к позвоночнику*

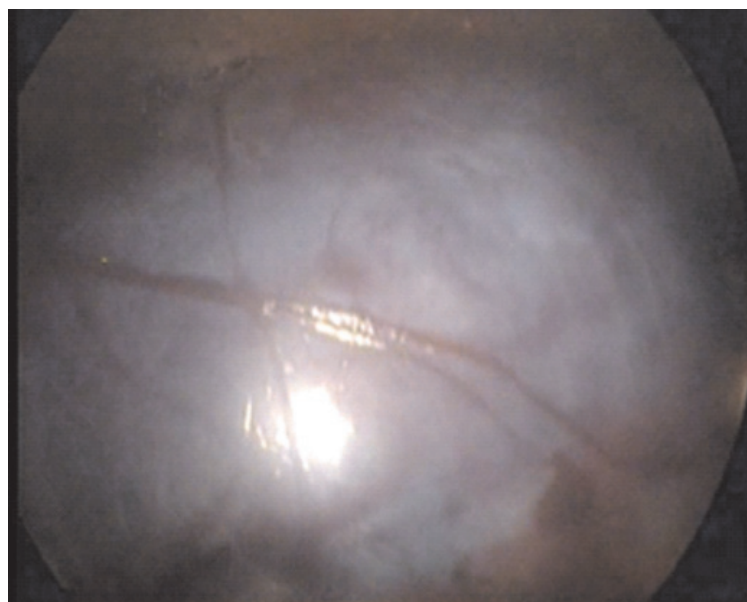


Рис. 3. Мобилизованная гигантская киста почки

Далее было произведено ее вскрытие на небольшом участке и аспирация содержимого, которое составило 1,6 л. Для иссечения стенок кисты использовали аппарат дозированного электротермического лигирования тканей «Liga surge» и эндоожигицы с коагуляцией. После полного иссечения краев кисты была установлена дренажная трубка (рис. 4). Длительность инсуффляции 65 минут, продолжительность операции составила 75 минут. Интраоперативное кровотечение – 20 мл. Время госпитализации 2 суток. На первые сутки выделения из дренажной трубки составили 40 мл, на вторые сутки выделений не наблюдалось. Дренажная трубка удалена, и больной в удовлетворительном состоянии был выписан. Результат патогистологического исследования: стенки иссеченной кисты состоят из фиброзных тканей.

Результаты исследования и их обсуждение

Лапароскопическая хирургия кист почек является современным и малотравматичным способом радикального удаления кист. Этот метод позволяет провести любое вмешательство на кисте, вплоть до нефрэктомии. При интрапаренхиматозной кисте почки, когда имеется высокий риск повреждения полостной системы почки, больного обязательно предупреждают перед лапароскопической операцией о возможности расширения объема вмешательства. Это может быть вылущивание кисты, резекция почки или нефрэктомия.



Рис. 4. Больной после операции

Естественно, не всегда киста почки является показанием к оперативному вмешательству или вообще активным действиям. Чаще всего, если киста не беспокоит больного, и тем более, если он даже не подозревал о ее наличии, достаточным бывает проведение динамического наблюдения. Это заключается в том, что больной раз в полгода – год должен проходить обследование у врача и проводить исследования (обычно УЗИ почек).

Стенка кисты состоит из соединительнотканной капсулы, выстланной плоскоклеточным и кубическим эпителием, в подавляющем большинстве случаев с хроническим воспалением. Кроме того, у некоторых больных при гистологическом исследовании в стенке кисты обнаруживаются мышечные волокна. Фиброзная капсула кисты изнутри выстлана эпителием, напоминающим эндотелий или мезотелий, а в коллагеновой ткани стенки кисты обнаружены дегенерированные нефроны, гладкомышечные волокна и клетки хронического воспаления. Эпителий кисты может быть прерывистым. У многих больных эпителиальная выстилка кисты отсутствует. В некоторых местах капсулы эпителий исчезает или атрофируется, а в других, наоборот имеет 2–3 слоя клеток. В отдельных случаях в толще стенки кисты наблюдаются отложения извести, эмбриональные включения, остатки ткани почки и даже надпочечника. Отложение извести в стенке кисты указывает на её «пожилой» возраст.

Насколько прозрачна и чиста консистенция жидкостного содержимого кисты при аспирации, настолько велика вероятность наличия доброкачественного процесса в почке [4]. При гигантских кистах наличие злокачественного процесса в почке не описано в ли-

тературе. В представленном нами больном во время аспирации мы наблюдали чистую и прозрачную жидкость, объем которой составил более 1600 мл, без наличия геморрагий и признаков воспаления. Размеры кисты, строение ее стенки, консистенция содержимого не вызвали у нас подозрений на наличие злокачественного процесса во время операции, что было также подтверждено данными патогистологического исследования.

Лапароскопическая резекция кисты почки является эффективным вмешательством с малым количеством осложнений и быстрой реабилитацией больных [1]. Возникающие интраоперационные осложнения могут быть устранены без конверсии при достаточных навыках оперирующего хирурга и соответствующем оснащении операционной. При наличии достаточного опыта и навыков ретроперитонеоскопический доступ является менее инвазивным и сводит к минимуму (хотя и не исключает) риск травмы внутренних органов [5, 8]. Но в данном случае оперативное вмешательство нами было выполнено трансперитонеальным доступом. Мы приняли такое решение исходя из гигантских размеров и местоположения кисты. Трансперитонеальный доступ позволил нам полностью мобилизовать внепочечные участки кисты от окружающих тканей, каких-либо интраоперационных осложнений не наблюдалось.

Успех лапароскопической абляции почечной кисты – это облегчение симптомов, наблюдается в среднем у 97% больных и отсутствие признаков повторения кисты у 92% пациентов, что превосходит по эффективности другие методы оперативного лечения [1, 3, 8].

Основными жалобами у нашего больного были постоянные тупые и периодически возникающие острые боли в правом боку, особенно возникающие в положении лежа на правом боку. После оперативного вмешательства у пациента полностью исчезло чувство боли, общее состояние было удовлетворительным спустя сутки, через несколько дней вернулся к активной жизни. Больной находился под наблюдением, исследования, проведенные через год после операции, выявили удовлетворительную функцию правой почки, отсутствие пиелюктазии, гидронефроза и наличия признаков повторения кисты. Больной был в полном здравии и не предъявлял никаких жалоб.

Заключение

Анализ мировой литературы и наш опыт лечения пациентов с кистами почек показали, что в настоящее время лапароскопическая и ретроперитонеоскопическая резекция кист почек считается безопасным и эффективным методом лечения.

Лапароскопия позволяет хирургу применить минимально инвазивный подход для обследования и лечения этой категории почечных патологических изменений. Киста в целом полностью может быть исследована под прямым контролем зрения и иссечена. Кроме того, можно выполнить декорткацию или марсупиализацию, не подвергая пациента открытой операции. Такой минимально инвазивный подход не только обладает диагностическими и терапевтическими достоинствами, но также укорачивает период послеоперационной болезненности и выздоровления пациента по сравнению с традиционными подходами открытой хирургии.

Представленный нами случай еще раз подтверждает мнение о том, что при помощи лапароскопического доступа можно удалить кисту почки любого размера и локализации. Марсупиализация гигантских кист почки при помощи лапароскопической техники является оптимальным и наименее инвазивным методом хирургического лечения [10,15].

Список литературы

1. Эндовидеохирургические методы иссечения простых кист почек / З.А. Кадыров, А.А. Самко, Ш.Ш. Гурбанов и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – №3. – С. 62–65.
2. Лопаткин Н.А., Мазо Е.Б. Простая киста почки. – М.: Медицина 1982. – 128 с.
3. Степанов В.Н., Кадыров З.А., Атлас лапароскопических операций в урологии – М.: Миклош, 2001. – С. 120.
4. Bellman G.C., Yamaguchi R., Kaswick J. Laparoscopic evaluation of indeterminate renal cysts. Urology. – 1995 Jun. – №45 (6). – P. 1066–70.
5. Bishoff J.T., Kavoussi L.P. Atlas of laparoscopic retroperitoneal surgery. – 2002. – 398 p.
6. Bosniak MA. Diagnosis and management of patients with complicated cystic lesions of the kidney // AJR Am J Roentgenol. – 1997 Sep. – №169 (3). – P. 819–21.

7. Ehrlich RM, Gershman A, Fuchs G. Laparoscopic renal surgery in children // J Urol. – 1994 Mar. – №151 (3). – P. 735–9.
8. Gill I.S. Textbook of laparoscopic urology. – New York, 2006. – 1202 p.
9. Hanash K.A., Al-Othman K., Mokhtar A., Al-Ghamdi A. Laparoscopic ablation of giant renal cyst // J. Endourol. – 2003 Nov. – №17 (9). – P. 781–4.
10. Hemal AK. Laparoscopic management of renal cystic disease. Urol Clin North Am. – 2001. – №28. – P. 115–126.
11. Hulbert JC. Laparoscopic management of renal cystic disease // Semin Urol. – 1992 Nov. – №10 (4). – P. 239–41.
12. Laparoscopic transperitoneal decortication of a giant peripelvic renal cyst / A. Mingoli, G. Brachini, B. Binda et al. // J Laparoendosc Adv Surg Tech A. – 2008 Dec. – №18 (6). – P. 845–7.
13. Nieh P.T., Bihrlle W. 3rd. Laparoscopic marsupialization of massive renal cyst // J Urol. – 1993 Jul. – №150 (1). – P. 171–3.
14. Singh I., Sharma D., Singh N. Retroperitoneoscopic deroofting of a giant renal cyst in a solitary functioning hydronephrotic kidney with a 3-port technique // Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. – 2003 Dec. – №13 (6). – P. 404–8.
15. Youness A, Abdelhak K, Mohammed F. et al. Remission of hypertension after treatment of giant simple renal cyst: a case report // Cases J. – 2009. – №2. – 9152 p.

References

1. Kadyrov Z.A., Samko A.A., Gurbanov Sh.Sh. i dr. Jendovideohirurgicheskie metody issecheniya prostykh kist pochek – Jeksperimental'naja i klinicheskaja urologija. Moskva. no. 3 2010. pp. 62–65.
2. Lopatkin N.A., Mazo E.B. Prostaja kista pochki. M. Medicina 1982, 128 p.
3. Stepanov V.N., Kadyrov Z.A., Atlas laparoskopicheskikh operacij v urologii – Moskva, Miklosh, 2001, pp. 120.
4. Bellman GC, Yamaguchi R, Kaswick J. Laparoscopic evaluation of indeterminate renal cysts. Urology. 1995 Jun; 45 (6):1066–70.
5. Bishoff J.T., Kavoussi L.P. Atlas of laparoscopic retroperitoneal surgery. 2002, 398 p.
6. Bosniak MA. Diagnosis and management of patients with complicated cystic lesions of the kidney. AJR Am J Roentgenol. 1997 Sep; 169 (3):819–21.
7. Ehrlich RM, Gershman A, Fuchs G. Laparoscopic renal surgery in children. J Urol. 1994 Mar; 151 (3):735–9.
8. Gill I.S. Textbook of laparoscopic urology. New York, 2006. 1202 p.
9. Hanash KA, Al-Othman K, Mokhtar A, Al-Ghamdi A. Laparoscopic ablation of giant renal cyst. J. Endourol. 2003 Nov; 17 (9):781–4.
10. Hemal AK. Laparoscopic management of renal cystic disease. Urol Clin North Am. 2001; 28, hp. 115–126.
11. Hulbert JC. Laparoscopic management of renal cystic disease. Semin Urol. 1992 Nov; 10 (4):239–41.
12. Mingoli A, Brachini G, Binda B et al. Laparoscopic transperitoneal decortication of a giant peripelvic renal cyst. J Laparoendosc Adv Surg Tech A. 2008 Dec; 18 (6):845–7.
13. Nieh PT, Bihrlle W 3rd. Laparoscopic marsupialization of massive renal cyst. J Urol. 1993 Jul; 150 (1):171–3.
14. Singh I, Sharma D, Singh N. Retroperitoneoscopic deroofting of a giant renal cyst in a solitary functioning hydronephrotic kidney with a 3-port technique. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. 2003 Dec; 13 (6):404–8.
15. Youness A, Abdelhak K, Mohammed F. et al. Remission of hypertension after treatment of giant simple renal cyst: a case report. Cases J. 2009; 2: 9152.

Рецензенты:

Джамалов Ф.Г., д.м.н., доцент кафедры хирургии Педиатрического факультета Азербайджанского медицинского университета, г. Баку;

Абдуллаев К.И., д.м.н., профессор, директор ООО Урологического центра, г. Баку.
Работа поступила в редакцию 05.04.2012.

УДК 616.72-002.772

ДЕБЮТ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В СТАРЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ**Калюта Т.Ю., Артанова Е.Л., Кац Я.А.***ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России»,
Саратов, e-mail: Kateha007@bk.ru*

Ревматоидный артрит поражает преимущественно население старшего возраста и имеет свои особенности при дебюте у лиц пожилого и старческого возраста. В данной ситуации требуется проведение дифференциального диагноза с другими заболеваниями суставов и неопластическим процессом. В статье отражены современные воззрения на особенности протекания РА в пожилом и старческом возрасте, особенности дифференциально-диагностического поиска при дебюте суставного синдрома у пожилых и взгляд на РА как паранеопластический процесс. Данные исследований, в которых авторы описывают типичное для РА начало в пожилом возрасте, противоречивы. Одни авторы описывают характерное острое начало, по другим данным, у пожилых чаще встречается хроническое начало болезни. Представленный клинический случай показателен как редкий вариант дебюта РА в старческом возрасте, при котором полученные клинические, лабораторные и инструментальные данные позволили выделить predisposing факторы, подтвердить описанную в литературе тенденцию к развитию болезней соединительной ткани у пациентов с синдромом дисплазии соединительной ткани, охарактеризовать начало РА в данном случае как процесс с низкой степенью активности и подтвердить литературные данные о том, что постановка диагноза чаще связана с проявлением выраженной активности процесса независимо от характера начала болезни. Описанный клинический случай является подтверждением эффективности и безопасности применения препарата Арава (лефлуноמיד) у пожилых пациентов с РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, пожилой возраст, старческий возраст, арава**DEBUT RHEUMATOID ARTHRITIS IN OLD AGE****Kalyuta T.Y., Artanova E.L., Kats Y.A.***Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: Kateha007@bk.ru*

Rheumatoid arthritis affects mostly older people and its debut in elderly and senile patients has some particular features. Occurrence of RA in senile patients stands the question of differential diagnosis between RA, other joint diseases and neoplastic processes. The article reflects current views on some particular features of course of RA in elderly and senile age, differential diagnostic in the debut of joint syndrome in elderly people and the view on RA as a paraneoplastic process. The view of different authors on the typical beginning of RA in the elderly is controversial. Some authors describe a typical acute onset; according to other studies, chronic onset is more common in elderly people. The present clinical example represents a rare variant of the debut of RA in senile age, in which the clinical, laboratory and instrumental data gives the possibility of identification of predisposing factors, described in the literature, to confirm the tendency of development of connective tissue diseases in patients with connective tissue dysplasia syndrome. This clinical case illustrates the beginning of RA with low degree of activity within several years, but represents the characteristic example of association of clinical diagnosis and beginning of specific treatment with severe manifestation of RA activity regardless of the nature of illness onset. The above case report confirms the effectiveness and safety of the drug Arava (leflunomide) in elderly patients with RA.

Keywords: rheumatoid arthritis, old age, senile age, arava

Ревматоидный артрит, поражающий около 1% взрослого населения преимущественно старшего возраста, имеет особенности клиники при его дебюте у лиц пожилого и старческого возраста. По классификации ВОЗ, лицами пожилого возраста считаются люди 60–74 лет, а лица 75–89 лет – лицами старческого возраста, более 90 лет – долгожителями [2]. В нашей стране последние возрастные категории встречаются в практике ревматолога достаточно редко, учитывая среднюю продолжительность жизни нашего населения и влияние самих ревматических заболеваний на демографические показатели [2].

Ревматоидный артрит – системное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением мелких суставов по типу эрозивно-деструктивного полиартрита неясной этиологии со сложным аутоиммунным патогенезом [3, 6].

Дебют заболевания может быть острым, подострым и хроническим [3, 6]. Острое начало чаще отмечается у лиц молодого возраста и характеризуется быстрым (в течение нескольких дней, а иногда и часов) развитием ярких артритов с присоединением лихорадки, миалгии, развитием выраженной общей скованности и тяжелого состояния [3]. При подостром начале болезни признаки воспаления нарастают в течение 1–2 недель. Артралгии могут быть умеренными, без нарушения функции суставов. Возможен субфебрилитет. Этот вариант начала болезни чаще возникает у лиц среднего возраста, особенно у женщин [3, 6].

В пожилом возрасте, по данным некоторых авторов, начало РА часто характеризуется низкой степенью активности воспалительного процесса, что при ретроспективной оценке классифицируется как «хроническое» течение заболевания» [6].

В таких случаях признаки суставного синдрома развиваются постепенно в течение нескольких месяцев [3, 6]. Внесуставные проявления болезни отмечаются не чаще чем в 20 % случаев [3, 6].

Примерно у 2/3 больных пожилого возраста РА начинается с симметричного олигоартрита, у 1/3 – с симметричного полиартрита [3, 6]. Поражение крупных суставов в дебюте заболевания отмечается в 30 % случаев [3, 6].

По данным других авторов [10], начало ревматоидного артрита у пожилых лиц имеет более острое, практически без prodromы, начало болезни. Отмечается преимущественное поражение крупных суставов, а не мелких суставов кистей и стоп [10]. Отмечена нивелировка в половом соотношении: соотношение мужчин и женщин равно 1:1, в то время как в более молодом возрасте преобладают лица женского пола (мужчины/женщины = 1/3 – 4) [10].

Однако следует заметить, что специфичные для РА иммунологические реакции не могут сформироваться за несколько часов или даже дней. Поэтому при описании авторами острого начала РА не акцентируется внимание на наличие предболезни либо преморбидного периода, имеющего свои клинические проявления [4, 5]. По данным литературы, преморбидный период для РА часто характеризуется общими признаками текущей в организме воспалительной реакции – недомогание, лихорадка, снижение переносимости физической нагрузки [6]. К этапу предболезни в широком смысле этого слова

следует отнести и наличие врожденной генетической предрасположенности, ассоциированной с более частым, чем в популяции, развитием РА, определяемой как наличие специфических HLA-антигенов [1], фенотипически чаще проявляющейся признаками дисплазии соединительной ткани [1, 4, 5]. Существует много подтверждений этому положению. Так, в настоящее время большое количество работ в литературе посвящено гипотезе, согласно которой системные заболевания развиваются на почве дисплазии соединительной ткани (ДСТ) [1, 4, 5].

Учитывая эволюцию РА и его гетерогенность (наличие т.н. субтипов, ассоциированных с различными антигенами гистосовместимости) [1], дебют РА может быть самым разнообразным, и также разнообразной может быть оценка исследователем и лечащим врачом клинических и анамнестических данных.

Рентгенологическое исследование обладает малой чувствительностью в отношении выявления типичных для РА эрозивных поражений на ранних стадиях развития болезни, в связи с чем возможно несоответствие рентгенологической картины и функционального состояния пациента [3]. Формирование эрозий отмечается у 30 % пациентов в первые полгода с момента дебюта РА [3]. В таких случаях рекомендуется проведение МРТ и УЗИ суставов.

По данным литературы, органные поражения при РА у пожилых встречаются с несколько иной частотой, чем у лиц более молодого возраста (табл. 1) [3, 6].

Таблица 1

Частота внесуставных проявлений при РА у лиц разных возрастов

Органное поражение	Молодые (до 60 лет)	Пожилые (60–74)	Старческий возраст (старше 75 лет)
	С. Turesson, 2006 [3]	А.М. Сатыбалдыев 2007 [6]	А.М. Сатыбалдыев 2007 [6]
Ревматоидные узелки	40 %	20 %	20 %
Капилляриты	26 %	15 %	15 %
Полинейропатия	20 %	8 %	8 %
Альвеолярный фиброз	14 %	5 %	5 %
Синдром Рейно	15 %	1 %	1 %
Перикардит, плеврит	5 %	Менее 1 %	Менее 1 %
Нефрит	8 %	Менее 1 %	Менее 1 %
Полимиозит	3 %	Менее 1 %	Менее 1 %

Начало ревматоидного артрита в пожилом возрасте требует проведения дифференциального диагноза с остеоартрозом, при котором может развиваться синовит и ограничение подвижности суставов, с кристаллическими артропатиями, в том числе – с подагрой, исключения ревматической полимиалгии, а так-

же проведения онкопоиска [3, 6, 7]. Серонегативные варианты ревматоидного артрита необходимо дифференцировать с ремиттирующим серонегативным симметричным синовитом с выраженным отеком [6].

Дебют клинических проявлений, характерных для РА, предполагает наличие у по-

жилого человека одной из двух ситуаций: первая – сочетание опухолевого процесса и РА, один из которых предшествует появлению другого. В данной ситуации идет речь о сочетании и взаимовлиянии патологий без причинно-следственной связи между ними. Вторая – появление РА как паранеопластического синдрома, развившегося в результате аутоиммунных реакций, обусловленных возникновением и прогрессированием опухолевого процесса. По данным литературы, из костно-суставных поражений при неоплазиях наиболее часто наблюдается клиника ревматоидного артрита [3, 6, 7]. Проявления РА, по данным различных онкологов, встречаются у 13% онкологических больных и чаще наблюдаются при опухолях легкого и желудочно-кишечного тракта. Суставной синдром в данном случае чаще проявляется симметричным полиартритом с вовлечением мелких суставов кистей и стоп. У некоторых больных наблюдаются подкожные ревматоидные узелки, рентгенологические признаки длительно текущего ревматического процесса – эрозивные изменения суставных поверхностей эпифизов. Эти изменения могут возникать уже на ранних стадиях злокачественного роста, они отличаются резистентностью к глюкокортикостероидам и цитостатикам, применяющимся для лечения этих заболеваний, и чаще всего исчезают после радикального удаления опухоли. Эффект от терапии в данном случае может быть одним из надежных критериев постановки диагноза.

Полиморбидность – наиболее актуальная проблема современной клинической гериатрической практики. В среднем при клиническом обследовании больных пожилого и старческого возраста диагностируется не менее 4–5 болезней, проявлений патологических процессов [3, 6]. Взаимовлияние заболеваний изменяет их классическую клиническую картину, характер течения, увеличивает количество осложнений и их тяжесть, ухудшает качество жизни и прогноз [3, 6]. При сравнении 2 групп больных, вошедших в базу данных США (CORRONA) [3, 6], заболевших РА в возрасте 40–50 лет и заболевших в возрасте старше 60 лет, оказалось, что у пожилых больных чаще диагностировали коморбидные состояния: поражение коронарных сосудов, инфаркт миокарда, артериальную гипертензию, инсульт и др. Анемия, согласно данным литературы, является одним из наиболее распространенных гематологических нарушений у больных ревматоидным артритом (РА) [2, 3, 6], и частота ее, по разным данным, составляет от 16 до 70% [3, 6]. Одни авторы считают ане-

мию осложнением РА [3, 6], другие относят к внесуставному проявлению РА [3, 6]. У 12 – 65% больных РА она связана с дефицитом железа [2, 3].

Возраст больных играет большую, а иногда и определяющую роль в выборе базисной терапии РА [8, 9]. Аминохинолиновые препараты у пожилых увеличивают риск развития ретинопатии, дегенеративных изменений макулярной области, однако стоит помнить, что данные явления купируются после отмены препарата. D-пеницилламин вызывает более частое возникновение дерматозов и вкусовых расстройств. При назначении препаратов золота требуется более частый контроль за гематологическими показателями, состоянием функции почек. Возрастных различий по индексу токсичности не выявлено для метотрексата и азатиоприна. Тем не менее через 50 мес. прекратили прием этих препаратов 30% больных старше 65 лет и лишь 10% моложе этого возраста. По данным биопсии почек, нефропатия при лечении циклофосфаном развилась в 20% случаев у лиц пожилого возраста и лишь у 1% 20-летних больных РА. При приеме азатиоприна отмечено более частое развитие оппортунистических инфекций у пожилых больных, чем у пациентов молодого возраста [8, 9].

Имеются данные по лечению пожилых больных РА лефлуномидом, которые свидетельствуют о выраженном эффекте препарата на суставной синдром с замедлением деструктивных изменений в суставах через год регулярного приема препарата и относительно невысоким риском серьезных побочных реакций. Лефлуномид – препарат, созданный специально для лечения РА. Побочные реакции, связанные с применением лефлуномида при лечении РА, включают диарею, увеличение активности печеночных ферментов (АЛТ и АСТ), алопецию и сыпь. Данные явления наблюдаются менее чем в 3% случаев [8, 9].

Описание клинического случая

Больная П.А.С., 82 лет, поступила в терапевтическое отделение с жалобами на выраженное снижение массы тела за последний год (около 10 кг), слабость, боли в суставах – коленных, лучезапястных, плечевых, мелких суставах кистей (проксимальных межфаланговых и пястно-фаланговых) – как спонтанное, так и при движениях, больше – в утреннее время, утреннюю скованность в суставах в течение 2–3 часов, отеки суставов кистей и коленных, выраженное ограничение движений в данных суставах.

Из анамнеза заболевания известно, что в течение последних 2–3 лет стала замечать

постепенно развивающееся отклонение среднего и безымянного пальцев левой кисти (ульнарная девиация), эпизодические ноющие боли в суставах кистей рук, а также боли и ограничение движения в левом плечевом суставе, уменьшающиеся после местного применения обезболивающих мазей. По этому поводу не обследовалась, обслуживала себя самостоятельно. Резкое ухудшение отметила в августе 2011 года после переохлаждения. Быстро, в течение нескольких дней, появились выраженные боли в суставах правой кисти, усиливающиеся при движениях. Затем присоединились отек и утренняя скованность в правой руке, через несколько дней – в левой кисти, потом – в коленных суставах. Отмечала повышение температуры, при измерении фиксировала цифры до 37,3 °С. С середины сентября стала отмечать боли и в плечевых суставах, голеностопных суставах, больше – в правом. В связи с вышеперечисленными жалобами 28 сентября обратилась в КБ им. С.Р. Миротворцева и была госпитализирована.

Из анамнеза жизни – в детстве травма сухожилий среднего, безымянного пальцев и мизинца правой кисти с последующим формированием сгибательной контрактуры под 90 градусов. Наследственные заболевания отрицает. Сестра и брат – долгожители (82 и 86 лет), смерти в обоих случаях неестественные (ДТП, отравление). У пациентки сохранена память на ближайшие и отдаленные события, высокая толерантность к нагрузкам, однако в последние полгода стала отмечать небольшую одышку инспираторного характера при быстрой ходьбе.

При поступлении – температура 36,5 °С. Кожа чистая, сухая, бледной окраски, лимфатические узлы не пальпируются. Отмечался выраженный отек над пястно-фаланговыми, проксимальными межфаланговыми суставами обеих кистей, больше – справа, отек лучезапястных суставов и правого голеностопного сустава, небольшой отек правого коленного сустава, левого плечевого сустава; выраженное ограниче-

ние подвижности суставов (отведение в левом плечевом 30°, в правом 50°); ульнарная девиация среднего и безымянного пальцев левой кисти; выраженная болезненность при пальпации данных суставов.



Форма грудной клетки нормальная, ЧДД 16 уд. в минуту, при перкуссии ясный легочный звук над всеми полями, дыхание везикулярное. По органам кровообращения – верхушечный толчок в V межреберье на 1,5 см кнутри от левой срединно-ключичной линии, границы сердца соответствуют норме. При аускультации деятельность сердца ритмичная, на верхушке – I тон равен II тону, короткий систолический шум, проводящийся в подмышечную область, на аорте – систолический убывающий шум, проводящийся на сосуды шеи и короткий диастолический шум; ЧСС 76 уд. в минуту, пульс одинаковый на обеих руках, удовлетворительных качеств, ритмичный 76 уд. в минуту, артериальное давление – 130 и 80 мм рт. ст. По органам пищеварения – язык чистый, влажный, глотание свободное, живот без особенностей, пальпация его безболезненная, печень и селезенка не пальпируются, размеры печени по Курлову 9×8×7 см. Мочевыделительная система – почки не пальпируются, поколачивание по пояснице безболезненное.

Пациентки проведено обследование с целью уточнения диагноза и исключения онкологического процесса. Результаты:

1. ОАК

Показатели	29.09.2011	10.10.2011	17.10.2011	Норма
Эритроциты	$3,43 \cdot 10^{12}/л$	3,71	4,06	$3,7-4,7 \cdot 10^{12}/л$
Лейкоциты	$7,23 \cdot 10^9/л$	11,9	11,55	$4-8,8 \cdot 10^9/л$
Тромбоциты	$236 \cdot 10^3/л$	290	243	$170-380 \cdot 10^3/л$
Гемоглобин	107 г/л	116	125	120–140 г/л
СОЭ	58 мм/ч	47	17	3–15 %
Эозинофилы	1 %	–	3	0–5 %
Палочкоядерные	1 %	3	2	1–6 %
Сегментоядерные	61 %	73	58	45–70 %
Лимфоциты	24 %	19	30	4–17 %
Моноциты	13 %	5	7	0–3 %

2. Биохимический анализ крови

Показатели	29.09.2011	10.10.2011	17.10.2011	Норма
Общий белок	71,6 г/л	74,5	73,1	66–88
АЛТ	11,6	21,2	34,5	окт. 45
АСТ	16,8	20,2	21,8	окт. 35
Глюкоза	6,32 ммоль/л	4,37	5,6	3,5–5,5
Билирубин	8,1 мкмоль/л	6,1	10,5	1,7–20,5
Холестерин	5,35 ммоль/л	6,74	6,18	2,2–5,5
Мочевина	5,7 ммоль/л	10,5	7,7	1,7–8,3
Креатинин	88,5 мкмоль/л	86,8	95,3	44–110
Альбумины	37,6 г/л	39,2	39,7	35–55
Na	135,1 ммоль/л	137,8	140,2	136–150
K	4,53 ммоль/л	4,69	4,31	3,5–5,5
ЦИК	7 Ед	–	7	До 50
РФ	64 Ед	–	60	До 40
Железо сыворотки	6,5 мкмоль/л	11,9	14,8	10,7–32,5

3. *ОАМ* – соломенно-желтого цвета, прозрачная, реакция кислая, уд. вес 1017, белок, сахар отрицательный, лейкоциты – 0–1 в п/зр.

4. *ЭКГ* – ритм синусовый с ЧСС 71 уд. в минуту, горизонтальное положение ЭОС. Отрицательные зубцы «Т» в отведениях V1–V3.

5. *УЗИ органов брюшной полости* – УЗ-признаки хронического калькулезного холецистита, вторично сморщенного желчного пузыря, диффузных изменений поджелудочной железы.

6. *УЗИ органов малого таза* – УЗ-признаки серозометры. Полип эндометрия 9×5 мм.

7. *Допплероэхокардиография* – атеросклеротические изменения стенок аорты, полулунный аортальный клапана, фиброзного кольца и створок митрального клапана, умеренно выраженные. Умеренное расширение корня аорты, небольшое расширение восходящего отдела грудной аорты. Незначительно выраженный кальциноз аортального клапана. Аортальная регургитация I степени. Митральная регургитация I степени. Незначительное количество жидкости в полости перикарда, до 100 мл.

8. *Рентгеноскопия желудка* – пищевод свободно проходим для контраста, многократно изогнут, в просвете его – слизь. Кардия расположена на 9 см выше диафрагмы. Кардио-фундальный отдел и часть тела желудка внутригрудной локализации. Другие отделы желудка и 12-перстная кишка не изменены. При исследовании в горизонтальном положении отмечался заброс бария из желудка в пищевод. Заключение: Большая грыжа пищеводного отверстия диафрагмы. Несостоятельность кардии. Гастро-эзофагиальный рефлюкс. Эзофагит.

9. *Рентгеноскопия органов грудной клетки* – легочная ткань эмфизематозна.

Синусы плевры свободны. Диафрагма подвижна. Сердце несколько увеличено за счет левого желудочка. Аорта склерозирована.

10. *Ирригоскопия* – в сигме обнаружено множество выпячиваний стенки округлой и неправильной формы от 0,3 до 1,0 см. В остальных заполненных отделах просвет нормальный. После опорожнения получен нормальный рельеф слизистой оболочки во всех отделах. Контраст в выпячиваниях стенки сигмы сохраняется. Заключение: дивертикулы сигмы.

11. *УЗИ щитовидной железы* – узловое поражение щитовидной железы. Гипоэхогенный неоднородный узел 12×10×11 мм в левой доле и гипоэхогенный однородный узел 12×8×12 мм в правой доле. В узлах – малоинтенсивный кровоток по периферии. Лимфоузлы не визуализируются.

12. *Рентгенография суставов кистей* – определяется вынужденное согнутое положение III–V пальцев правой кисти (посттравматическая контрактура). Определяется диффузный остеопороз. Щели межфаланговых суставов II пальца правой кисти и II–V пальцев левой кисти неравномерно сужены, в III пальце подвывих с ульнарной девиацией. Замыкательные суставные поверхности нерезко деформированы, вблизи них – мелкие кистовидные просветления. Ульнарная девиация ногтевых фаланг II пальцев. Заключение: полиартрит, скорее всего ревматоидный.

13. *УЗИ лучезапястных суставов* – суставные поверхности лучевых костей и костей запястья неровные, заостренные, изъязвленные; пястных костей – ровные. Суставные щели сужены, в лучезапястных суставах небольшое количество жидкости, теносиновит сгибателей II–IV пальцев и общего сухожилия разгибателей правого лучезапястного сустава. Заключение: с обе-

их сторон артрозо-артрит лучезапястного сустава, артроз суставов кисти справа, теносиновит сухожилий сгибателей и разгибателей.

14. Консультация гинеколога – атрофический вульвовагинит.

Проведенное обследование не выявило убедительных данных за наличие неопластического процесса. Узловое поражение щитовидной железы расценено как доброкачественный узловый зоб. Наличие жидкости в полости перикарда объясняется, вероятнее всего, основным заболеванием (РА).

При обследовании у нашей пациентки выявлены стигмы ДСТ: грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, гастроэзофагальный рефлюкс, дивертикулез кишечника. Выраженность ДСТ оценивалась по критериям Смольновой (2001 г.). Согласно современным представлениям, ДСТ можно рассматривать как предболезнь РА [1, 4, 5].

Таким образом, по развитию заболевания, наличию клиники поражения органов-мишеней, эффекту от терапии пациентке поставлен диагноз РА и подсчитан критерий DAS28 в соответствии с рекомендациями ACR/EULAR 2010 г. (табл. 2) [8]:

Таблица 2

Критерии ACR/EULAR (2010 г.)

Категории	Характеристика	Баллы ACR/EULAR	Баллы пациентки
А. Поражение суставов, исключая дистальные межфаланговые, первый запястно-пястный, первый плюснефаланговый	1 большой сустав	1	4
	2–10 больших суставов	2	
	1–3 малых суставов.	3	
	4–10 малых суставов.	4	
	> 10 суставов (хотя бы 1 малый сустав)	5	
В. Серологический тест	Отрицательные РФ и АЦП	0	1
	Слабо + тесты на РФ или АЦП	1	
	Высоко + тесты на РФ или АЦП	2	
С. Маркеры острой фазы воспаления	Нормальный С-реактивный белок и СОЭ	0	1
	Аномальные С-реактивный белок и СОЭ	1	
D. Длительность симптомов	< 6 недель	0	1
	> = 6 недель	1	

$$\text{DAS28} = 0,56^{\text{ЧБС}} + 0,28^{\text{ЧПС}} + 0,701\text{пСОЭ} + 0,014\text{ООСЗ} = \\ = 0,56^8 + 0,28^6 + 0,70 \ln 58 + 0,014 \cdot 70 = 6,1,$$

где ЧБС – число болезненных суставов, ЧПС – число припухших суставов, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ООСЗ – общая оценка состояния здоровья.

Диагноз: ОСН. Ревматоидный полиартрит с поражением коленных, лучезапястных, плечевых суставов и суставов кисти, высокой степени активности (DAS28 – 6,1) серопозитивный, активность II, ФН II.

СОП. Грыжа пищеводного отверстия диафрагмы. Рефлюкс-эзофагит. Дивертикулез сигмовидной кишки. Узловой зоб. Хронический калькулезный холецистит, вне обострения. Серозометра. Полип эндометрия.

ОСЛ. Хроническая поливалентная анемия легкой степени тяжести.

Данные подробного расспроса пациентки позволили сделать вывод о том, что поражения суставов сформировались постепенно, в течение 2–3 лет без выраженной болевой симптоматики и других клинических проявлений болезни, до поступления

в стационар с выраженной активностью процесса. Таким образом, данный клинический случай является редко встречающимся дебютом ревматоидного артрита в старческом возрасте (79–80 лет).

Следует констатировать, что у данной пациентки дебют РА носил маломанифестный характер, а лишь спустя несколько лет появилась клиника обострения РА с выраженной степенью активности, которая была спровоцирована переохлаждением.

Лечение. Учитывая необходимость дифференциальной диагностики, пациентке в первые дни были назначены ибупрофен по 400 мг 2 раза в сутки, преднизолон 20 мг в сутки перорально в течение 7 дней с постепенной отменой, а затем были получены данные обследований, свидетельствовавшие против паранеопластического процесса и подтверждавшие РА, после чего преднизолон и НПВП были быстро отменены и назначена Арава 100 мг сутки первые

3 дня, затем по 20 мг в сутки. С целью коррекции анемии был дан сорбифер-дурулес 1 таблетка 1 раз в сутки (учитывая данные о сниженном железе сыворотки), для профилактики эрозивно-язвенных поражений на фоне терапии НПВС, цитостатиками – омепразол 20 мг 2 раза в сутки. На фоне проводимой терапии в течение 20 дней отмечалась быстрая положительная динамика – уменьшились, а затем и купировались боли в суставах, уменьшилась, а затем исчезла отечность кистей и коленных суставов, уменьшилась продолжительность утренней скованности с 6–8 до 2–3 часов, а затем и до 1–1,5 часов, индекс DAS28 при выписке – 4,5. Пациентка выписана из стационара с рекомендациями: омепразол 20 мг 2 раза в сутки, аравы 20 мг в сутки, прием поливитаминов и препаратов железа с контролем ОАК в динамике каждые 2 недели. Через 4 недели уровень показателей ОАК сохранялся в пределах нормы, без тенденции к цитопении. Клинических данных за возникновение побочных эффектов, связанных с приемом Аравы, не было, и пациентке было рекомендовано продолжение проводимой терапии, с контролем ОАК в динамике каждые 4 недели и наблюдение у ревматолога по месту жительства.

Обсуждение. Представленный клинический случай показателен как редкий вариант дебюта РА в старческом возрасте, при котором полученные клинические, лабораторные и инструментальные данные позволили выделить предрасполагающие факторы, этап предболезни, подтвердить описанную в литературе тенденцию к развитию болезней соединительной ткани у пациентов с синдромом дисплазии соединительной ткани, и связь активизации воспалительного процесса с переохлаждением. Клинические и анамнестические данные позволили охарактеризовать начало РА в данном случае как процесс с низкой степенью активности и подтвердить литературные данные о том, что постановка диагноза чаще связана с проявлением выраженной активности процесса независимо от характера начала болезни.

При обследовании у данной пациентки выявлено несколько сопутствующих заболеваний, что соответствует представленным разными авторами данным о коморбидности у пожилых [3], и в том числе, у пациентов с РА [3]. Наличие постепенного (в течение года) развития нарастающих явлений нарушений энергетики и потери массы тела (около 10 кг), выявленные образования в виде полипа эндометрия, узлового зоба делали необходимым исключить

паранеопластический процесс. Отсутствие данных морфологических исследований с одной стороны и быстрый положительный эффект от терапии с другой позволяют «склониться» в пользу ревматоидного артрита с последующим проведением активного наблюдения за больной. Выявленная у нашей пациентки анемия носит, вероятно, поливалентный характер. Отмечается снижение железа в сыворотке, которое часто наблюдается у пожилых [2] и в данном случае может объясняться как вышеупомянутой причине, так и наличием РА.

Описанный клинический случай является подтверждением эффективности и безопасности применения препарата Аравы (лефлуномид) у пожилых пациентов с РА.

Список литературы

1. Александров А.В., Гонтарь И.П., Ненашева Н.В., и др. / Проблемы диагностики хронических иммуновоспалительных заболеваний: применение иммунологических исследований для выделения субтипов ревматоидного артрита // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т.9, №3. – С. 333–334.
2. Балабанова Р.М., Каптаева А.К. / Особенности клинической картины и лечения ревматоидного артрита в пожилом возрасте // Consilium Medicum. – 2006. – С. 12–8.
3. Бочкова А.Г. Ревматоидный артрит с дебютом в пожилом возрасте: течение и терапия // Клиническая геронтология: ежеквартальный научно-практический журнал. – 2002. – Т. 8, №3. – С. 45–50.
4. Кац Я.А. Дисплазия соединительной ткани – предболезнь некоторых ревматических заболеваний // Человек и лекарство: XIV Российский национальный конгресс. – 2007. – С. 365.
5. Кац Я.А. «соединительнотканый континуум» и органосклерозы при некоторых заболеваниях соединительной ткани // Форум «Кардиология – 2009».
6. Сатыбалдыев А.М. Ревматоидный артрит у пожилых // Consilium medicum: журнал доказательной медицины для практикующих врачей. – 2007. – Т.9, №12. – С. 85–92.
7. Сатыбалдыев А.М., Акимова Т.Ф., Иванова М.М. Ранняя дифференциальная диагностика ревматоидного артрита и остеоартроза у лиц пожилого возраста // Клин. гериатрия. – 2004. – №6. – С. 39–45.
8. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., et al. (September 2010). 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative // *Ann. Rheum. Dis.* 69 (9): 1580–8. doi:10.1136/ard.2010.
9. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines // Guidelines for the Management of Rheumatoid Arthritis. 2002 Update. Arthritis Rheumatism. – 2002. – №46. – P. 328–346.
10. Mastbergen S.C., Jansen N.W.D., Bijlsma J.W. and Laferte F. Differential direct effects of cyclo-oxygenase-1/2 inhibition on proteoglycan turnover of human osteoarthritic cartilage: an in vitro study. – *Arthrit Res Ther* 2006; 8: R2 doi:10.1186/ar1846.

References

1. Aleksandrov A.V., Gontar I.P., Nenasheva N.V., i dr. *Problemy diagnostiki hronicheskikh immunovospalitel'nykh zabolevanij: primenenie immunologicheskikh issledovanij dlja vydeleniya subtipov revmatoidnogo artrita – Allergologija i imunologija.* 2008, T.9, no. 3. pp. 333–334.

2. Balabanova R.M., Kaptaeva A.K. *Osobennosti klinicheskoy kartiny i lecheniya revmatoidnogo artrita v pozhilom vozraste* – *Consilium Medicum* 2006; 12-8.
3. Bochkova A.G. *Revmatoidnyj artrit s debjutom v pozhilom vozraste: techenie i terapija* // *Klinicheskaja gerontologija: ezhekvartal'nyj nauchno-prakticheskij zhurnal*. 2002. Tom 8, no. 3. pp. 45–50.
4. Kac Ja.A. *Displazija soedinitel'noj tkani – predbolezni' nekotoryh revmaticheskikh zabojevanij. XIV Rossijskij nacional'nyj kongress «Chelovek i lekarstvo»* 2007. pp. 365.
5. Kac Ja.A. *«Soedinitel'notkannyy kontinuum» i organoklerozy pri nekotoryh zabojevanijah soedinitel'noj tkani*. Forum «Kardiologija – 2009».
6. Satybaldyev A.M. *Revmatoidnyj artrit u pozhihlyh – Consilium medicum: zhurnal dokazatel'noj mediciny dlja praktikujuvih vrachej*. 2007. Tom 9, no.12. pp. 85–92.
7. Satybaldyev A.M., Akimova T.F., Ivanova M.M. *Rannaja differencial'naja diagnostika revmatoidnogo artrita i osteoartroza u lic pozhilogo vozrasta. Klin. geriatrija*. 2004; 6: 39- 45.8. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. (September 2010). *2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Ann. Rheum. Dis.* 69 (9): 1580–8.doi:10.1136/ard.2010.
9. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. *Guidelines for the Management of Rheumatoid Arthritis*. 2002 Update. *Arthritis Rheumatism*.2002;46:328–346.
10. Mastbergen S.C., Jansen N.W.D., Bijlsma J.W. and Lafeber F. *Differential direct effects of cyclo-oxygenase-1/2 inhibition on proteoglycan turnover of human osteoarthritic cartilage: an in vitro study*. *Arthrit Res Ther* 2006; 8: R2 doi:10.1186/ar1846.

Рецензенты:

Митрофанов В.А., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела новых технологий в ортопедии ФГБУ «Саратовский НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий», г. Саратов;

Шилкина Н.П., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней Ярославской государственной бюджетной медицинской академии, г. Ярославль.

Работа поступила в редакцию 20.02.2012.

УДК 614.2:618.1–036.8

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ЖЕНЩИН С НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ

Кокова Д.Х., Лучкевич В.С., Костючек Д.Ф.*Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, e-mail: luchkevich@mail.ru*

Проведено медико-социологическое изучение здоровья и качества жизни женщин в динамике до и после органосохраняющих операций. Разработана специальная программа изучения качества жизни женщин с доброкачественными и невоспалительными заболеваниями. Выявлены низкие показатели психоэмоционального состояния, физического функционирования, состояния здоровья и общих показателей качества жизни женщин с гинекологической патологией. Установлена высокая прогностическая значимость показателей медико-профилактической активности и их влияние на эффективность лечения. После проведения лечебно-реабилитационных мероприятий установлено значительное улучшение состояния здоровья и всех показателей качества жизни. Доказана эффективность органосохраняющих операций у женщин с доброкачественными гинекологическими заболеваниями. Разработан комплекс лечебно-реабилитационных мероприятий, направленных на сохранение здоровья женщин репродуктивного возраста.

Ключевые слова: качество жизни, гинекологическая патология, органосохраняющие операции

THE DYNAMICS OF THE QUALITY OF LIFE OF WOMEN WITH BENIGN AND NONINFLAMMATORY GYNECOLOGICAL DISEASES AFTER SPARING SURGERY

Kokova D.H., Luchkevich V.S., Kostyuchek D.F.*Northwest State Medical University Mechnikov, Saint-Petersburg, e-mail: luchkevich@mail.ru*

Medico-sociological study of health and quality of life of women in the dynamics before and after organ operations carried out. A special program of study of quality of life of women with benign and noninflammatory diseases developed. Low levels of emotional state, physical functioning, general health status and quality of life of women with gynecological pathology identified. The high predictive value of indicators of medico-preventive activities and their impact on the effectiveness of treatment was established. After the treatment and rehabilitation significantly improved health and quality of life of all installed. The effectiveness of organ surgery in women with benign gynecologic disease is proved. Complex medical and rehabilitative measures aimed at preserving the health of women of working age was developed.

Keywords: quality of life, gynecological pathology, organ-preserving surgery

В современных социально-экономических условиях состояние репродуктивного здоровья остается одной из наиболее важных медико-социальных проблем. Особенно актуальным и необходимым является обеспечение своевременной диагностики и эффективности лечения гинекологической патологии, которая имеет высокий уровень распространенности среди женщин молодого и трудоспособного возраста. До настоящего времени одним из наиболее эффективных методов лечения женщин с доброкачественными и невоспалительными гинекологическими заболеваниями остается оперативное лечение, часто приводящее не только к физической и моральной ущербности, но и к выраженным психоэмоциональным расстройствам, ухудшающим качество жизни больных. Проведение органосохраняющих гинекологических операций больным с доброкачественными невоспалительными заболеваниями обеспечивает (без снижения качества лечения)

более быстрое восстановление адаптационного процесса, физической активности, сохранение основных характеристик репродуктивной деятельности. Однако многие вопросы, связанные с вероятностью возникновения осложнений и возможным ухудшением репродуктивной функции, требуют комплексного медико-социального и клинического изучения. Это обуславливает необходимость оценки эффективности органосохраняющих операций, улучшающих прогнозируемую трудовую и репродуктивную деятельность женщин. Необходимы исследования с анализом динамики показателей качества жизни женщин в различные сроки после оперативного лечения.

Цель исследования – изучить динамику показателей основных видов функционирования в структуре качества жизни и оценить эффективность органосохраняющих операций у женщин с доброкачественными и невоспалительными гинекологическими заболеваниями.

Материалы и методы исследования

Проведено клиническое и медико-социальное обследование 460 женщин с доброкачественными и невоспалительными гинекологическими заболеваниями, пролеченных в гинекологическом стационаре многопрофильной больницы. Выявление особенностей основных видов жизнедеятельности и психоэмоциональных нарушений пациенток проводилось на основании специально разработанной программы изучения качества жизни с использованием общих и специализированных вопросников, шкалы реактивной и личностной тревожности Спилбергера–Ханина, шкалы Цунга до и после проведения органосохраняющих операций и в отдаленные сроки.

Результаты исследования и их обсуждение

В исследовании приняли участие женщины в возрасте до 29 лет (25,0%), 30–39 лет (16,1%), 40–49 лет (21,4%) и старше 50 лет (37,5%). Анализ семейной структуры обследованных (таблица) показал, что в возрастной группе до 29 лет преобладали одинокие (35,7%), в возрастной группе 30–39 лет почти половина прооперированных женщин имели незарегистрированный брак (44,4%). Значительный удельный вес женщин с незарегистрированным браком отмечен даже в возрастных группах 40–49 лет (16,7%) и старше 50 лет (28,6%).

Распределение женщин по типу семьи с учетом возраста, %

Тип семьи	Всего, %
Незамужняя	10,7
Разведенная	7,1
Брачная пара без детей	10,7
Брачная пара с детьми	37,5
Мать с ребенком	10,7
Незарегистрированный брак	23,3
Итого	100,0

Выявлен высокий удельный вес неработающих женщин (28,6%). Значительная часть (44,6%) считает, что профессия соответствует их состоянию здоровья, а 19,7% считает, что их профессия не соответствует состоянию здоровья. Субъективная оценка жилища свидетельствует, что только часть женщин удовлетворены своими жилищными условиями (39,3%). Комплексная оценка режима, условий и качества питания установила, что большинство женщин недостаточно применяют в своем рационе рыбные продукты (41,1%), фрукты (16,1%), молочные продукты (14,3%).

Анализ социально-экономического благополучия показал, что значительная часть обследованных женщин имеют достаточный уровень для обеспечения всех основных потребностей членов семьи (39,3%).

При этом полноценная доступность лекарственных препаратов для поддержания здоровья и проведение лечебно-оздоровительных мероприятий возможны лишь для 42,7%. У значительной части (21,4%) социально-экономическое положение семьи ухудшилось в связи с заболеванием и повлияло на расходы семьи по удовлетворению основных потребностей.

Анализ физического функционирования выявил ограничения физической активности в повседневной деятельности из-за наличия болезни. При этом имеются физические ограничения в проведении хозяйственно-бытовой деятельности среди женщин всех возрастных групп (21,5%). Установлено, что имеется уменьшение степени физической и психической поддержки со стороны близких и коллег (16,1%). Установлена обратная корреляционная связь между степенью удовлетворенности пациентов своим качеством жизни в условиях мегаполиса. Только половина из обследованных женщин (48,1%) отметили полную удовлетворенность своим качеством жизни как обычного городского жителя. При этом частично не удовлетворены из-за сложной социально-экономической обеспеченности своей семьи 42,9%.

Анализ психоэмоциональных состояний выявил, что психологическая устойчивость семейных отношений уменьшается с возрастом. Установлено, что у значительной части женщин (66,1%) с наличием гинекологических заболеваний (миома матки, кисты яичников, опущение стенок влагалища и др.) отмечают выраженное проявление чувства неуверенности, тревоги и беспокойства. Даже у женщин в возрасте 20–29 лет (14,3%) отмечают чувство отчаяния, тревоги и депрессии. Среди обследованных пациентов всех возрастных групп отмечено периодическое проявление чувства раздражительности (58,9%), страха (69,6%), плаксивости (57,1%). Анализ профилактической активности и рекреационной деятельности показал, что после выявления гинекологических заболеваний (миома матки, кисты яичников и др.) стало значительно труднее физически выезжать к местам отдыха (21,4%), посещать общественно-массовые мероприятия (особенно характерно для возрастных групп 30–39 лет (33,3%).

Важными показателями в структуре качества жизни являются показатели медико-профилактической активности. Установлены их высокая прогностическая значимость и влияние на эффективность лечения. Анализ медицинской информированности свидетельствует о позднем обращении к врачам специалистам, в том числе и при наличии гинекологической патологии только 30,7% пациентов. Пациенты старшей возрастной

группы реже других возрастных групп посещают врачей с лечебной целью (23,8%). Выявлено, что для лечения и предупреждения осложнений основного гинекологического заболевания большинство женщин (62,5%) строго соблюдают все назначения врачей, часть женщин (16,1%) отказалась от вредных привычек, часть женщин стала строго соблюдать принципы здорового образа жизни (12,5%). В возрастной группе 20–29 лет часть пациентов (7,1%) сменила место работы для профилактики осложнений. Оценка уровня удовлетворенности доступностью и качеством медицинской помощи показала, что большинство (67,9%) обследованных женщин только частично удовлетворены медицинской помощью, что характерно для всех возрастных групп ($p < 0,001$). Выявлена высокая потребность гинекологических пациентов в дополнительных консультациях и лечении различных врачей специалистов. Особенно значительная часть (33,9%) нуждается в дополнительном обследовании и лечении у гинеколога, часть (8,9%) – в консультации терапевта, часть – у хирурга, невролога, гастроэнтеролога (по 7,1% соответственно).

Медико-социологический анализ показал, что 29,0% женщин даже на момент поступления в стационар продолжали курить. При этом имеется обратная корреляционная связь между возрастом и частотой курения ($r = 0,8$). А не употребляют алкоголь лишь 28,5% обследованных женщин. По данным визуально-аналоговой шкалы установлено, что до операции каждая третья женщина смогла оценить свое состояние здоровья только в пределах 60,0% из возможных 100,0%. Исследование показателей визуальной аналоговой шкалы в динамике у женщин с гинекологической патологией показало, что субъективная оценка своего состояния по мере выздоровления повышается и после оперативного лечения составляет в среднем 70,0% и более.

На основе изучения динамики показателей основных видов функционирования в структуре качества жизни доказана высокая эффективность проведенных функционально-щадящих гинекологических операций. Установлено, что показатели социально-гигиенического и социально-экономического функционирования до операции соответствовали среднему уровню ($75 \pm 4,1$ балла). Более низкие показатели ($45 \pm 2,1$ балла) физического функционирования женщин до операции обусловлены наличием болезненных ощущений (88,0%) и ухудшением общего самочувствия (64,3%). После выполнения функционально-щадящих и органосохраняющих

операций установлено достоверное улучшение показателей физического функционирования ($65 \pm 2,3$ балла, при $p < 0,05$). Показатели социально-бытовой адаптации и самостоятельности женщин до операции соответствовали низкому уровню ($35 \pm 3,5$ балла), из-за влияния заболевания на невозможность выполнения хозяйственно-бытовой деятельности (46,8%) и полноценного общения с близкими и родными (55,9%). После операции выявлены значительные улучшения показателей социально-бытовой адаптации ($55 \pm 2,1$ балла, при $p < 0,05$).

Показатели общественно-социальной активности до операции соответствовали среднему уровню ($65 \pm 2,8$ балла), пациентки отмечали некоторые трудности во взаимоотношениях с окружающими и членами семьи (38,1%), у пациентов отсутствовало чувство удовлетворенности жизнью (62,0%). После проведения оперативного вмешательства отмечалось улучшение данных показателей ($87 \pm 1,8$ балла, при $p < 0,05$).

Выявлены крайне неудовлетворительные показатели ($25 \pm 2,5$ баллов) психоэмоционального благополучия пациенток до операции, что связано с неустойчивостью супружеских отношений (33,3%), наличием тревожных и депрессивных состояний в связи с заболеванием (58,6%), частым изменением настроения (44,6%), наличием страха, раздражительности и нарушения сна (60,2%). После проведения функционально-щадящих и органосохраняющих операций пациентки отмечали достоверное улучшение своего психологического состояния ($54 \pm 4,2$ балла, при $p < 0,05$).

Показатели профилактической активности и рекреационной деятельности пациенток до операции соответствовали среднему уровню ($55 \pm 1,1$ балл), после операции незначительно улучшились ($60 \pm 1,1$ балла), а также показатели качества жизни женщин до операции соответствовали низкому уровню ($47 \pm 3,3$ балла), после проведенных органосохраняющих операций значительно улучшились ($70 \pm 2,4$ балла).

Проведенное экспериментально-психологическое исследование по шкале Спилбергера–Ханина выявило до операции высокий уровень ситуационной тревожности – у 47,4%, средний уровень – 41,2%. Уровень личностной тревожности был представлен следующими данными: низкий уровень – 34,8%, средний – 47,1%, высокий – 18,1%. Установлено, что большинство обследованных женщин (88,6%) имели высокий и средний уровень ситуационной тревожности, что свидетельствовало о наличии выраженной стрессовой реакции на болезнь и предстоящее оперативное вмешательство.

По шкале самооценки депрессии Цунга средний уровень депрессии составил $48 \pm 8,7$ балла, что свидетельствует об относительно невысокой выраженности депрессивных проявлений. После проведения функционально-щадящих органосохраняющих операций значительно снизились показатели ситуационной тревожности и депрессии, при этом чувство соматического благополучия и тревожные опасения в отношении своего здоровья у оперированных женщин оставались.

При оценке отдаленных результатов (через 6 мес., 2 года, 5 лет) установлены благоприятные клинические характеристики проведенных органосохраняющих операций у большей части (80,0%) пролеченных женщин. В послеоперационном периоде у женщин группы высокого риска по развитию аффективных и личностных нарушений продолжались мероприятия, направленные на профилактику и коррекцию выявленных психоэмоциональных нарушений.

После проведения лечебно-реабилитационных мероприятий у женщин с гинекологическими заболеваниями проведено повторное экспериментальное психологическое исследование, которое выявило низкий уровень ситуационной тревожности у 64,0% пациенток, средний – у 31,8%, высокий по-прежнему оставался у 4,2%. Также положительная динамика отмечена и по показателям личностной тревожности. Уровень личностной тревожности после операции был представлен следующими данными: низкий уровень – 74,0%, средний – 21,9%, высокий – 4,1%. На фоне проведенных лечебно-реабилитационных мероприятий наблюдалось также снижение или исчезновение депрессивных проявлений, средний уровень депрессии составил $41,7 \pm 5,32$ балла.

Заключение

Проведенные клиничко-статистические, клинические, психологические, медико-социологические исследования и оценка качества жизни среди женщин с гинекологической патологией свидетельствуют о высокой эффективности функционально-щадящих и органосохраняющих операций. В процессе стационарного лечения отмечено значительное улучшение клинических характеристик, психоэмоционального состояния, физического функционирования и социально-бытовой адаптации и обобщенных показателей здоровья и качества жизни. Анализ отдаленных результатов после проведенного оперативного лечения женщин указывает на необходимость проведения в послеоперационном периоде комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий и психологической коррекции.

Установлены высокая прогностическая значимость и влияние на эффективность лечения уровня медицинской информированности и медико-профилактической активности женщин. Важными прогностическими критериями эффективности лечения являются своевременность выявления и диагностика доброкачественных и невоспалительных гинекологических заболеваний. Это обуславливает необходимость совершенствования системы акушерско-гинекологической помощи, проведения динамического наблюдения за прооперированными пациентами не только в женской консультации, но и в рамках дневного стационара специализированных гинекологических отделений.

Список литературы

1. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. – СПб.: Изд. Дом «Нева»; М.: Изд. «ОЛМА-ПРЕСС», 2007. – 320 с.
2. Рыкин П.А., Борисов А.В., Сингаевский С.Б. Современные методы лечения пролапса тазового дна и стрессового недержания мочи у женщин // Журнал акуш. и жен. бол. – 2007. – Т. XLII, спецвыпуск. – С. 208-9.
3. Barber M.D., Walters R.C. Bump, Short forms of two condition-specific quality-of-life questionnaires for women with pelvic floor disorders (PFDI 20b and PFIQ-7) // Am J Obstet Gynecol. – 2005. – №193. – P. 103-113.
4. Bowling A. Measuring health: a review of Quality of life measurements scales // Obstet Gynecol. – 2005. – №106. – P. 315. – 320.
5. Kohli N., Goldstein D.P. An overview of the clinical manifestations, diagnosis, and classification of pelvic organ prolapsed UpToDate. – 2007. – №28. – P. 144-49.

References:

1. Novik A.A., Ionova T.I. *Rukovodstvo po issledovaniyu kachestva zhizni v medicine*. SPb.: Izd.Dom «Neva»; M.: Izd. «OLMA-PRESS», 2007. 320 p.
2. Rykin P.A., Borisov A.V., Singaevskii S.B. *Sovremennye metody lecheniya prolapsa tazovogo dna i stressovogo nederzhaniya mochi u zhenshin* – Zhurnal akush. i zhen. bol. 2007; T.XLII, specvypusk: 208–9.
3. Barber M.D., Walters R.C. *Bump, Short forms of two condition-specific quality-of-life questionnaires for women with pelvic floor disorders (PFDI 20b and PFIQ-7)* – Am J Obstet Gynecol. 2005; 193: 103–113.
4. Bowling A. *Measuring health: a review of Quality of life measurements scales* – Obstet Gynecol 2005; 106: 315–320.
5. Kohli N., Goldstein D.P. *An overview of the clinical manifestations, diagnosis, and classification of pelvic organ prolapsed* UpToDate. 2007; 28: 144–49.

Рецензенты:

Юрьев В.К., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Санкт-Петербург;

Орел В.И., зав. кафедрой социальной педиатрии и организации здравоохранения факультета повышения квалификации и последипломной переподготовки ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 575.113:616.12-008.331.1+616.12-005

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА AGT 174 (C > T) НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ И ХРОНИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ ИБС

¹Котловский М.Ю., ¹Котловская О.С., ¹Кириченко Д.С., ²Говорун В.М.,
¹Гитлина А.Г., ¹Шестакова Л.А., ¹Котловский Ю.В.

¹ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Красноярск, e-mail: csrl.ok@gmail.com;

²НПО «Литех», Москва

Обследованы мужчины и женщины, здоровые и больные с хронической формой ИБС, с наличием и отсутствием гипертонической болезни в возрасте 45–64 лет. Показана сопряженность генотипов CC и CT гена AGT 174 (C > T) с коллагениндуцируемой агрегацией тромбоцитов, а также ассоциация генотипов CC с более высокой встречаемостью людей с патологией сердца, увеличением тромбоцитарного времени, показателями агрегации выше нормы и нерегулярным питанием. Полученные результаты показывают обусловленность корреляций типом питания, наличием сильной отрицательной корреляции между генотипами и патологией сердца и положительной корреляции средней силы между генотипами и типом питания. Ассоциация генотипа CC с патологией объясняется наличием лиц с нерегулярным питанием, имеющих более низкое содержание $\omega 3$ ЖК и более низкий индекс ненасыщенности ЖК плазмы крови.

Ключевые слова: гипертония, ангиотензиноген, полиморфизм, ишемическая болезнь сердца (ИБС)

INFLUENCE OF GENETIC POLYMORPHISM AGT 174 (C > T) OF THE ANGIOTENSINOGEN GENE ON FUNCTION OF SYSTEM OF AN ORGANISM IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AND CHRONIC FORM OF ISCHEMIC HEART DISEASE

¹Kotlovskiy M.U., ¹Kotlovskaya O.S., ¹Kirichenko D.S., ²Govorun V.M.,
¹Gitlina A.G., ¹Shestakova L.A., ¹Kotlovskiy U.V.

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voino-Yasenetsky,
Krasnoyarsk, e-mail: csrl.ok@gmail.com;

²SIO «Litekh», Moscow

We studied men and women, healthy and sick with chronic coronary artery disease, with and without hypertension at the age of 45–64 years. It is shown conjugation of the genotypes CC and CT of AGT 174 (C > T) with collagen-induced platelet aggregation. CC genotype was more common in people with heart disease. There is an association of genotype CC with higher platelet time, platelet aggregation above normal and with irregular meals. The results show that the type of food is the cause of identifying correlations. There is a strong negative correlation between genotypes and heart disease and a positive correlation of mean force between genotypes and type of food. CC genotype association with pathology due to the presence of persons with irregular meals, with a lower content of $\omega 3$ fatty acids and a lower index of unsaturated fatty acids of blood plasma.

Keywords: hypertension, angiotensinogen, polymorphism, coronary artery disease (CAD).

Исследование полиморфизмов ангиотензиногена представляет интерес в связи с его ключевой ролью в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе организма. Поэтому с точки зрения выяснения патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца и гипертония, внимание привлекают изменения и реализация изменений именно этого гена. Кроме того, на сегодняшний день достоверно установлено, что развитие данных социально-значимых заболеваний является следствием действия совокупности факторов, взаимосвязь которых и влияние, к сожалению, однозначно не определены. Существует достаточно много исследований этой проблемы как в Рос-

сии, так и зарубежом, однако результаты достаточно противоречивы. Возможно, это связано с разнородностью исследуемых групп либо этническими различиями обследуемых. Есть данные [1, 2], свидетельствующие о наличии связи развития гипертонической болезни и полиморфизма AGT 174 (C > T). В ряде исследований было показано, что развитие артериальной гипертонии (АГ), острого инфаркта миокарда и диабетической нефропатии (синдромная АГ) при сахарном диабете могут иметь общую причину и являются лишь различными проявлениями одного и того же нарушения метаболизма – повышенной активности РАС. [3, 4, 5]. Другие исследователи такой взаимосвязи не наблюдали.

Поэтому **целью** данной работы было выяснение различий в функционировании систем организма в группах людей с разными генотипами гена ангиотензиногена AGT 174 (C > T).

Материалы и методы исследования

Было обследовано 102 человека. Группы относительно здоровых, больных хронической формой ИБС, имеющих и не имеющих гипертонию, находились в возрастном интервале от 45 до 64 лет. Больные находились на амбулаторном лечении конкором и аспирином. Для группы относительно здоровых пациентов критериями исключения являлись наличие ИБС, острые заболевания, хронические заболевания в стадии обострения, наличие сахарного диабета, выраженные нарушения липидного обмена, тяжелые нарушения функции печени и почек, артериальная гипертония. Критерии исключения групп с ИБС и АГ: инфаркт миокарда, прогрессирующая стенокардия, инсульт, тромбоэмболия легочной артерии менее чем за 6 месяцев до обследования, стенокардия напряжения 3–4 функционального класса, тяжелые нарушения функции печени, почек, острые и хронические заболевания в стадии обострения. Полиморфизмы исследовали в образцах ДНК, полученных фенол-хлороформной экстракцией из цельной венозной крови.

Анализ SNP (однонуклеотидных полиморфизмов генов) проводили методом минисеквенирования с последующим масс-спектрометрическим фракционированием олигонуклеотидных зондов при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии. Работа проводилась совместно с НПФ «Литех», г. Москва. Статистическая обработка данных, в том числе таблиц сопряжения, проводили с использованием программного пакета SPSS 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Так как ангиотензиноген обуславливает в организме человека основные кардиоваскулярные эффекты, в первую очередь выяснялось сопряжение полиморфизма этого гена с наличием диагноза гипертонической

болезни и с уровнем артериального давления. Определение связей проводилось в смешанной группе лиц, имеющих и не имеющих гипертонию. Группа без гипертонии включала в себя 26 здоровых человек и 10 человек без гипертонии, но имеющих хроническую форму ИБС. Отличий по возрасту между обследуемыми группами без ($54,00 \pm 1,02$ года) и с гипертонией ($54,48 \pm 0,64$ года) не было ($p = 0,680$; t-критерий Стьюдента). Отличий по полу между группами без и с гипертонией в возрастном интервале 45–64 лет не было (Критерий Манна–Уитни, $p = 0,118$). Наличие или отсутствие ИБС не влияет ($p = 0,518$ по критерию Мана–Уитни) на распределение генотипов CC, CT, TT, что позволяло выяснять сопряженность AGT 174 (C > T) и диагноза гипертонии в смешанной группе здоровых и больных ИБС. По результатам обследования оценивали сопряженность диагноза гипертонии с генотипом ангиотензиногена (AGT). Так как ожидаемые частоты по генотипу TT были меньше 5 в 33,3% случаев, мы исследовали сопряжение только 2-х генотипов CC и CT. В группе без гипертонии частота генотипа CC равна 64,5%, а при наличии гипертонии частота генотипа CC равна 71,2%, то есть различие между группами по первой гомозиготе незначительно. Та же закономерность отмечалась и для гетерозиготы, где генотип CT встречался в 35,5% случаев в группе без гипертонии, а с гипертонией частота встречаемости составила 28,8% (табл. 1). Статистические исследования подтвердили отсутствие сопряженности ($p = 0,516$ для χ^2 , $p = 0,682$ для поправки на непрерывность, $p = 0,518$ для отношения правдоподобия, $p = 0,633$ для критерия Фишера). Было показано отсутствие значимых различий в частоте полиморфизмов при наличии и отсутствии диагноза гипертонической болезни.

Таблица 1

Сопряженность полиморфизма ангиотензина AGT 174 (C > T) и гипертонической болезни (ГБ) у мужчин и женщин, здоровых и больных хронической формой ИБС, в возрасте 45–64 лет

			Полиморфизм AGT 174 (C > T)		Итого
			1-CC	2-CT	
Гипертоническая болезнь 1 – нет; 4 – третьей степени.	1	Частота	20	11	31
		Ожидаемая частота	21,4	9,6	31,0
		% генотипов при отсутствии ГБ	64,5 %	35,5 %	100,0 %
	4	Частота	42	17	59
		Ожидаемая частота	40,6	18,4	59,0
		% генотипов при ГБ третьей степени.	71,2 %	28,8 %	100,0 %

Не отмечалось сопряжения между генотипами CC, CT и систолическим давлением ($p = 0,184$ для χ^2 , $p = 0,276$ для поправки на

непрерывность, $p = 0,185$ для отношения правдоподобия, $p = 0,235$ для критерия Фишера). Отсутствие сопряженности между

полиморфизмами AGT (C > T) и систолическим АД объясняется нормализацией систолического АД у 47,6% гипертоников при амбулаторном лечении конкором. Отсутствие сопряжения AGT (C > T) отмечалось и для диастолического давления ($p = 0,436$ для χ^2 , $p = 0,566$ для поправки на непрерывность, $p = 0,436$ для отношения правдоподобия, $p = 0,488$ для критерия Фишера). Этот результат является следствием нормализации диастолического АД у 38,3% гипертоников при амбулаторном лечении конкором.

Полученные результаты показывали закономерное отсутствие сопряженности между генотипами CC, CT, систолическим и диастолическим АД, обусловленное приемом конкора, однако сопряженность между полиморфизмами AGT (C > T) CC, CT и диагнозом гипертонии у мужчин и женщин больных хронической формой ИБС в возрастной группе 45–64 лет отсутствовала. Отсутствие сопряженности могло объ-

ясняться малым количеством TT генотипов в исследуемых нами группах или проявлением эффектов генотипов через другие. Поэтому мы обнаруживали их влияние на другие функции систем организма.

Отмечено сопряжение между этими генотипами и коллагениндуцируемой агрегацией тромбоцитов (КИАТ). При нормальной КИАТ частоты генотипов CC (57,6%) и CT (42,4%) были в 1,5 раза меньше и в 2,5 раза больше, чем соответствующие генотипы CC (83,3%) и CT (16,7%) при повышенной КИАТ (табл. 2). Данные по наличию связей между переменными подтверждались статистически ($p = 0,018$ для χ^2 , $p = 0,037$ для поправки на непрерывность, $p = 0,017$ для отношения правдоподобия, $p = 0,032$ и $p = 0,018$ для критерия Фишера, $p = 0,023$ для критерия Мак Немара). Связь линейная ($p = 0,009$), обратная, симметричная, средней силы ($\gamma K = -0,573$; $p = 0,015$).

Таблица 2

Сопряженность полиморфизма ангиотензиногена AGT 174 (C > T) и коллагениндуцируемой агрегации (КИАТ) тромбоцитов среди мужчин и женщин, здоровых и больных хронической формой ИБС, имеющих и не имеющих гипертонию, в возрасте 45–64 лет

			Полиморфизм AGT (C > T)		Итого
			CC	CT	
КИАТ 1 – норма 2 – выше нормы	1	Частота	19	14	33
		Ожидаемая частота	23,4	9,6	33,0
		Процент генотипов при нормальной агрегации тромбоцитов	57,6%	42,4%	100,0%
		Остаток	-4,4	4,4	
	2	Частота	30	6	36
		Ожидаемая частота	25,6	10,4	36,0
		Процент генотипов при повышенной агрегации тромбоцитов	83,3%	16,7%	100,0%

Примечание. Коллагениндуцируемая агрегация тромбоцитов (КИАТ) измерялась в номинальных единицах: 1 – норма, 2 – выше нормы (норма – 40–60%).

В аналогичных группах выявлена ассоциация гомозигот CC с наличием патологии сердца ($p = 0,044$), увеличением тромбинового времени ($p = 0,045$), повышенной

КИАТ ($p = 0,019$) и нерегулярным питанием ($p = 0,035$). Ассоциация же гетерозигот CT имела обратную, по сравнению с гомозиготами, зависимость (табл. 3).

Таблица 3

Функциональная активность органов и систем организма мужчин и женщин, здоровых и больных хронической формой ИБС, имеющих и не имеющих гипертоническую болезнь в возрасте от 45 до 64 лет в зависимости от генотипов (CC) и (CT) Ангиотензиногена AGT 174 (C > T).

Тип генотипа	Патология сердца (ранги)	ТВ (М ± м)	КИАТ (ранги)	Тип питания (ранги)
CC	41,06	17,77 ± 0,21	38,12	7,88(a)
CT	32,23*	17,01 ± 0,29*	27,35*	13,70(б)*

Примечания: Изменения в сердце по данным ЭХФКГ: 1 – отсутствие изменений; 2 – наличие патологии. Тромбиновое время (ТВ) измерялось в секундах (Норма 15–20 с). Коллагениндуцируемая агрегация тромбоцитов (КИАТ): 1 – норма; 2 – выше нормы (норма – 40–60%). Тип

питания измерялся в ед 1-(а) – нерегулярное, 2-(б) – регулярное без употребления избытка жира). Звездочкой * отмечена достоверность нижних показателей по отношению к верхним $p < 0,05$. Статистическая обработка проведена для ТВ по критерию Стьюдента, для остальных показателей по критерию Манна–Уитни.

Исследование взаимосвязи между гипертонической болезнью, патологией сердца, тромбоновым временем, коллагениндуцируемой агрегацией тромбоцитов (не ингибируемой аспирином) и типом питания показало наличие отрицательной слабой корреляции по Спирмену между диагнозом гипертонической болезни и тромбоновым временем ($\kappa = -0,281$, $p = 0,02$) и положительной средней силы между диагнозом гипертонической болезни и патологией сердца ($\kappa = 0,514$, $p = 0,01$). Генотипы СС и СТ коррелировали с патологией сердца ($\kappa = -0,232$; $p = 0,043$), коллагениндуцируемой агрегацией тромбоцитов ($\kappa = -0,284$, $p = 0,018$) и типом питания ($\kappa = 0,614$, $p = 0,007$). Подсчет частных корреляций, в которых в качестве контролирующей переменной используется тип питания, показывает исчезновение всех корреляций и появление более сильной корреляции между патологией сердца и генотипами СС и СТ ($\kappa = -0,734$, $p = 0,016$).

Таким образом, тип питания коррелирует с насыщенной гексадекановой жирной кислотой (ЖК) ($\kappa = 0,591$, $p = 0,01$), суммой насыщенных ЖК ($\kappa = 0,59$, $p = 0,01$) и суммой $\omega 3$ ЖК ($\kappa = 0,522$, $p = 0,026$). Люди с нерегулярным питанием имеют в плазме крови меньшую сумму $\omega 3$ ЖК ($252,7 \pm 9,2$) и меньший индекс ненасыщенности ЖК ($229,3 \pm 8,2$) по сравнению с людьми, питающимися регулярно и без избытка жира в диете, которые имеют более высокие сумму $\omega 3$ ЖК ($296,6 \pm 16,9$; $p = 0,013$) и индекс ненасыщенности ЖК ($282,9 \pm 20,8$; $p = 0,02$).

Закключение

Установлена сильная отрицательная корреляция между генотипами и патологией сердца ($\kappa = -0,734$, $p = 0,016$) и средняя положительная корреляция между генотипом и типом питания ($\kappa = 0,614$, $p = 0,007$). Ассоциация носителей генотипа СС с патологией сердца объясняется большей частотой среди них людей, питающихся нерегулярно, которая коррелирует с гексадекановой ЖК

($\kappa = -0,591$, $p = 0,01$), суммой насыщенных ЖК ($\kappa = -0,568$, $p = 0,014$), суммой ненасыщенных ЖК ($\kappa = 0,591$, $p = 0,01$), индексом ненасыщенности и суммой $\omega 3$ ЖК ($\kappa = 0,522$, $p = 0,026$). Люди с нерегулярным питанием имеют в плазме крови меньшее значение суммы $\omega 3$ и меньший индекс ненасыщенности ЖК, по сравнению с людьми, питающимися регулярно, без избытка жира в употребляемой пище.

Список литературы

1. Камалетдинова Г.Я. Роль генетических факторов в развитии гипертонической болезни: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Уфа, 1998. – 21 с.
2. Caulfield M., Lavender P., Farral M., Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension // N. Engl. Med. – 1994. – Vol. 330. – P. 1629–1633.
3. Jenempitre X, Soubtier F., Kotelevstev Y.V. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen // Cell. – 1992. – Vol. 71. – P. 169–180.
4. Marre M., Jeunemaitre X., Gallois J. Contribution of genetic polymorphism in renin-angiotensin system to the development of renal complication in insulindependent diabetes // J. Clin. Invest. – 1997. – Vol. 99, №7. – P. 1585–1595.
5. Reaven G.M. Role of abnormalities in carbohydrate and lipoprotein mechanism in the pathogenesis and clinical course of hypertension // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1990. – Vol. 15, Supp.5. – P. 4–5.

References

1. Kamaletdinova G.Ya. *The role of genetic factors in the development of hypertension: Abstract of dissertation*. Ufa, 1998. 21 p.
2. Caulfield M., Lavender P., Farral M. *Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension* – N. Engl. Med. 1994. Vol. 330. pp. 1629–1633.
3. Jenempitre X, Soubtier F., Kotelevstev Y.V. *Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen* – Cell. 1992. Vol.71, pp. 169–180.
4. Marre M., Jeunemaitre X., Gallois J. *Contribution of genetic polymorphism in renin-angiotensin system to the development of renal complication in insulindependent diabetes* – J. Clin. Invest. – 1997. Vol. 99. no. 7. pp. 1585–1595.
5. Reaven G.M. *Role of abnormalities in carbohydrate and lipoprotein mechanism in the pathogenesis and clinical course of hypertension* – J. Cardiovasc. Pharmacol. 1990. Vol. 15. Supp. 5. pp.4–5.

Рецензенты:

Смирнова О.В., д.м.н., заведующая лабораторией клинической патофизиологии и аллергологии НИИ медицинских проблем Севера СЦ РАМН, г. Красноярск;

Гринштейн Ю.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии ИПО, врач кардиолог профессорской клиники, отделения кардиологии, г. Красноярск.

Работа поступила в редакцию 11.04.2012.

УДК 615.9(546.49):577.115

ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У РАБОЧИХ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С РТУТЬЮ

Кудаева И.В., Бударина Л.А.*Ангарский филиал ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека»
СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека, Ангарск, e-mail: kudaeva_irina@mail.ru*

Целью исследования явилось изучение влияния производственного контакта с парами металлической ртути на нарушения в липидном обмене. Сравнение межгрупповых значений содержания холестерина, его фракций, триглицеридов, липопротеидов различной плотности и расчетных показателей проводили путем сравнения количественных признаков в двух связанных выборках с помощью критерия Wilcoxon. Проверку нулевой гипотезы об отсутствии различий между тремя независимыми группами проводили при помощи рангового анализа вариаций Kruskal-Wallis ANOVA. Последующие попарные сравнения групп осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Mann-Whitney, применяя поправку Бонферрони. Анализ вида зависимостей количественных признаков липидного обмена от профессии, возраста и стажа экспозиции ртутью проводился методом множественной нелинейной регрессии. Проведенные исследования позволили установить, что в процессе производственного контакта с ртутью наблюдалось статистически значимое ухудшение показателей липидного обмена. Выявлено увеличение индекса атерогенности, изменившегося за счет возрастания концентрации как общего холестерина, так и проатерогенных изменений со стороны его фракций при общегрупповом обследовании. Анализ метаболизма липидов в профессиональных группах показал, что у аппаратчиков с увеличением стажа работы наблюдался дисбаланс между фракциями холестерина атерогенной направленности, а в группе слесарей и ИТР увеличение стажа работы сопровождалось увеличением уровня общего холестерина.

Ключевые слова: показатели липидного обмена, воздействие ртути, динамическое исследование

DYNAMIC STUDY OF LIPID METABOLISM IN EMPLOYEES EXPOSED TO MERCURY

Kudayeva I.V., Budarina L.A.*Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology – FSBE ESSCHE SD RAMS,
Angarsk, kudaeva_irina@mail.ru*

The results of the dynamic study on the changes in the main metabolism indices of the lipids in the operators of mechanical devices, the metal workers repairing the equipment, the engineers and other technical workers working at the caustic production are represented in this paper. This study aimed to investigate the correlation between the production exposure to the metallic mercury vapours and the disorders in the lipid metabolism. The studies performed have allowed to reveal that the statistically significant index worsening of the lipid metabolism was observed to occur in the process of the production exposure to mercury. The index increase in the atherogenicity which may change due to the increase in the concentration both as the cholesterol total and the pro-atherogenic alterations in its fractions in the whole-group has been revealed. The analysis of the lipid metabolism in the occupational groups has shown that the disbalance between the cholesterol fractions of the atherogenic direction was observed to occur in the operators of mechanical devices with the increase in the working time period duration was found to be followed by the increase in the cholesterol total level in the metal workers and the engineers and other technical workers.

Keywords: lipid metabolism indices, exposure to mercury, dynamic study

Ртуть является одним из наиболее опасных токсикантов для здоровья человека [1,3]. В Иркутской области долгое время действовал ряд предприятий, использующих ртуть в процессе производства каустика и хлора методом ртутного электролиза. Ретроспективная оценка загрязнения воздуха рабочей зоны данных предприятий показала, что содержание данного токсиканта в несколько раз превышало ПДК. При этом наибольшему токсическому воздействию подвергались аппаратчики и слесари цехов электролиза и регенерации ртутьсодержащих шламов [7].

Выполненные ранее поперечные когортные исследования работающих в контакте с ртутью выявили наличие изменений показателей, характеризующих обмен липидов [4], а изучение липидного обмена у лиц с диагнозом хроническая ртутная интоксикация

(ХРИ) установило высокую распространенность отклонений показателей от референтных величин атерогенной направленности [4, 8]. Тем не менее проведенные исследования не позволили однозначно связать временные параметры контакта с токсикантом, дозную нагрузку на организм работающих с изменениями изученных показателей.

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования явилось изучение влияния производственного контакта с парами металлической ртути на нарушения липидного обмена.

Материал и методы исследования

Для реализации поставленной цели проведено проспективное когортное исследование (в 2005 и 2009 гг.) показателей липидного обмена у 62 работающих в производстве каустика. Основные профессиональные группы обследуемых были представлены

аппаратчиками, слесарями (по ремонту оборудования, КИП), а также инженерно-техническими работниками (ИТР). В соответствии со стажем работы в условиях производственного контакта с ртутью на момент первого обследования все лица были разделены на четыре когорты: 1 группу составили рабочие, имеющие стаж менее 5 лет, 2 – со стажем от 5 до 10 лет, в 3 группу вошли обследуемые, экспонированные токсикантом с 10 до 15 лет, 4 – свыше 14 лет.

Для исследования показателей метаболизма липидов отбирали 10 мл крови из локтевой вены после 12-часового голодания. В свежих образцах сыворотки крови определяли показатели липидного обмена: содержание общего холестерина (ОХ), холестерина на липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ) на анализаторе «Cormay multi» с использованием стандартных тест-наборов. Содержание фракций холестерина – липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП соответственно) рассчитывали по формуле Friedwald [4], индекс атерогенности (ИА) определяли соотношением атерогенных фракций холестерина к неатерогенным. Фракции липопротеидов (ЛП) исследовали электрофоретическим методом на агарозном геле «Hydrogel Lipo+Lp(a)K20» («Cormay») на оборудовании той же фирмы.

Исследования выполнены с информированного согласия обследуемых и соответствуют этическим нормам Хельсинкской декларации (2000) и Приказа Минздрава РФ №266 (от 19.06.2003).

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи ППП «Statistica 6.0». Для сравнения количественных признаков в двух связанных

выборках был применен Wilcoxon Matched Pairs Test. Проверку нулевой гипотезы об отсутствии различий между тремя независимыми группами проводили при помощи рангового анализа вариаций Kruskal-Wallis ANOVA. В обоих случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Последующие попарные сравнения групп осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Mann-Whitney, применяя поправку Бонферрони при оценке значения p . В этом случае различия считали статистически значимыми при $p < 0,017$. Результаты исследований представлены в виде медианы (Med), верхнего (Q25) и нижнего (Q75) квартилей. Корреляционная связь между показателями оценивалась при помощи коэффициента ранговой корреляции Spearman. Анализ вида зависимостей количественных признаков липидного обмена от профессии, возраста и стажа экспозиции ртутью проводился методом множественной нелинейной регрессии. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования позволили установить, что в процессе производственного контакта с ртутью наблюдалось статистически значимое ухудшение показателей липидного обмена. Об этом свидетельствовали результаты как общегруппового обследования (табл. 1), так и их анализ по стажевым группам (табл. 2).

Таблица 1

Состояние липидного обмена в процессе динамического обследования у лиц, экспонированных ртутью Med (Q25–Q75)

Показатель, ед. изм.	Референтные значения	Обследование 1	Обследование 2	p Wilcoxon Test
Общий холестерин, ммоль/л	3,0–5,2	4,9 4,0–5,6	5,1 4,5–5,8	0,0003
ХС ЛПВП, моль/л	Не менее 0,9	1,08 0,94–1,24	0,97 0,81–1,14	0,0025
ХС ЛПНП, моль/л	Не более 3,8	3,23 2,52–3,72	3,53 2,99–4,07	0,0001
ХС ЛПОНП, моль/л	0,18–0,82	0,48 0,35–0,76	0,48 0,38–0,68	0,53
Индекс атерогенности	2,0–4,0	3,3 2,4–4,3	4,4 3,6–5,4	0,0001
Триглицериды, моль/л	0,41–1,82	1,06 0,77–1,66	1,07 0,82–1,49	0,45
ЛПВП, %	21,3–53,1	33,1 25,3–39,1	29,6 23,3–35,3	0,0719
ЛПНП, %	38,0–69,2	47,1 41,1–49,8	48,0 42,4–52,3	0,23
ЛПОНП, %	4,1–23,1	18,9 12,7–28,0	18,8 12,3–26,8	0,80

В первом случае с самым высоким уровнем статистической значимости ($p = 0,0001$) выявлено увеличение ИА, изменившегося

за счет увеличения концентрации как ОХ, так и проатерогенных изменений со стороны ХС ЛПВП и ХС ЛПНП. В то же время

не наблюдалось модификации среднегрупповых значений уровня ХС ЛПОНП, ТГ и всех фракций ЛП.

Когортный анализ показателей холестерина обмена у обследуемых с разным стажем экспозиции ртутью выявил статистически значимое увеличение уровня ОХ только у лиц 2-й стажевой группы; у рабочих со стажем работы больше 15 лет аналогичная динамика данного показателя имела статистическую значимость на уровне $p = 0,098$ (табл. 2). Следует отметить, что выявленные изменения в этих стажевых группах сопровождались соответствующими нарушениями со стороны ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП и ТГ с аналогичным уровнем статистической зна-

чимости. В то же время увеличение содержания ХС ЛПНП в отмеченных когортах рабочих имело высокий уровень статистической значимости ($p = 0,0037$ и $p = 0,0009$ для 2-й и 4-й стажевых групп соответственно). Обращает на себя внимание факт динамического увеличения значений ИА во всех группах, наиболее выраженного в 4-й группе (на 33 %, $p = 0,001$). Из показателей липидтранспортной системы следует отметить статистически значимое снижение содержания ЛПВП с 37,7% (29,4–41,7) до 29,7% (24,4–34,7) у рабочих в период экспозиции ртутью с 7 до 11 лет. Последующий контакт с токсикантом не сопровождался уменьшением относительного количества данной фракции.

Таблица 2

Динамика показателей липидного обмена в зависимости от стажа, Med (Q25-Q75)

Показатель, ед. изм./ Стажевые группы	Группа 2 (стаж 5–9 лет), $n = 32$			Группа 3 (стаж 10–15 лет), $n = 10$			Группа 4 (стаж более 15 лет), $n = 16$		
	обследование 1	обследование 2	p Wilcoxon Test	обследование 1	обследование 2	p Wilcoxon Test	обследование 1	обследование 2	p Wilcoxon Test
Возраст на момент обследования, лет	33 29–41	37 33–45		38 35–49	42 39–53		45 42–51	49 46–55	
Стаж экспозиции ртутью на момент обследования, лет	7 6–7	11 10–11		11,5 10–13	15,5 14–17		20,5 17–23	24,5 21–27	
Общий холестерин, ммоль/л	4,8 3,8–5,4	5,1 4,4–5,7	0,005	5,1 4,2–5,6	4,8 4,6–5,8	0,67	5,3 4,6–5,9	5,7 4,9–6,5	0,098
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,15 1,06–1,34	1,01 0,81–1,18	0,01	1,02 0,95–1,09	0,95 0,91–0,96	0,37	0,99 0,89–1,26	0,92 0,78–1,10	0,093
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,21 2,50–3,54	3,52 2,96–3,79	0,004	3,32 2,23–3,72	3,35 2,94–4,25	0,88	3,35 2,75–4,04	4,02 3,45–4,80	0,0009
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,38 0,32–0,65	0,47 0,36–0,67	0,030	0,52 0,39–0,62	0,58 0,46–0,64	0,80	0,63 0,49–0,97	0,58 0,42–0,85	0,1
Индекс атерогенности	3,1 2,4–3,6	4,2 3,2–5,0	0,001	4,2 2,6–4,8	4,9 3,9–5,4	0,10	4,1 3,0–4,7	5,2 3,7–6,7	0,001
Триглицериды, ммоль/л	0,83 0,68–1,43	1,03 0,79–1,45	0,027	1,12 0,86–1,35	1,34 1,05–1,40	0,37	1,36 1,06–2,11	1,27 0,91–1,86	0,1
ЛПВП, %	37,7 29,4–41,7	29,7 24,4–34,7	0,006	32,9 27,2–35,8	28,6 24,9–35,2	0,51	26,9 22,6–33,1	29,3 24,9–38,0	0,1
ЛПНП, %	45,5 40,8–51,4	47,5 42,9–52,0	0,32	47,7 39,2–49,6	46,3 39,3–48,8	0,95	47,7 42,3–51,5	50,3 42,7–55,2	0,8
ЛПОНП, %	17,1 12,4–27,6	18,4 13,1–25,1	0,29	20,5 13,2–26,6	25,1 19,1–27,5	0,14	23,5 13,1–34,0	18,9 11,5–27,1	0,2

Примечание. В связи с малым количеством $n = 4$ для лиц 1-й стажевой группы результаты биохимических исследований не представлены в таблице.

Дальнейший анализ позволил установить наличие различий по содержанию ХС ЛПВП ($p_{K-W} = 0,026$) и ЛПВП ($p_{K-W} = 0,024$) в сыворотке крови, а также ИА ($p_{K-W} = 0,005$) между рабочими разных профессий в момент первого обследования. В период повторно проводимых исследований данная межгрупповая разница была нивелирована, в то же время были выявлены различия в концентрации ОХ за счет более выраженных его изменений у ИТР и слесарей

($p_{K-W} = 0,023$). Это подтвердилось результатами множественного нелинейного регрессионного анализа. Так, анализ односторонней зависимости показателей липидного обмена от вида профессии (ранжированного в виде кода профессиональной группы – КПП), возраста (ВОЗР) и стажа позволил установить таковую не для всех изучаемых аналитов. Более того, значение коэффициента детерминации R^2 в построенных моделях находилось в пределах 0,30. При 1-м обследовании

довании выявлен отклик ОХ, ИА и ЛПВП на изменение предикторов, при 2-м – только первых двух показателей. Множествен-

ная нелинейная модель для содержания ОХ выглядела следующим образом при первом обследовании:

$$ОХ = -2,6 + 2,38 \cdot КППГ - 0,56 \cdot КППГ^2 + 0,23 \cdot ВОЗР - 0,002 \cdot ВОЗР^2$$

($R = 0,52$; $R^2 = 0,27$; $p < 0,001$; $SEE = 0,91$); при повторном –

$$ОХ = 2,1 - 2,58 \cdot КППГ - 0,58 \cdot КППГ^2 + 0,0003 \cdot ВОЗР^2 - 0,00008 \cdot СТАЖ^2$$

($R = 0,51$; $R^2 = 0,26$; $p < 0,002$; $SEE = 0,92$).

Величина индекса атерогенности имела следующий вид регрессионной зависимости:

$$ИА = 0,66 + 1,84 \cdot КППГ - 0,34 \cdot КППГ^2 + 0,066 \cdot СТАЖ$$

($R = 0,48$; $R^2 = 0,23$; $p < 0,002$; $SEE = 1,2$) – для лиц, обследованных в 2005 году;

$$ИА = 1,85 + 2,1 \cdot КППГ - 0,46 \cdot КППГ^2 + 0,002 \cdot СТАЖ^2$$

($R = 0,44$; $R^2 = 0,20$; $p < 0,006$; $SEE = 1,4$) – у рабочих, прошедших обследование повторно. Обращает внимание факт наличия

модели односторонней зависимости ЛПВП только при проведении первого медицинского осмотра:

$$ЛПВП = 50,9 - 13 \cdot КППГ + 2,7 \cdot КППГ^2 - 0,47 \cdot СТАЖ$$

($R = 0,43$; $R^2 = 0,19$; $p < 0,007$; $SEE = 8,7$). Анализ всех построенных моделей позволяет сделать вывод о наибольшей детерминированности показателей липидного обмена принадлежностью обследуемых к профессиональной группе. В связи с этим на следующем этапе были изучены изменения ЛП, ХС и его фракций у лиц разных профессий (табл. 3). Было установлено, что у аппаратчиков с увеличением стажа работы наблюдалось статистически значимое ($p = 0,0008$) снижение ХС ЛПВП при параллельном увеличении фракции ХС ЛПНП ($p = 0,003$). Отмеченные изменения закономерно сопровождалось ростом ИА ($p = 0,0001$). Следует отметить, что уровень ОХ в данной группе рабочих оставался без изменений и не выходил за рамки референтных значений. Из показателей липидтранспортной системы у данной группы обследуемых было выявлено динамическое снижение ЛПВП до 32,1 % ($p = 0,055$). Анализ корреляционных взаимосвязей в группе аппаратчиков позволил выявить, что уровень ОХ и ХС ЛПНП на момент первого обследования находился в средней по силе зависимости от возраста ($R = 0,46$; $p = 0,026$ и $R = 0,51$; $p = 0,0014$ соответственно). Вклад данного показателя в значения концентрации ОХ и ХС ЛПНП выражался следующими регрессионными уравнениями:

$$ОХ = -4,1 + 0,41 \cdot ВОЗР - 0,005 \cdot ВОЗР^2$$

($R = 0,6$ $R^2 = 0,36$; $p < 0,011$; $SEE = 0,77$) и ХС

$$ЛПНП = -4,4 + 0,36 \cdot ВОЗР - 0,004 \cdot ВОЗР^2$$

($R = 0,52$ $R^2 = 0,27$; $p < 0,041$; $SEE = 0,73$). При втором обследовании данных связей выявлено не было. В группе слесарей и ИТР увеличение стажа работы сопровождалось статистически значимым ($p = 0,006$

и $p = 0,02$ соответственно) увеличением уровня ОХ. Следует отметить, что в группе слесарей среднegrupповое значение данного показателя уже при первом обследовании находилось на уровне верхней границы нормы, в то время как у ИТР оно достигало аналогичного уровня только к моменту второго обследования (при этом статистически значимой разницы по возрасту между профессиональными группами выявлено не было).

В то же время при первом обследовании в группе ИТР была выявлена сопряженность концентрации ОХ с возрастом и стажем обследуемых ($R = 0,61$; $p = 0,018$ и $R = 0,67$; $p = 0,009$ соответственно). Регрессионный анализ позволил определить, что уровень ОХ находился в статистически значимой детерминированности от стажа

$$ОХ = 4,2 + 0,0026 \cdot СТАЖ^2$$

($R = 0,6$ $R^2 = 0,43$; $p < 0,01$; $SEE = 0,76$; $p = 0,0001$ (В), $p = 0,01$ (СТАЖ²)). Изменение уровня ОХ у слесарей и ИТР сопровождалось увеличением ИА ($p = 0,005$ и $p = 0,01$ соответственно) за пределы верхнего референтного уровня и осуществлялись за счет проатерогенных нарушений фракции ХС ЛПНП. Зарегистрированное снижение концентрации антиатерогенной фракции ХС не достигало уровня статистической значимости. Уровень ХС ЛПНП и значение ИА у ИТР в 2005 году находилось в корреляционной зависимости как с возрастом, так и со стажем работы ($R = 0,68$; $p = 0,005$ и $R = 0,70$; $p = 0,006$ для ХС ЛПНП соответственно; $R = 0,60$; $p = 0,02$ и $R = 0,58$; $p = 0,03$ для ИА соответственно). Результаты второго обследования показали наличие корреляционных зависимостей у данной группы работников только между стажем, ОХ и ХС ЛПНП ($R = 0,56$; $p = 0,04$

и $R = 0,53$; $p = 0,049$ соответственно). В то же время для рабочих, относящихся к группе слесарей, в 2005 году каких-либо корреляционных связей, сопряженных с показателями липидного обмена, выявлено не было. При проведении повторного обследования

отмечены корреляции между концентрацией фракции ХС ЛПНП, возрастом и стажем ($R = 0,54$; $p = 0,006$ и $R = 0,46$; $p = 0,02$ соответственно); ОХ и возрастом обследуемых ($R = 0,54$; $p = 0,007$), а также ИА и стажем экспозиции ртутью ($R = 0,53$; $p = 0,007$).

Таблица 3

Динамика показателей липидного обмена в зависимости от принадлежности к профессии, Med (Q25-Q75)

Показатель, ед. изм./Профессиональные группы	Аппаратчики, $n = 23$		Слесари, $n = 25$		Работники ИТР, $n = 14$		p_1	p_2
	обследование 1	обследование 2	обследование 1	обследование 2	обследование 1	обследование 2		
Возраст на момент обследования, лет	33 29–41	37 33–45	38 35–49	42 39–53	45 42–51	49 46–55	0,66	0,66
Стаж экспозиции ртутью на момент обследования, лет	7 6–7	11 10–11	11,5 10–13	15,5 14–17	20,5 17–23	24,5 21–27	0,12	0,12
Общий холестерин, ммоль/л	4,7 3,6–5,1	4,8 4,3–5,4	5,2 4,3–5,8	5,6 4,8–6,6	4,8 4,2–5,7	5,2 4,5–5,9	0,157	0,023* ¹⁻²
p Wilcoxon Test	0,23		0,006		0,02			
ХС ЛПВП, моль/л	1,14 1,05–1,34	1,01 0,80–1,18	1,06 0,95–1,30	0,96 0,86–1,13	0,97 0,87–1,10	0,89 0,81–1,06	0,026* ¹⁻³	0,586
p Wilcoxon Test	0,0008		0,41		0,64			
ХС ЛПНП, моль/л	3,15 2,06–3,45	3,35 2,94–3,69	3,25 2,75–3,78	3,76 3,12–4,45	3,31 2,71–4,00	3,68 3,38–4,38	0,129	0,060
p Wilcoxon Test	0,003		0,01		0,01			
ХС ЛПОНП, моль/л	0,45 0,31–0,62	0,44 0,30–0,64	0,42 0,36–0,80	0,50 0,43–0,68	0,59 0,36–0,83	0,57 0,44–0,74	0,241	0,313
p Wilcoxon Test	0,63		0,78		0,86			
Индекс атерогенности	2,7 2,1–3,2	3,8 3,1–4,8	3,5 2,5–4,3	4,7 3,7–5,7	3,9 3,4–4,6	5,2 4,2–5,5	0,005* ¹⁻³	0,060
p Wilcoxon Test	0,0001		0,005		0,01			
Триглицериды, моль/л	0,97 0,67–1,35	0,97 0,65–1,40	0,92 0,79–1,74	1,11 0,94–1,64	1,28 0,79–1,80	1,24 0,96–1,62	0,244	0,279
p Wilcoxon Test	0,59		0,54		0,87			
ЛПВП, %	36,9 33,4–40,5	32,1 27,8–35,6	30,8 22,8–39,1	28,2 24,2–34,6	27,0 24,8–33,4	28,2 23,1–36,1	0,024* ¹⁻³	0,314
p Wilcoxon Test	0,055		0,50		0,92			
ЛПНП, %	44,1 40,3–49,1	49,0 40,9–52,5	48,2 42,2–51,9	47,2 44,1–52,0	47,1 45,2–49,7	48,0 42,4–55,3	0,324	0,909
p Wilcoxon Test	0,11		0,71		0,68			
ЛПОНП, %	18,7 12,0–26,6	18,3 11,8–25,6	17,2 12,6–29,6	18,5 13,3–25,1	24,2 15,9–29,9	23,1 12,3–27,5	0,451	0,698
p Wilcoxon Test	0,96		0,86		0,68			

Примечания: $p_{1,2}$ – ANOVA Kruskal-Wallis; * – сравнение групп по профессиям по U-критерию Mann-Whitney.

Обсуждение полученных результатов позволяет сделать предположение о детерминированной роли профессиональной принадлежности рабочих, экспонированных в процессе производственной деятельности ртутью, в отношении изменений липидного обмена. Общими для всех изученных групп специальностей показателями, претерпевающими модификацию, являются ОХ и ИА. В то же время механизмы нарушений последнего у лиц разных про-

фессий имеют особенности: у аппаратчиков более выраженными являются изменения ХС ЛПВП, для двух других групп – ХС ЛПНП. Причину этого, по всей видимости, следует искать в экспозиционной нагрузке ртутью и особенностях трудового процесса.

В соответствии с Руководством Р.2.2.2006-05 труд рабочих всех профессиональных групп квалифицируется как вредный (класс 3), 1–2-й степени вредности и опасности [6]. При этом установлено, что аппа-

ратчики осуществляют наблюдение за технологическим процессом непосредственно в цехе (около 60 % времени смены), а также ведут дистанционный контроль из помещения щитовой. Слесари и электромонтеры проводят ремонтно-наладочные работы как непосредственно в цехе (40–80 % рабочего времени), так и в ремонтных мастерских. Основными обязанностями ИТР является принятие оперативных решений по соблюдению регламента технологического процесса и эффективной работы оборудования, что сопровождается повышенными психоэмоциональными нагрузками. При нарушениях нормального хода технологических процессов, пусках и остановках оборудования они подвергаются воздействию более высоких концентраций ртути, чем в обычном режиме [6]. Таким образом, можно предположить, что наибольшему воздействию ртути в ходе производственного процесса подвергаются слесари. ИТР помимо возможной экспозиции высокими дозами токсиканта, регулярно испытывают воздействие неблагоприятных психоэмоциональных факторов, играющих отрицательную роль в формировании проатерогенных нарушений. В частности, установленным является тот факт, что гиперлипидемия нервно-эмоционального происхождения представлена гиперхолестеринемией в результате преимущественного увеличения ХС ЛПНП [5]. Снижение концентрации ХС ЛПВП, скорее всего, можно связать с нарушением синтеза ЛПВП в гепатоцитах и энтероцитах [2].

Заключение

Нарушения липидного обмена, выявленные в ходе динамического наблюдения за рабочими, экспонированными парами металлической ртути, детерминированы принадлежностью к определенной профессиональной группе. При этом механизмы развивающихся проатерогенных обменных нарушений различны: у аппаратчиков они обусловлены вкладом ХС ЛПВП и ХС ЛПНП, у слесарей и ИТР – в большей степени, фракцией ХС ЛПНП. Увеличение производственного стажа также оказывает влияние на развитие патологии обмена холестерина.

Список литературы

1. Ефимова Н.В. Оценка риска здоровью населения, обусловленного влиянием ртути // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2003. – № 2. – С. 31–33.
2. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – СПб: Питер Ком, 1999. – 512 с.
3. Клиника, диагностика нарушений в отдаленном периоде профессиональных нейротоксикаций / О.Л. Лахман [и др.]. – Иркутск: РИО ИГиУВа, 2010. – 72 с.
4. Кудяева И.В., Маснавиева Л.Б., Бударина Л.А. Особенности и закономерности нарушений биохимических процессов при формировании профессиональных заболеваний при воздействии различных химических веществ // Экология человека. – 2011. – №1. – С. 3–10.
5. Фокин А.С. Нейрогенная гиперхолестеринемия и атеросклероз // ЭЛБИ. – СПб., 2001. – 192 с.
6. Шаяхметов С.Ф. Оценка загрязнения воздуха рабочей зоны ртутью и содержания ее в биосредах у работников производства каустика и хлора // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 4. – С. 59–63.
7. Шаяхметов С.Ф. Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников предприятий химической промышленности // Мед. труда. – 2008. – № 8. – С. 27–33.
8. Kudayeva I.V. Metallic mercury effect on the indices of oxidative stress in persons with neurological disorders / I.V. Kudayeva, L.B. Masnavieva, L.A. Budarina // European Journal of Natural History. – 2008. – № 3. – P. 54–55.

References

1. Efimova N.V. *Bjulleten' VSNC SO RAMN*, 2003, no.2, pp. 31–33
2. Klimov A.N., Nikul'cheva N.G. *Obmen lipidov i lipoproteidov i ego narushenija*. St.-Pt., 1999. 512p.
3. Lahman O.L., Katamanova E.V., Rusanova D.V., Konstantinova T.N., Shevchenko O.I., Kartapol'ceva N.V., Mewerjagin V.A., Kudaeva I.V., Budarina L.A., Masnavieva L.B., Andreeva O.K., Sudakova N.G. *Klinika, diagnostika narushenij v otдалennom periode professional'nyh nejrointoksikacij*. Irkutsk, 2010. 72 p.
4. Kudaeva I.V., Masnavieva L.B., Budarina L.A. *Jekologija cheloveka*, 2011, no. 1, pp. 3–10.
5. Fokin A.S. *Nejrogennaja giperholesterinemija i ateroskleroz*. St.-Pt., 2001. 192p.
6. Shajahmetov S.F., Liseckaja L.G., Meshhakova N.M. *Bjulleten' VSNC SO RAMN*, 2010, no. 4, pp. 59–63.
7. Shajahmetov S.F., D'jakovich M.P., Meshhakova N.M. *Medicina truda i prmyshlennaja jekologija*, 2008, no.8, pp. 27–33.
8. Kudaeva I.V., Masnavieva L.B., Budarina L.A. *European Journal of Natural History*, 2008, no3, pp. 54–55.

Рецензенты:

Бодиенкова Г.М., д.м.н. профессор кафедры промышленной экологии и гигиены труда ИрГТУ, г. Иркутск;

Катульский Ю.Н., д.б.н. профессор, проректор по научной работе АГТА, г. Ангарск. Работа поступила в редакцию 16.03.2012.

УДК 577.151.03+616.37:591.16:547.262+616-092.9

**СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА,
АЛКОГОЛИЗИРОВАННОГО В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ****Курч Н.М., Высокогорский В.Е.***ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздрава России,
Омск, e-mail: nkurch@mail.ru*

В гомогенатах поджелудочной железы потомства, полученного от самок крыс, алкоголизованных в течение гестационного периода, исследовали состояние системы глутатиона в различные сроки постнатального развития (15, 30 и 60 суток). Обнаружено уменьшение содержания общих сульфгидрильных групп и глутатиона, а также снижение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы. Активность глутатион-S-трансферазы превышала контрольные значения во все сроки наблюдения. Выявленное изменение показателей системы глутатиона отражает сохраняющееся в постнатальном периоде нарушение клеточного редокс-потенциала и может рассматриваться как универсальный механизм клеточной защиты в условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: пренатальная алкогольная интоксикация, окислительный стресс, система глутатиона**PANCREAS GLUTATHIONE SYSTEM OF POSTERITY
ALCOHOLIZED IN PRENATAL PERIOD****Kurch N.M., Vysokogorskiy V.E.***Omsk State Medical Academy, Omsk, e-mail: nkurch@mail.ru*

To female rats ethanol was intragastral injected (4g/kg of an animal weight) daily during all the gestation period. Control female rats received a saline solution. Posterity was killed within different terms of postnatal development (15, 30 and 60 days). In posterity pancreas homogenates glutathione system state was studied. Reduction of sulfhydryl groups, glutathione and decrease of glutathione peroxidase and glutathione reductase as compared with control group indices were found. Glutathione-S-transferase activity exceeded control values through all the observation terms. The revealed glutathione system indices change reflects remaining in postnatal period cell redox-potential disorder and may be considered as a universal preventive mechanism in terms of oxidative stress.

Keywords: prenatal alcohol intoxication, oxidative stress, the glutathione system

Одним из ведущих факторов в формировании основных метаболических нарушений при хронической алкогольной интоксикации является развитие окислительного стресса [3]. Окислительный стресс характеризуется дисбалансом между интенсивной продукцией свободных радикалов и депрессией антиоксидантных систем клетки. Накопление в клетках свободных радикалов может приводить к окислительной модификации молекул, повреждению клеточных структур и в итоге клеточной гибели. В этих условиях важным звеном в процессах инактивации свободных радикалов является система глутатиона, представленная глутатионом и глутатионзависимыми ферментами – глутатионпероксидазой, глутатион-S-трансферазой и глутатионредуктазой. Компоненты данной системы принимают участие не только в восстановлении супероксидрадикалов, перекисей и органических гидроперекисей, но и в обезвреживании высокореакционных вторичных метаболитов, образующихся в клетке при окислительном стрессе [7]. Поэтому истощение глутатионовой системы может приводить к серьезным цитотоксическим и деструктивным эффектам. В ряде работ показано, что алкогольная интоксикация приводит к нарушениям в системе глутати-

она, выражающимся в снижении пула восстановленного глутатиона [3], изменению активности глутатионзависимых ферментов [4].

Поджелудочная железа относится к органам наиболее чувствительным к воздействию алкогольной интоксикации. По данным Э.Р. Буклис [1], от 55 до 80% хронических панкреатитов имеют алкогольный генез. В основе деструктивных изменений при панкреатитах, по мнению ряда авторов, лежит развитие окислительного стресса, обусловленного довольно низкой активностью супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы поджелудочной железы [15]. Кроме того, глутатионсинтетические возможности в поджелудочной железе ниже, чем в печени и почках и при этом значительная часть глутатиона необходима для синтеза ферментов экзокриноцитами [13].

При внутриутробной интоксикации алкоголем, по данным G.I. Henderson [12], эффективного обезвреживания этанола и ацетальдегида, поступившего из кровеносного русла материнского организма в организм плода, не происходит ввиду крайне низкой активности алкогольдегидрогеназы, а также микросомальной этанолюкисляющей системы, достигающей зрелости только в постнатальном периоде развития. В связи

с этим, у плода наиболее ярко проявляются цитотоксический, мутагенный, тератогенный эффекты алкогольной интоксикации. Эти эффекты проявляются в различных тканях плода, таких как мозг, печень, мышечные ткани и др. [14]. Ранее нами получены данные, свидетельствующие о нарушении метаболизма углеводов-белковых комплексов в поджелудочной железе пренатально алкоголизированного потомства крыс [8]. Одним из ведущих факторов в развитии подобных изменений, по-видимому, является окислительный стресс. Данные о роли системы глутатиона в механизме, лежащем в основе повреждающего действия пренатальной алкогольной интоксикации на поджелудочную железу потомства, практически отсутствуют в литературе.

Цель: оценить состояние системы глутатиона поджелудочной железы потомства крыс при воздействии пренатальной алкогольной интоксикации.

Материалы и методы исследования

Самок неинбредных крыс подвергали алкогольной интоксикации весь период гестации путем интрагастрального введения этанола в дозе 4 г/кг массы животных. Потомство, полученное от этих самок, составило группу «Алкоголь». Другая группа самок получала эквивалентное количество физиологического раствора. Потомство этих самок составило группу «Контроль». Животных выводили из эксперимента путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом в возрасте 15, 30 и 60 суток. Для биохимического исследования использовали супернатанты и гомогенаты поджелудочной железы.

Содержание сульфгидрильных групп белков и восстановленного глутатиона в гомогенатах поджелудочной железы определяли с использованием реактива Элмана [10]. Активность глутатион-S-трансферазы оценивали по скорости образования глутатион-S-конъюгатов между восстановленным глутатионом и 1-хлор-2,4-динитробензолом [11]. Активность глутатионредуктазы определяли методом, основанным на измерении скорости уменьшения оптической плотности при 340 нм, обусловленного окислением НАДФ-Н [2], активность глутатионпероксидазы – по реакции взаимодействия восстановленного глутатиона с гидроперекисью трет-бутила [9].

В работе анализировали выборку объемом 280 наблюдений и использовали следующие статистические методы: проверка нормальности распределения коли-

чественных признаков, непараметрический критерий Манна-Уитни. Выборочные параметры, приводимые далее в таблицах, имеют следующие обозначения: Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль, p – достигнутый уровень значимости. Критическое значение уровня значимости принималось равным 0,05. Анализ данных проводили с помощью программы STATISTICA-6.

Результаты исследования и их обсуждение

У потомства крыс, перенесшего пренатальную алкогольную интоксикацию, активность глутатионпероксидазы поджелудочной железы в возрасте 15 суток статистически значимо снижена в 1,8 раза ($p = 0,021$) относительно контрольных значений (табл. 1).

Таблица 1

Активность глутатионпероксидазы поджелудочной железы, мкмоль/мин · г белка, Me(Q1-Q3)

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
Контроль	0,49 (0,36–0,60)	0,41 (0,27–0,59)	0,84 (0,40–0,77)
Алкоголь	0,27 (0,15–0,38) $pU = 0,021$	0,19 (0,11–0,44) $pU = 0,043$	0,42 (0,29–0,72) $pU = 0,032$

При достижении потомством алкоголизированных самок 30-суточного возраста снижение активности фермента продолжалось и разница со значениями группы «Контроль» достигала 2,2 раза ($p = 0,043$). В возрасте 60 суток активность глутатионпероксидазы существенно повышалась, но сохранялось более низкое значение данного показателя по сравнению со значениями контрольной группы (в 2,0 раза, $p = 0,032$).

Несколько иная картина наблюдалась при исследовании активности глутатион-S-трансферазы в поджелудочной железе животных, алкоголизированных в пренатальном периоде. В раннем постнатальном периоде отмечалось увеличение активности фермента в 2,3 раза ($p = 0,001$) в сравнении с данным показателем в группе «Контроль» (табл. 2).

Таблица 2

Активность глутатион-S-трансферазы поджелудочной железы, моль/мин · г белка, Me(Q1-Q3)

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
Контроль	100,25 (84,21–105,87)	83,83 (48,36–101,39)	72,62 (62,09–86,41)
Алкоголь	225,69 (186,72–247,76) $pU = 0,001$	171,04 (118,13–208,39) $pU = 0,001$	141,80 (93,44–164,85) $pU = 0,001$

В возрасте 30 суток активность глутатион-S-трансферазы имела тенденцию к снижению, однако статистически значимо превышала контрольные значения в 2 раза ($p = 0,001$), в возрасте 60 суток – в 1,9 раза ($p = 0,001$).

Поддержание достаточно высокого уровня восстановленного глутатиона путем восстановления его дисульфидной формы обеспечивается глутатионредуктазой. Пренатальная алкогольная интоксикация приводила к снижению активности глутатионредуктазы в поджелудочной железе в возрасте 15 суток в 1,7 раза ($p = 0,002$) (табл. 3).

По мере взросления потомства отмечался рост активности фермента аналогично контрольной группе. В возрасте

30 суток активность глутатионредуктазы статистически значимо ниже контрольных значений в 1,5 раза ($p = 0,021$), в возрасте 60 суток – в 1,3 раза ($p = 0,043$). Согласно полученным данным, регенерации глутатиона в поджелудочной железе у пренатально алкоголизированного потомства на должном уровне не происходило. Наиболее вероятным причинным фактором этого явления может быть недостаточная регенерация НАДФ в пентозофосфатном пути. Исследование активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы у пренатально алкоголизированного потомства крыс выявило снижение данного показателя в возрасте 15 суток в 2,2 раза ($p = 0,019$) относительно контрольных значений (табл. 4).

Таблица 3

Активность глутатионредуктазы поджелудочной железы, мкмоль/мин·г белка, Me(Q1-Q3)

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
Контроль	102,78 (72,45–129,65)	157,18 (131,29–192,33)	186,77 (146,37–283,71)
Алкоголь	61,62 (44,19–69,13) $pU = 0,002$	107,49 (84,06–125,13) $pU = 0,021$	138,83 (93,51–158,85) $pU = 0,043$

Таблица 4

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы поджелудочной железы, мкмоль/мин·г белка, Me(Q1-Q3)

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
Контроль	10,11 (9,81–10,24)	18,67 (16,88–25,02)	24,24 (21,06–26,06)
Алкоголь	4,7 (3,98–5,06) $pU = 0,019$	9,79 (7,06–11,15) $pU = 0,001$	8,09 (6,78–12,03) $pU = 0,001$

В дальнейшем сохранялось статистически значимое уменьшение активности фермента в возрасте 30 суток в 1,9 раза ($p = 0,001$), в возрасте 60 суток – в 3 раза ($p = 0,001$) в сравнении с аналогичным показателем в группе «Контроль».

Выявленные изменения активности ферментов системы глутатиона у пренатально алкоголизированных животных отразились на содержании в ткани поджелудочной железы белковых и небелковых сульфгидрильных групп. В гомогенатах поджелудочной железы потомства, перенесшего пренатальную алкогольную интоксикацию, содержание белковых сульфгидрильных групп в возрасте 15 суток не имело статистически

значимых отличий от контрольных значений (табл. 5).

В дальнейшем, в возрасте 30 суток наблюдалось снижение содержания доступных тиоловых групп белков в 1,54 раза ($p = 0,001$) в сравнении с контрольными значениями, в возрасте 60 суток – в 1,46 раза ($p = 0,001$).

У потомства крыс, перенесших внутриутробное воздействие алкогольной интоксикации, наблюдалось статистически значимое уменьшение содержания небелковых тиоловых групп в поджелудочной железе в возрасте 30 суток в 2 раза ($p = 0,001$), в возрасте 60 суток – в 1,5 раза ($p = 0,001$).

Таблица 5

Содержание сульфгидрильных групп белков и восстановленного глутатиона поджелудочной железы, мкмоль/г белка, Me(Q1-Q3)

Показатель	Группы	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
Сульфгидрильные группы белков, мкмоль/г белка	Контроль	29,51 (20,85–31,64)	31,29 (24,78–35,28)	27,69 (22,85–33,33)
	Алкоголь	24,92 (21,30–26,91) pU = 0,249	20,34 (19,36–21,42) pU = 0,001	18,96 (15,29–21,32) pU = 0,001
Небелковые сульфгидрильные группы, мкмоль/г белка	Контроль	19,85 (19,29–26,90)	22,35 (15,74–23,85)	22,73 (18,27–22,78)
	Алкоголь	18,42 (14,85–23,85) pU = 0,219	11,12 (9,15–13,59) pU = 0,001	14,72 (10,26–17,52) pU = 0,001

Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии пренатальной алкогольной интоксикации на состояние глутатионовой системы поджелудочной железы потомства, сохраняющиеся на протяжении длительного периода постнатального онтогенеза – до достижения животными половой зрелости. Очевидно, что изменения функционирования тиолдисульфидной системы являются реакцией на окислительный стресс. Установленное нами снижение активности глутатионпероксидазы во все сроки эксперимента является неблагоприятным фактором, способствующим падению эффективности обезвреживания пероксидных радикалов, что может приводить к повреждению клеточных структур.

По мнению Л.С. Колесниченко и соавт. [6], уменьшение активности глутатионпероксидазы можно рассматривать как проявление минимализации адаптивных процессов организма в условиях окислительного стресса. При этом активность глутатион-S-трансферазы в поджелудочной железе пренатально алкоголизированных крыс имела более высокие значения, чем в контрольной группе. Синтез данного фермента, обладающего наиболее широкой субстратной специфичностью среди антиоксидантных ферментов, индуцируется под действием продуктов свободнорадикального окисления. Кроме того, у крыс отмечается более высокий индекс экспрессии глутатион-S-трансферазы в ответ на индукторы, чем у других млекопитающих (мышь, человек) [5]. Повышенная скорость потребления восстановленного глутатиона в реакциях обезвреживания свободнорадикальных продуктов отразилась в уменьшении содержания в поджелудочной железе алкоголизированных животных белковых и небелковых сульфгидрильных групп. Определенный вклад в дефицит тиолсодержащих соединений вносило снижение активности глутатионредуктазы, участвующей в процес-

сах регенерации глутатиона и зависящей от наличия восстановленных форм НАДФ. Основным поставщиком восстановленного НАДФ для глутатионредуктазы является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа пентозофосфатного пути, активность которой в результате пренатальной алкогольной интоксикации существенно снижалась во все сроки наблюдения.

Таким образом, выявленные в результате проведенного исследования разнонаправленные изменения активности глутатионзависимых антиоксидантных ферментов поджелудочной железы могут свидетельствовать о дестабилизации системы глутатиона, что может способствовать нарушению процессов адаптации в ответ на развитие окислительного стресса в результате пренатальной алкогольной интоксикации.

Список литературы

1. Буклис Э.Р. Современная классификация хронического панкреатита // Клинич. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2003. – №3. – С. 8–12.
2. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслягина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – №8. – С. 19–21.
3. Высокогорский В.Е., Ефременко Е.С., Грицаева И.Е. Характеристика системы глутатиона при алкогольном абстинентном синдроме // Наркология. – 2006. – №8. – С. 59–61.
4. Нарушение активности ферментов метаболизма глутатиона в печени пренатально алкоголизированных крыс / В.Е. Высокогорский, Н.Л. Самусева, Н.М. Курч, А.В. Индутьный // Современные технологии лабораторной диагностики нового столетия: сборник научных трудов всероссийской конференции «Проблемы медицинской энзимологии». – М., 2002. – С. 56–57.
5. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Некоторые принципы и механизмы редокс-регуляции // Кислород и антиоксиданты. – 2009. – №1. – С. 3–64.
6. Колесниченко Л.С., Баторова Т.М. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы глутатиона мышей при воздействии препаратов железа // Бюллетень ВСНИ СО РАМН. – 2011. – №1. – С. 227–230.

7. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомед. химия. – №3. – С. 255–277.
8. Курч Н.М., Высокогорский В.Е. Нарушение метаболизма углеводсодержащих компонентов соединительной ткани поджелудочной железы при моделировании пренатальной алкогольной интоксикации // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2010. – №11. – С. 52–56.
9. Черданцев Д.В., Винник Ю.С., Каспаров Э.В. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. – Новосибирск, 2002. – 147 с.
10. Beutler E. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. – Grune & Stration. Orlando, 1990. – pp. 131–134.
11. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – no. 249(22). – pp. 7130–7139.
12. Henderson G.I. Ethanol, oxidative stress, reactive aldehydes, and the fetus // Frontiers in Bioscience. – 1999. – no. 4. – pp. 541–550.
13. Neuschwander-Tetri B.A., Presti M.E., Wells L.D. Glutathione synthesis in the exocrine pancreas // Pancreas. – 1997. – no. 14(4). – pp. 342–349.
14. Ornoy A., Ergaz Z. Alcohol abuse in pregnant women: effects on the fetus and newborn, mode of action and maternal treatment // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2010. – no. 7(2). – pp. 364–379.
15. Rasilainen S., Nieminen J.M., Levonen A.L., Otonkoski T., Lapatto R. Dose-dependent cysteine-mediated protection of insulin-producing cells from damage by hydrogen peroxide // Biochem. Pharmacol. – 2002. – no. 63(7). – pp. 1297–1304.
- All-Russian Conference «Problems of medical enzymology» «Modern technologies of laboratory diagnosis of the new century». Moscow, 2002, pp. 56–57.
5. Zenkov N.K., Menshchikova E.B. // *Oxygen and anti-oxidants*, 2009, no.1, pp. 3–64.
6. Kolesnichenko L.S., Batorova T.M. // *Bulletin of the ESSC SB RAMS*, 2011, no.1, pp. 227–230.
7. Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. // *Biomed. himiya*, 2009, no. 3, pp. 255–277.
8. Kurch N.M., Vysokogorskiy V.E. // *Problems of Biology, Honey. and Pharm. Chemistry*, 2010, no.11, pp. 52–56.
9. Cherdantsev D.V., Vinnik Y.S., Kasparov E.V. *Diagnosis and treatment of oxidative stress in acute pancreatitis* (Diagnostika i lechenie oksislitel'nogo stressa pri ostrom pankreatite). Novosibirsk, 2002. 147 p.
10. Beutler E. *Grune & Stration. Orlando.*, 1990, pp. 131–134.
11. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. // *J. Biol. Chem.*, 1974, no. 249(22), pp. 7130–7139.
12. Henderson G.I. // *Frontiers in Bioscience*, 1999, no.4, pp. 541–550.
13. Neuschwander-Tetri B.A., Presti M.E., Wells L.D. // *Pancreas*, 1997, no.14(4), pp. 342–349.
14. Ornoy A., Ergaz Z. // *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, 2010, no.7(2), pp. 364–379.
15. Rasilainen S., Nieminen J.M., Levonen A.L., Otonkoski T., Lapatto R. // *Biochem. Pharmacol.*, 2002, no.63(7), pp. 1297–1304.

References

Рецензенты:

Камилов Ф.Ф., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г. Уфа;

Цейликман В.Э., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Челябинск.

Работа поступила в редакцию 30.03.2012.

УДК 577.171.4/.6:616.69-008.1-053.8(1-17)

СВЯЗЬ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И АНДРОГЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ У МУЖЧИН ЗАПАДНО-ЯКУТСКОГО ПРОМЫШЛЕННОГО РАЙОНА

Лутов Ю.В., Селятицкая В.Г., Кузьминова О.И., Новикова Е.Г.

ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: csem@soram.ru

Проведено комплексное обследование мужчин, трудящихся на промышленных предприятиях г. Мирного Западно-Якутского промышленного района некоренных для Якутии национальностей, в возрастном диапазоне от 22 до 60 лет ($n = 241$). В общей выборке клинические признаки эректильной дисфункции были выявлены у 21,2% мужчин, андрогенный дефицит был определен у 31,1%, а метаболический синдром – у 25,3% мужчин. Формирование эректильной дисфункции и нарастание возрастной частоты её встречаемости было ассоциировано не столько с дефицитом андрогенпродуцирующей функции гонад и надпочечников, сколько с развитием специфических для метаболического синдрома патологических состояний. Наиболее тесной оказалась взаимосвязь эректильной дисфункции с абдоминальным ожирением, артериальной гипертензией, гипергликемией, избыточной массой тела и ожирением, гиперхолестеринемией. Поскольку андрогенный дефицит был также тесно взаимосвязан с рядом основных и дополнительных компонентов метаболического синдрома, это позволило предположить, что его влияние на формирование эректильной дисфункции осуществляется в значительной степени опосредовано путем участия в патогенезе метаболического синдрома.

Ключевые слова: эректильная дисфункция, метаболический синдром и его компоненты, андрогенный дефицит

THE RELATIONSHIP OF ERECTILE DYSFUNCTION WITH METABOLIC SYNDROME AND ANDROGEN DEFICIENCY IN MEN OF THE WEST YAKUT INDUSTRIAL REGION

Lutov Y.V., Selyatitskaya V.G., Kuzminova O.I., Novikova E.G.

Scientific Centre of Clinical and Experimental Medicine Siberian Branch RAMS,
Novosibirsk, e-mail: csem@soram.ru

A complex examination was performed among male workers of industrial enterprises of Mirny, West Yakut industrial region, referring to non-indigenous ethnic groups of Yakutia in the age range of 22-60 years ($n = 241$). In the total sample, clinical signs of erectile dysfunction were found in 21,2% of men, androgen deficiency was diagnosed in 31,1%, and the metabolic syndrome was determined in 25,3% of men. The formation of erectile dysfunction and its increased age-dependent occurrence were associated with the development of metabolic syndrome-specific pathologies rather than with the lack of androgen-producing function of gonads and adrenal glands. The relationship of erectile dysfunction with abdominal obesity, hypertension, hyperglycemia, overweight and obesity as well as hypercholesterolemia proved to be the closest. Androgen deficiency was also closely connected with a number of major and minor components of the metabolic syndrome suggesting that its influence on the formation of erectile dysfunction is largely mediated by the participation in the metabolic syndrome pathogenesis.

Keywords: erectile dysfunction, metabolic syndrome and its components, androgen deficiency

Эректильная дисфункция (ЭД) является одним из наиболее распространённых и важных с медико-социальной точки зрения патологических состояний у мужчин репродуктивного и пожилого возраста, поскольку она оказывает выраженное негативное влияние на их качество жизни и фертильность [11, 13]. Многие исследователи сходятся во мнении, что, помимо собственной значимости в сфере андрологии, ЭД должна рассматриваться в качестве индикатора и даже предиктора сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний, таких как артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца, системный атеросклероз сосудов, сахарный диабет 2 типа. Эти заболевания имеют в основе патогенеза инсулинорезистентность (ИР) и тесно связаны с метаболическим синдромом (МС), распространённость которого непрерывно увеличивается [1, 10, 12, 14].

У мужчин, имеющих МС, ЭД выявляется с высокой, но различающейся в зависимости от дизайна исследования, частотой (27–76%), возникает раньше и имеет более тяжёлое течение, чем в его отсутствии. Влияние отдельных компонентов МС на тяжесть ЭД неодинаково. Наиболее значимыми для формирования ЭД одни исследователи называют ИР, гиперинсулинемию, гипертриглицеридемию, гипергликемию, а другие – абдоминальное ожирение (АО), гипергликемию и АГ. При этом выраженность ЭД имеет прямую зависимость от количества выявляемых компонентов МС [5, 7, 8]. Эректильная функция также связана с уровнем тестостерона в крови в силу его влияния на либидо и качество спонтанных и адекватных эрекций, а также существенного вклада в регуляцию функции эндотелия [2]. При этом убедительно доказана тесная двусторонняя взаимосвязь между

содержанием тестостерона в крови и МС, особенно у молодых мужчин [6].

Встречаемость МС, андрогенного дефицита и ЭД закономерно повышаются с возрастом. Однако в современном мире эти патологические состояния существенно «помолодели»: уровень свободного тестостерона начинает снижаться уже с 30–35-летнего возраста, тенденция к нарастанию отмечается в отношении ожирения, АГ, нарушений углеводного и жирового обменов [6, 9]. Клинические проявления ЭД нередко возникают раньше, чем сердечно-сосудистые заболевания, в связи с чем нельзя недооценивать необходимость раннего определения этого андрологического расстройства, изучения механизмов его развития. Вопросы, касающиеся ассоциации ЭД и МС, могут иметь определенную специфику у жителей северных регионов, для которых показаны особенности в сравнении с жителями средних широт в частоте встречаемости метаболического синдрома и его отдельных компонентов [4].

Цель исследования: изучить ассоциацию ЭД с гормонально-биохимическими, антропометрическими и клиническими параметрами организма, характеризующими наличие МС и его отдельных компонентов, а также андрогенного дефицита, у работающих мужчин, постоянно проживающих в г. Мирном Западно-Якутского промышленного района.

Материал и методы исследования

Провели комплексное обследование мужчин ($n = 241$), трудящихся на промышленных предприятиях г. Мирного Западно-Якутского промышленного района некоренных для Якутии национальностей, в возрастном диапазоне от 22 до 60 лет. Все мужчины дали информированное согласие на включение в исследование, которое соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией, и получило разрешение локального комитета по биомедицинской этике. Измеряли рост (м), массу тела (кг), окружность талии (ОТ, см), окружность бёдер (ОБ, см), систолическое и диастолическое артериальное давление (АДс и АДд, мм рт. ст.). Для определения избыточной массы тела и ожирения рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по формуле: масса тела (кг)/рост (м)². Рассчитывали отношение ОТ/ОБ, величина которого отражает особенности топографии жировой ткани с учетом индивидуальных антропометрических характеристик организма. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы (мМ), альфа-холестерина (мМ), триглицеридов (мМ), общего холестерина (мМ), мочевой кислоты (мкМ) по стандартным методикам на биохимическом анализаторе «Konelab 30i», Thermo Clinical Labsystems, (Финляндия). В сыворотке крови иммуноферментным методом измеряли концентрацию гормонов: общего тестостерона (референсный интервал 12,1–38,3 нМ); дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭАС) (1,0–4,2 мкг/мл); иммунореактив-

ного инсулина (ИРИ) (2,1–22 мкМЕ/мл), лептина (2,0–5,6 нг/мл). Для выявления ИР рассчитывали индекс НОМА-IR ($[\text{глюкоза (мМ)} \cdot \text{ИРИ (мкЕд/мл)}] / 22,5$), при значениях которого $> 2,77$ регистрировали ИР.

Выявление ЭД проводили на основе широко используемой оценочной шкалы мужской копулятивной функции [3]. У мужчин с уровнем тестостерона в крови ниже референсных значений фиксировали андрогенный дефицит. Наличие пяти основных компонентов МС (АО, АГ, гипергликемии, гипертриглицеридемии и гипоальфахолестеринемии) оценивали по критериям американских экспертов Национальной образовательной программы по холестерину (NCEP-АТР III) [10]. В случаях, когда у мужчин одновременно выявляли 3 и более основных компонентов, устанавливали наличие МС. В качестве дополнительных компонентов МС учитывали суммарно избыточную массу тела и общее ожирение ($\text{ИМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$), гиперхолестеринемии (при содержании общего холестерина в крови $> 5,2 \text{ мМ}$) и гиперурикемию (при содержании мочевой кислоты в крови $> 400 \text{ мкМ}$).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statistica 8,0» (StatSoft, США). Абсолютные значения исследованных показателей представлены в виде средних значений и их стандартного отклонения ($M \pm \sigma$). Поскольку распределение значений ИРИ, индекса НОМА-IR и лептина в выборке при проверке по критерию Колмогорова-Смирнова значительно отличалось от нормального, для представления величин этих показателей использовали медиану. Частоты встречаемости МС, его отдельных компонентов, андрогенного дефицита и ЭД представлены в %. Для сравнения абсолютных значений признаков использовали критерий Манна-Уитни, при сравнении частотных характеристик применяли критерий χ^2 или точный критерий Фишера. Для проведения корреляционного анализа использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (rs). Достоверными признавали межгрупповые различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Клинические признаки ЭД были выявлены у 21,2% обследованных мужчин. Средний возраст в подгруппе мужчин с ЭД был выше, чем в подгруппе мужчин с нормальной эректильной функцией ($48,4 \pm 7,7$ и $38,2 \pm 8,2$ лет соответственно $p < 0,0001$). Андрогенный дефицит был определен у 31,1% мужчин, средний возраст в подгруппе мужчин с андрогенным дефицитом был $41,5 \pm 8,71$ лет, а в подгруппе мужчин без андрогенного дефицита – $39,9 \pm 9,21$ лет. Метаболический синдром был выявлен у 25,3% мужчин. Средний возраст в подгруппе мужчин с МС составил $43,0 \pm 9,24$ лет, а в подгруппе без МС – $39,5 \pm 8,87$ лет ($p = 0,015$).

Для определения возможной связи ЭД с МС все обследованные мужчины были разделены на две подгруппы – с метаболическим синдромом или без него. В подгруппе мужчин с МС частота случаев ЭД составила 34,4%. Концентрации тестостерона

и дегидроэпиандростерон-сульфата в сыворотке крови у них были $14,4 \pm 6,4$ нмоль/л и $2,30 \pm 1,29$ мкг/мл соответственно, а частота андрогенного дефицита составила 44,3%. В подгруппе мужчин без МС частота встречаемости ЭД составила 16,7% ($p = 0,0059$ по сравнению с подгруппой мужчин с МС). Концентрации тестостерона и дегидроэпиандростерон-сульфата в сыворотке крови у них были $19,0 \pm 8,8$ нмоль/л и $2,59 \pm 1,87$ мкг/мл соответственно ($p = 0,0002$ для тестостерона по сравнению с подгруппой мужчин с МС), а частота андрогенного дефицита составила 26,7% ($p = 0,0162$ по сравнению с подгруппой мужчин с МС).

Таким образом, у мужчин с МС в два раза чаще встречалась ЭД, были достоверно ниже уровень тестостерона и выше частота андрогенного дефицита, что позволяет го-

ворить об ассоциации всех указанных признаков между собой.

Для ответа на вопрос, с какими именно нарушениями гормонально-метаболических параметров организма была ассоциирована ЭД, всех обследованных мужчин разделили на две подгруппы – с ЭД или без нее. Результаты анализа исследованных параметров организма в зависимости от наличия ЭД представлены в таблице. Видно, что у мужчин с ЭД по сравнению с мужчинами без ЭД были выше величины ОТ, соотношения ОТ/ОБ, АДс, АДд, ИМТ, содержания глюкозы и общего холестерина в крови. Подобная закономерность была установлена и для частот встречаемости основных и дополнительных компонентов МС – у мужчин с ЭД чаще имели место АГ, гипергликемия и избыточная масса тела.

Антропометрические, клинические и биохимические показатели ($M \pm \sigma$), характеризующие основные и дополнительные компоненты метаболического синдрома и андрологический статус; частоты встречаемости компонентов метаболического синдрома и андрогенного дефицита (%) у мужчин в зависимости от наличия эректильной дисфункции

Показатель	С эректильной дис- функцией ($n = 58$)	Без эректильной дис- функции ($n = 203$)	p
Метаболический синдром, %	41,2	21,1	0,0059
<i>Основные компоненты метаболического синдрома</i>			
Окружность талии (см)	$99,7 \pm 11,2$	$92,6 \pm 10,8$	0,0002
Абдоминальное ожирение, %	33,3	22,6	н.д.
АД систолическое (мм.рт.ст.)	$141,2 \pm 17,7$	$131,7 \pm 15,9$	0,0002
АД диастолическое (мм.рт.ст.)	$90,7 \pm 11,3$	$84,1 \pm 12,8$	0,0005
Артериальная гипертензия, %	80,4	55,8	0,0024
Триглицериды (мМ)	$1,35 \pm 0,58$	$1,28 \pm 0,79$	н.д.
Гипертриглицеридемия, %	23,5	21,1	н.д.
Альфа-холестерин (мМ)	$1,15 \pm 0,29$	$1,24 \pm 0,37$	н.д.
Гипоальфахолестеринемия, %	37,3	29,5	н.д.
Глюкоза натощак (мМ)	$5,59 \pm 0,78$	$5,16 \pm 0,82$	< 0,0001
Гипергликемия, %	43,1	23,7	0,01
<i>Дополнительные компоненты метаболического синдрома</i>			
Окружность талии / окружность бёдер	$0,939 \pm 0,057$	$0,901 \pm 0,060$	0,0001
Индекс массы тела (кг/м ²)	$29,5 \pm 5,34$	$26,7 \pm 4,13$	0,0008
Избыточная масса тела, %	84,3	64,2	0,0101
Общий холестерин (мМ)	$5,58 \pm 1,09$	$5,17 \pm 1,10$	0,0352
Гиперхолестеринемия, %	52,9	42,6	н.д.
Мочевая кислота (мкМ)	$368,0 \pm 74,2$	$352,4 \pm 74,4$	н.д.
Гиперурикемия, %	29,4	24,7	н.д.
Дегидроэпиандростерон-сульфат (мкг/мл)	$2,00 \pm 1,02$	$2,66 \pm 1,86$	0,0022
Тестостерон (нМ)	$15,5 \pm 7,36$	$18,4 \pm 8,69$	0,029
Андрогенный дефицит, %	39,2	28,9	н.д.

В итоге, МС у мужчин с ЭД встречался почти в 2 раза чаще, чем у мужчин с нормальной эректильной функцией. Различия были выявлены и в гормональном андрологическом статусе: у мужчин с ЭД по сравнению с мужчинами с нормальной эректиль-

ной функцией были ниже концентрации как тестостерона, так и ДЭАС, однако достоверных различий в частоте андрогенного дефицита выявлено не было.

У мужчин с ЭД медианы ИРИ и индекса НОМА-IR составили 6,82 мкМЕ/мл

и 1,64 у.е. соответственно в то время как у мужчин с нормальной эректильной функцией эти показатели были равны 5,98 мкМЕ/мл и 1,35 у.е. Хотя достоверных межгрупповых различий по указанным параметрам не было выявлено, отмечена тенденция к нарастанию величины индекса HOMA-IR у мужчин с ЭД ($p = 0,063$). Частота встречаемости случаев ИР в сравниваемых группах также значимо не различалась: 23,5% у мужчин с ЭД и 17,9% у мужчин без ЭД. Вклад лептина в патогенез МС не вызывает сомнений [15], однако представляла интерес возможная роль этого гормона в формировании ЭД, также имеющей тесную взаимосвязь с МС. У мужчин с ЭД величина медианы лептина составила 8,03 нг/мл, в то время как у мужчин с нормальной эректильной функцией этот показатель был равен 6,93 нг/мл. В процессе корреляционного анализа также не выявлено значимых связей лептина с наличием ЭД и количеством клинических признаков ЭД. В то же время выявлены обратная корреляционная связь уровня лептина с концентрацией тестостерона ($rs = -0,340$) и прямая – с андрогенным дефицитом ($rs = 0,249$). Вероятно, лептин может оказывать влияние на формирование ЭД опосредованно через его связь с андрогенным статусом организма.

Корреляционный анализ показал, что возраст мужчин был прямо связан с частотой встречаемости ЭД ($rs = 0,462$); с частотой встречаемости МС ($rs = 0,157$) и его основных компонентов: АГ ($rs = 0,267$), АО ($rs = 0,208$), гипергликемией ($rs = 0,143$); с дополнительными компонентами МС: гиперхолестеринемией ($rs = 0,290$), избыточной массой тела и ожирением ($rs = 0,175$). Отрицательная корреляционная связь возраста установлена с уровнем ДЭАС ($rs = -0,374$), что, вероятно, обусловлено возрастным снижением андрогенсинтетической функции коры надпочечников. Обращает на себя внимание отсутствие достоверной ассоциации возраста с уровнем тестостерона и андрогенным дефицитом.

Количество клинических признаков ЭД, одновременно выявляемых у каждого из обследованных мужчин, имело достоверные прямые корреляционные связи с возрастом ($rs = 0,457$), уровнем глюкозы ($rs = 0,255$), величинами ОТ ($rs = 0,242$), соотношения ОТ/ОБ ($rs = 0,242$), АДс ($rs = 0,240$), АДд ($rs = 0,229$), ИМТ ($rs = 0,220$), содержанием в сыворотке крови общего холестерина ($r = 0,145$). Выявлены отрицательные корреляционные связи этого показателя с содержанием ДЭАС ($rs = -0,195$) и тестостерона ($rs = -0,136$). Аналогичные результаты получены и по частотным характеристикам.

В частности, наличие ЭД было положительно связано с АГ ($rs = 0,206$), собственно МС ($rs = 0,189$), гипергликемией ($rs = 0,177$), избыточной массой тела и общим ожирением ($rs = 0,177$); при этом связи ЭД с андрогенным дефицитом не было обнаружено.

Уровень тестостерона имел обратные корреляционные связи с величиной ОТ ($rs = -0,334$), содержанием триглицеридов в сыворотке крови ($rs = -0,244$), с величинами АДд ($rs = -0,164$), АДс ($rs = -0,147$), ИМТ ($rs = -0,322$), ОТ/ОБ ($rs = -0,297$), индекса HOMA-IR ($rs = -0,239$), с содержанием в сыворотке крови мочевой кислоты ($rs = -0,278$), общего холестерина ($rs = -0,174$), лептина ($rs = -0,340$), с числом симптомов ЭД ($rs = -0,136$). Для андрогенного дефицита выявлены значимые прямые корреляционные связи с двумя основными компонентами МС – АО ($rs = 0,256$) и гипертриглицеридемией ($rs = 0,127$), с МС ($rs = 0,165$), а также с дополнительными компонентами МС – избыточной массой тела и ожирением ($rs = 0,225$), гиперурикемией ($rs = 0,223$), гиперхолестеринемией ($rs = 0,133$), ИР ($rs = 0,130$).

Заключение

Формирование ЭД у мужчин, постоянно проживающих в Западно-Якутском промышленном районе, и нарастание частоты её встречаемости с возрастом ассоциированы не столько с развитием дефицита андрогенпродуцирующей функции гонад и надпочечников, сколько с развитием специфических для МС патологических состояний. Наиболее тесной оказалась взаимосвязь ЭД с АО, АГ, гипергликемией, избыточной массой тела и ожирением, гиперхолестеринемией. Выявленная тесная взаимосвязь андрогенного дефицита с рядом основных и дополнительных компонентов МС позволяет предположить, что его влияние на формирование ЭД в значительной степени осуществляется путём активного участия в патогенезе МС.

Список литературы

1. Бакшеев В.И. Синдром эректильной дисфункции в практике терапевта / В.И. Бакшеев, Н.М. Коломоец, А.И. Гончарук // Клин. мед. – 2005. – №3. – С. 16–23.
2. Гамидов С.И. Особенности патогенеза, диагностики и лечения эректильной дисфункции у больных с гипогонадизмом / С.И. Гамидов, О.Х. Тажетдинов, А.А. Павловичев, А.Ю. Попова, Р.А. Тхагапсоева // Пробл. эндокринологии. – 2010. – №5. – С. 33–42.
3. Лоран О.Б. Климатерические расстройства у мужчин / О.Б. Лоран, А.С. Сегал. – М.: OGGI Production, 1999. – 88 с.
4. Лутов Ю.В. Оценка распространённости метаболического синдрома в зависимости от критериев диагноза у работников горнодобывающей промышленности Якутии / Ю.В. Лутов, В.Г. Селятицкая, Ю.А. Николаев, И.М. Митро-

фанов // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т.16, №5. – С. 474–478.

5. Мазо Е.Б. Патогенез эректильной дисфункции при метаболическом синдроме / Е.Б. Мазо, С.И. Гамидов, В.В. Иремашвили, Р.В. Гасанов // Вестник РАМН. – 2008. – №2. – С. 21–26.

6. Новикова Е.Г. Связь гипогонадизма с метаболическим синдромом у мужчин разных возрастных групп / Е.Г. Новикова, В.Г. Селятицкая, Ю.В. Лутов, И.М. Митрофанов // Вестник НГУ. – 2012. – Т.10, Вып. 1. – С. 54–62.

7. Demir T. Prevalence of erectile dysfunction in patients with metabolic syndrome / T. Demir, O. Demir, A. Kefi, A. Comlekci, S. Yesil, A. Esen // Int. J. Urol. – 2006. – Vol. 13, № 4. – P. 385–388.

8. Esposito K. High proportions of erectile dysfunction in men with the metabolic syndrome / K. Esposito, F. Giugliano, E. Martedì, G. Feola, R. Marfella, M. D'Armiento, D. Giugliano // Diabetes Care. – 2005. – Vol. 28, №5. – P. 1201–1203.

9. Feldman H.A. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study / H.A. Feldman, C. Longcope, C.A. Derby, C.B. Johannes, A.B. Araujo, A.D. Coviello, W.J. Bremner, J.B. McKinlay // J. Clin. Endocr. – 2002. – Vol. 87. – P. 589–598.

10. Grundy S.M. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association / National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement / S.M. Grundy, J.I. Cleeman, S.R. Daniels, K.A. Donato, R.H. Eckel, B.A. Franklin, D.J. Gordon, R.M. Krauss, P.J. Savage, S.C. Smith, J.A. Spertus, F. Costa // Circulation. – 2005. – Vol. 112. – P. 2735–2752.

11. Nicolosi A. Epidemiology of erectile dysfunction in four countries: cross-national study of the prevalence and correlates of erectile dysfunction / A. Nicolosi, E.D.Jr. Moreira, M. Shirai, M.I. Bin Mohd Tambi, D.B. Glasser // Urology. – 2003. – Vol. 61. – P. 201–206.

12. Pohiantähti-Maaroos H. Comparison of metabolic syndrome subjects with and without erectile dysfunction – levels of circulating oxidized LDL and arterial elasticity / H. Pohiantähti-Maaroos, A. Palomäki // Int. J. Clin. Pract. – 2011. – Vol. 65, № 3. – P. 274–280.

13. Prins J. Prevalence of erectile dysfunction: a review of population based studies / J. Prins, M.N. Blanker, A.M. Bohnen, S. Thomas, J.L. Bosch // Int. J. Impotence Res. – 2002. – Vol. 14, № 6. – P. 422–432.

14. Schipilliti M. Metabolic syndrome and erectile dysfunction: the ultrasound evaluation of cavernosal atherosclerosis / M. Schipilliti, N. Caretta, P. Palego, R. Selice, A. Ferlin, C. Foresta // Diabetes Care. – 2011. – Vol. 34, № 8. – P. 1875–1877.

15. Yun J.E. Serum leptin is associated with metabolic syndrome in obese and nonobese Korean populations / J.E. Yun, H. Kimm, J. Jo, S.H. Jee // Metabolism. – 2010. – Vol. 59, № 3. – P. 424–429.

References

1. Baksheev V.I., Kolomoets N.M., Goncharuk A.I. *Clinicheskaya Meditsina – Clinical Medicine*, 2005, no 3, pp. 16–23.

2. Gamidov S.I., Tazhetdinov O.Kh., Pavlovichev A.A., Popova A.Yu., Tkhaapsoeva R.A. *Problemy Endocrinologii – Problems of Endocrinology*, 2010, no 5, pp. 33–42.

3. Loran O.B., Segal A.S. *Klimaktericheskie rasstroystva u muzhchin* [Climacteric disorders at men]. Moscow, OGGI Production, 1999, 88 p.

4. Lutov Yu.V., Selyatitskaya V.G., Nikolaev Yu.A., Mitrofanov I.M. *Arterialnaya Gipertenziya – Arterial Hypertension*, 2010, no 5, pp. 474–478.

5. Mazo E.B., Gamidov S.I., Iremashvili V.V., Gasanov R.V. *Vestnik RAMN – Bulletin of RAMS*, 2008, no 2, pp. 21–26.

6. Novikova E.G., Selyatitskaya V.G., Lutov Yu.V., Mitrofanov I.M. *Vestnik NGU – Bulletin of NGU*, 2012, no 1, pp. 54–62.

7. Demir T. Demir O., Kefi A., Comlekci A., Yesil S., Esen A. *Int. J. Urol.*, 2006, 13 (4), 385–388.

8. Esposito K., Giugliano F., Martedì E., Feola G., Marfella R., D'Armiento M., Giugliano D. *Diabetes Care*, 2005, 28 (5), 1201–1203.

9. Feldman H.A., Longcope C., Derby C.A., Johannes C.B., Araujo A.B., Coviello A.D., Bremner W.J., McKinlay J.B. *J. Clin. Endocr.*, 2002, 87, 589–598.

10. Grundy S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R., Donato K.A., Eckel R.H., Franklin B.A., Gordon D.J., Krauss R.M., Savage P.J., Smith S.C., Spertus J.A., Costa F. *Circulation*, 2005, 112, 2735–2752.

11. Nicolosi A., Moreira E.D.Jr., Shirai M., Bin Mohd Tambi M.I., Glasser D.B. *Urology*, 2003, 61, 201–206.

12. Pohiantähti-Maaroos H., Palomäki A. *Int. J. Clin. Pract.*, 2011, 65 (3), 274–280.

13. Prins J., Blanker M.N., Bohnen A.M., Thomas S., Bosch J.L. *Int. J. Impotence Res.*, 2002, 14 (6), 422–432.

14. Schipilliti M., Caretta N., Palego P., Selice R., Ferlin A., Foresta C. *Diabetes Care*, 2011, 34 (8), 1875–1877.

15. Yun J.E., Kimm H., Jo J., Jee S.H. *Metabolism*, 2010, 59 (3), 424–429.

Рецензенты:

Непомнящих Л.М., д.м.н., профессор, директор ФГБУ «НИИ региональной патологии и патоморфологии» Сибирского отделения РАМН, заведующий отделом общей патологии и патоморфологии, г. Новосибирск;

Поляков Л.М., д.м.н., профессор, заместитель директора ФГБУ «НИИ биохимии» Сибирского отделения РАМН по научной работе, заведующий лабораторией медицинских биотехнологий, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 11.04.2012.

УДК 611.621/.018.1:616.65:616.62-008.22

РОЛЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ДЕТРУЗОРА И ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РАЗВИТИИ ГИПЕРАКТИВНОГО МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Неймарк А.И., Исаенко В.И.,

Молодых О.П., Колдышева Е.В., Жук А.Г., Лихачев А.Г.

НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН,

Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru

Изучен характер структурной реорганизации гладкомышечных клеток детрузора гиперактивного мочевого пузыря и предстательной железы при ее доброкачественной гиперплазии. Показано, что ремоделирование гиперактивного детрузора и предстательной железы в значительной степени обусловлено дистрофическими-атрофическими изменениями и элиминацией гладкомышечных клеток с развитием компенсаторной гипертрофии сохранившихся клеток и заместительным диффузным или очагово-диффузным фиброзом. К важной патоморфологической особенности гиперактивного мочевого пузыря относится очаговая или диффузная лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация всех оболочек детрузора. Эти изменения коррелируют с выраженным ремоделированием glandularного и фиброзно-мышечного слоев предстательной железы. В детрузоре гиперактивного мочевого пузыря и предстательной железе при доброкачественной гиперплазии выделены стереотипные формы внутриклеточной реорганизации гладкомышечных клеток, которые отражают как компенсаторно-приспособительные реакции (гипертрофированные клетки с малоизмененной ультраструктурой), так и типы повреждений гладкомышечных клеток («темные» клетки с высокой электронной плотностью и «светлые» клетки с выраженным лизисом миофиламентов и дисконкомплексацией органелл). Установленные типы внутриклеточной реорганизации гладкомышечных клеток гиперактивного детрузора и предстательной железы могут быть использованы в качестве критериев выраженности ремоделирования мочевого пузыря.

Ключевые слова: гиперактивный мочевой пузырь, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, патоморфология, ультраструктура

ROLE OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL REORGANIZATIONS OF DETRUSOR AND PROSTATIC SMOOTH MUSCLE CELLS IN DEVELOPMENT OF OVERACTIVE BLADDER

Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Neimark A.I., Isaenko V.I.,

Molodykh O.P., Koldysheva E.V., Zhuk A.G., Likhachev A.G.

Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS, e-mail: pathol@soramn.ru

Main characteristics of structural reorganization of smooth muscle cells of overactive detrusor in benign prostatic hyperplasia were studied. It is shown that the remodeling of overactive detrusor and prostate gland is caused by dystrophy, atrophy and elimination of smooth muscle cells with the development of compensatory hypertrophy of surviving cells and substitution diffuse or focal-diffuse fibrosis. The important pathomorphologic feature of overactive bladder is focal or diffuse lymphocyte-plasmocyte infiltration affecting all layers of detrusor. These changes correlate with significant remodeling of glandular and fibro-muscular layers of the prostate gland. The stereotype forms of intracellular reorganization of smooth muscle cells, which reflect both compensatory-adaptive reactions (hypertrophied cells with little changed ultrastructure) and damage types of smooth muscle cells (the «dark» cells with high electron density and the «pale» cells with pronounced myofilament lysis and organelle decomposition) were revealed in overactive bladder detrusor and in prostate under benign hyperplasia. Established types of intracellular reorganization of the smooth muscle cells of overactive detrusor and prostate gland can be used as criteria of severity of remodeling of the bladder.

Keywords: hyperactive urinary bladder, prostate benign hyperplasia, pathomorphology, ultrastructure

Синдром гиперактивного мочевого пузыря (ГАМП) характеризуется ургентными позывами к мочеиспусканию с недержанием мочи или без него, учащенным мочеиспусканием и ноктурией, что значительно снижает качество жизни пациентов [2, 9, 13]. У мужчин одной из ведущих причин возникновения ГАМП считается обструкция нижних мочевых путей при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) [1]. В то же время взаимосвязь между ГАМП и простатической обструкцией мочевых путей до настоящего времени остается недостаточно изученной. Длительные наблюдения (свыше 10 лет) за

пациентами показали, что тяжесть симптомов ГАМП с возрастом ухудшается, хотя обструкция при этом может не усиливаться [6]; примерно у 40 % мужчин нарушения мочеиспускания сохраняются после оперативного устранения обструкции мочевых путей [1]. Степень дисфункции и ремоделирования мочевого пузыря при ДГПЖ может значительно варьироваться, однако в настоящее время отсутствуют достаточно надежные и информативные клинические критерии для оценки выраженности такого ремоделирования.

При изучении патофизиологических механизмов ГАМП в последнее время особое

внимание уделяется системным и местным нейрональным нарушениям, иммунным сдвигам, дисфункции гладкомышечных клеток (ГМК) детрузора. В то же время следует отметить, что характеристике структурно-функциональных изменений ГМК мочевого пузыря и предстательной железы (ПЖ) при разных патологических процессах уделяется мало внимания. ГМК при ДГПЖ практически не бывают объектом самостоятельного исследования, что не позволяет судить о вкладе разных вариантов их структурно-функционального ремоделирования в развитие патологии нижних мочевых путей. Неудовлетворительные результаты лечения ГАМП связаны с недостаточным пониманием структурно-функциональных изменений нижних мочевых путей у больных с ДГПЖ и, как следствие, выбором неадекватных подходов к лечению.

Цель исследования – изучить основные типы повреждений и ремоделирования ГМК детрузора и ПЖ при ГАМП на фоне ДГПЖ.

Материал и методы исследования

Образцы ПЖ и детрузора (размерами 0,5–1,0 см), полученные в диагностических целях у 87 пациентов с ДГПЖ (средний возраст $66,3 \pm 0,6$ лет), фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, заключали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону. Все исследования выполнены с информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации (2000 г.).

Для получения полутонких и ультратонких срезов образцы фиксировали в 4%-м параформальдегиде, постфиксировали в 1%-м четырехокиси осмия, после дегидратации заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультратомах LKB III и Leica ULTRACUT EM UC7 (Leica, Германия). Полутонкие срезы окрашивали азуром II, ультратонкие – контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Парафиновые и полутонкие срезы исследовали в универсальном микроскопе Leica DM 4000B, фотографировали с помощью цифровой камеры Leica DFC320 с использованием компьютерной программы Leica QWinV3. Ультратонкие срезы анализировали в электронном микроскопе JEM1400 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ, фотографировали с помощью цифровой камеры Veleta при использовании программного обеспечения iTEM (Olympus, Япония, Германия).

С помощью тестовой решетки (256 точек) оценивали объемную плотность соединительной ткани, ГМК, их ядер. Количественные данные сравнивали с образцами мочевого пузыря, взятыми при аутопсии из аналогичных с прижизненными исследованиями локализаций у 12 мужчин (средний возраст $67,5 \pm 0,8$ лет), умерших от различных причин и не имевших ДГПЖ. Количественные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы SPSS. Для анализа межгрупповых различий применяли t-критерий Стьюдента; значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных ДГПЖ выявлялись симптомы ГАМП: поллакиурия (более 8 микций за сутки), ноктурия (1–2 микции за ночь), императивные позывы. Характерными были комбинированные расстройства мочеиспускания, увеличение уровня простатспецифического антигена в крови (до $1,29 \pm 0,19$ нг/мл), которое всегда сопровождалось увеличением объема ПЖ (до $43,34 \pm 2,02$ см³).

Во фрагментах детрузора мочевого пузыря присутствовали, как правило, все слои. Слизистая оболочка была покрыта переходным эпителием (уротелием), часто образывала складки, формируя псевдоэпителиальные выросты. Отмечались умеренные и выраженные дистрофические изменения эпителиоцитов с формированием вокруг ядер зон «опустошения». В собственной пластинке слизистой оболочки часто регистрировался выраженный отек, лимфостаз; отмечалось формирование многочисленных лакунообразных щелей, что придавало собственной пластинке ячеистый вид. В собственной пластинке всегда наблюдалась диффузная или очаговая мононуклеарная (лимфоцитарно-плазмочитарная) инфильтрация; в некоторых образцах присутствовали крупные лимфоидные фолликулы.

В подслизистой оболочке (основе) разрозненные ГМК и/или их пучки были оплетены утолщенными пучками коллагеновых волокон. Отмечались как дистрофически-атрофические, так и гипертрофические изменения ГМК. Лимфоцитарно-плазмочитарная инфильтрация была очаговой (преимущественно периваскулярной) или диффузной, очень выраженной. Мышечная оболочка мочевого пузыря была образована пучками ГМК, которые располагались под разными углами друг к другу. К важным патоморфологическим характеристикам ГМК при ГАМП следует отнести их выраженную фенотипическую гетерогенность (полиморфизм, разнообразие). В составе мышечных пучков находились дистрофически и некробиотически измененные ГМК (с вакуолизацией, конденсацией и литическими изменениями саркоплазмы) и гипертрофированные ГМК. О гипертрофии ГМК косвенно свидетельствовало уменьшение их ядерно-цитоплазматического соотношения – на 25 % (с $0,036 \pm 0,003$ в группе сравнения до $0,027 \pm 0,001$, $p < 0,05$).

В мышечной оболочке мочевого пузыря всегда регистрировалась разной степени выраженности диффузная и/или мелкоочаговая лимфоцитарно-плазмочитарная инфильтрация.

трация. Анализ выраженности мононуклеарной инфильтрации в разных оболочках стенки мочевого пузыря свидетельствовал о том, что распространение инфильтрата происходило от слизистой к мышечной оболочке начиная с периваскулярных зон. Во всех образцах выявлен выраженный межпучковый и межволоконный (межклеточный) фиброз, иногда со значительными разрастаниями соединительной ткани, объемная плотность которой достоверно возрастала на 142% (от $10,31 \pm 1,95\%$ в группе сравнения до $24,96 \pm 3,67\%$, $p < 0,01$). При этом объемная плотность ГМК достоверно снижалась на 39% (с $50,63 \pm 0,78$ до $41,02 \pm 1,44\%$, $p < 0,05$).

Патоморфологический анализ фрагментов ПЖ при ее доброкачественной гиперплазии свидетельствовал о значительных изменениях архитектоники органа – ремоделировании как железистого, так и фиброзно-мышечного отделов. В железистом отделе нарушения эвакуации простатического секрета и кистозная трансформация концевых отделов желез с метаплазией эпителия сопровождалась очаговой и/или очагово-диффузной лимфоцитарно-плазмочитарной инфильтрацией с деструкцией в таких участках гладкомышечного каркаса и развитием выраженного заместительного фиброза. В малоизмененных участках развивалась компенсаторная гипертрофия ГМК. Ремоделирование фиброзно-мышечного слоя определялось сочетанием дистрофически-атрофических и гипертрофических изменений ГМК, значительной диффузной и/или очагово-диффузной мононуклеарной инфильтрацией и выраженным межпучковым и межволоконным фиброзом.

По данным ультраструктурного анализа, выраженная фенотипическая гетерогенность ГМК в детрузоре при ДГПЖ была обусловлена характером внутриклеточных изменений и размерами клеток. Выделены три субпопуляции ГМК: клетки с малоизмененной ультраструктурой; «темные» клетки с высокой электронной плотностью и компактным расположением ультраструктур; «светлые» клетки с выраженным лизисом миофиламентов, их редукцией и дисконкомплексацией органелл. ГМК с малоизмененной ультраструктурой были, как правило, гипертрофированными; в их саркоплазме присутствовало большое количество гранул гликогена и рибосом; часто наблюдалась секвестрация гликогена. Практически всегда в ГМК присутствовали вакуоли разных размеров, иногда с небольшим количеством хлопьевидного содержимого или остаточными тельцами, отмечались очаговое расширение и дегрануляция гранулярной саркоплазматической сети.

В «темных» ГМК отмечалась компактная упаковка миофиламентов, в результате чего их электронная плотность значительно повышалась, очень плохо различались другие органеллы; митохондрии были единичными. Отличительной особенностью этих клеток от клеток двух других типов было присутствие в их саркоплазме огромных вакуолеподобных расширений (рис. 1), «опустошений», чаще в околоядерной зоне. В таких опустошенных зонах саркоплазмы регистрировались лишь отдельные остаточные тельца. В «светлых» ГМК с выраженными литическими изменениями присутствовали редкие миофиламенты, значительно расширенные профили гранулярной саркоплазматической сети и немногочисленные мелкие митохондрии, в которых отмечался лизис матрикса. В большинстве светлых клеток значительным литическим изменениям подвергалась околоядерная зона.

В ПЖ, как и в образцах мочевого пузыря при ДГПЖ, также выявлены три структурно-функциональных типа ГМК: малоизмененные (преимущественно гипертрофированные), «темные» и «светлые» клетки с литическими изменениями миофиламентов. Важной особенностью внутриклеточной реорганизации ГМК при ДГПЖ было появление в их саркоплазме многочисленных вакуолей, размеры которых значительно варьировались (рис. 2). «Темные» ГМК имели такое же строение, как и в детрузоре, но с более выраженными деструктивными изменениями митохондрий. «Темные» гладкомышечные клетки и их ядра характеризовались выраженным полиморфизмом, который, наряду с отслоением базальных мембран, может свидетельствовать о повреждениях их цитоскелета. В совокупности подобные ультраструктурные изменения, вероятно, отражают необратимые дегенеративные изменения и свидетельствуют о гибели клеток. В «светлых» ГМК отмечался как очаговый лизис и разрежение миофиламентов, так и диффузный, иногда значительный, лизис миофиламентов. В биоптатах ПЖ соотношение «темных» и «светлых» клеток заметно варьировалось.

Фенотипическая гетерогенность ГМК детрузора при ГАМП относится к наиболее часто регистрируемым феноменам структурной реорганизации мышечной оболочки мочевого пузыря как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях [7]. Особенности внутриклеточной реорганизации ГМК ПЖ при доброкачественной гиперплазии исследованы в меньшей степени. Фенотипическая гетерогенность ГМК проявляется не только при патологических состояниях, но и в условиях нормального

развития (в том числе, и в эмбриогенезе) и определяется особенностями их функционирования в разных органах. В этом аспекте ГМК принято классифицировать на два основных типа – висцеральные и со-

судистые [6]. В основу этой классификации положены особенности строения мембран ГМК, генерирования потенциала действия и, как следствие, особенности сократительной активности.

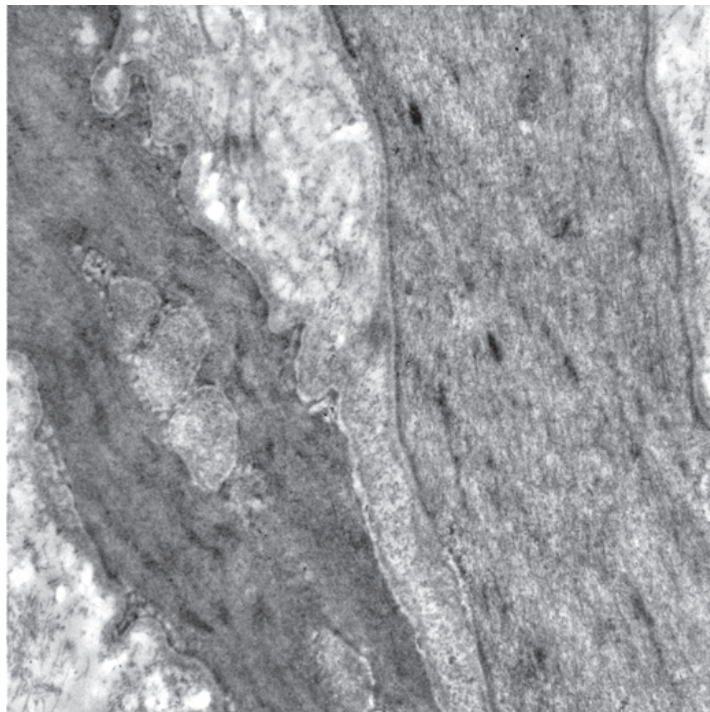


Рис. 1. Малоизмененная и «темная» гладкомышечные клетки в детрузоре гиперактивного мочевого пузыря. В «темной» клетке вакуолеобразные расширения саркоплазматической сети. Ув. 25 000

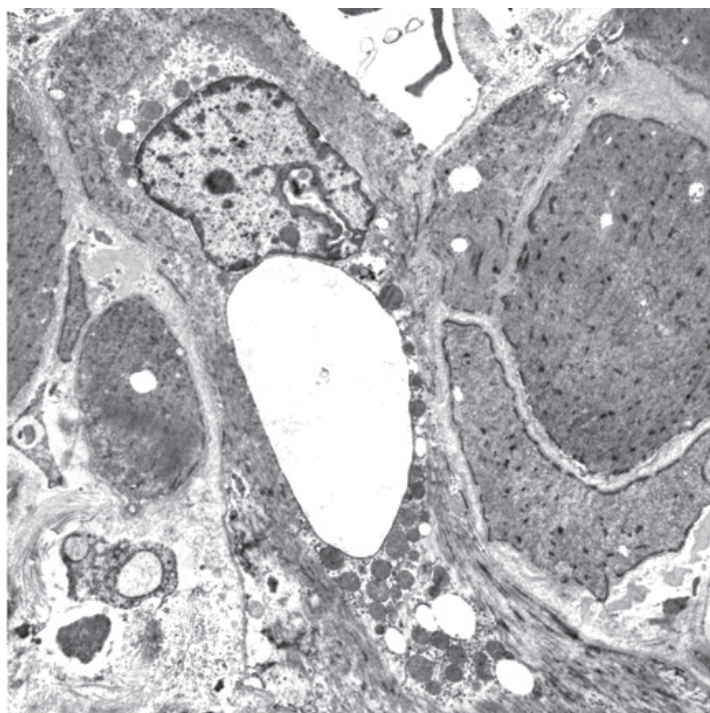


Рис. 2. Значительные расширения гранулярной саркоплазматической сети в гладкомышечной клетке в предстательной железе при ее доброкачественной гиперплазии. Ув. 8 000

ГМК в висцеральных органах (желудочно-кишечном тракте, мочевом пузыре, ПЖ) относятся к так называемым «фазным» ГМК, которые электромеханически сопряжены и функционируют как единый синцитий. Потенциал действия в таком синцитии передается от одних ГМК к другим через щелевые соединения. Такие ГМК в определенной степени являются аналогами быстрых поперечно-полосатых мышц. К важным особенностям функционирования ГМК в висцеральных органах относится способность небольшого количества клеток спонтанно генерировать потенциал действия, т.е. быть пейсмейкерами. ГМК сосудов являются «тоническими», функционируют как отдельные единицы и могут рассматриваться в качестве аналогов медленных поперечно-полосатых мышц.

Выявленные нами ультраструктурные изменения ГМК в детрузоре и ПЖ, их фенотипическая гетерогенность могут отражать как процесс замещения популяции «фазных» ГМК «тоническими» в результате изменений условий функционирования, так и разные типы повреждения ГМК и развивающиеся в ответ на повреждения регенераторные и компенсаторно-приспособительные реакции. Комплекс ультраструктурных изменений «светлых» ГМК детрузора и ПЖ отражает развитие их регенераторно-пластической недостаточности, к наиболее значимым проявлениям которой относятся выраженный лизис миофиламентов и значительные расширения гранулярной саркоплазматической сети. «Светлые» клетки с лизисом миофиламентов могут представлять собой также финальные стадии регенераторно-пластической недостаточности гипертрофированных ГМК в стадии декомпенсации. «Темные» ГМК можно рассматривать в качестве аналогов контрактурно измененных кардиомиоцитов и поперечно-полосатых соматических мышечных волокон [3, 4]. «Темные» ГМК, судя по строению их ядра, и «светлые» клетки с выраженным лизисом миофиламентов, вероятно, должны подвергаться гибели и элиминации.

Гипертрофия ГМК, которая развивается как в ГАМП, так и в ПЖ при доброкачественной гиперплазии, является универсальной компенсаторно-приспособительной реакцией этих клеток, развивающейся в ответ на усиление функциональной нагрузки, необходимой для преодоления обструкции, и для компенсации количественного дефицита ГМК в результате их гибели и элиминации. Гипертрофическое ремоделирование ГМК при инфравезикальной обструкции, выявляемое как в экспериментальных, так и клинических условиях [8, 12],

сопровождается изменением экспрессии ряда ключевых белков, вовлеченных в процесс сокращения и ионный обмен, и, как следствие, изменениями сократительной активности ГМК [7, 8, 15]. В частности, значительное снижение экспрессии белков ВК-каналов ГМК при инфравезикальной обструкции сопровождается появлением спонтанной сократительной активности ГМК детрузора [7].

Несмотря на значительные и разнообразные изменения структуры ГМК как в ГАМП, так и ПЖ, свидетельствующие об их повреждении, в обоих органах встречались ГМК со скоплениями рибосом в зонах лизиса миофиламентов, что отражало индукцию в них процессов внутриклеточной регенерации. В субсарколеммальных зонах светлых ГМК с признаками внутриклеточной регенерации плотность миофиламентов всегда была выше, что свидетельствовало о развитии восстановления ультраструктуры ГМК с периферических зон клеток. Эти данные позволяют полагать, что при устранении причин обструкции возможно частичное восстановление популяции ГМК в детрузоре.

Заключение

В детрузоре ГАМП и гладкомышечном каркасе ПЖ при ее доброкачественной гиперплазии развиваются стереотипные повреждения ГМК. Выявление одностипной внутриклеточной реорганизации (типов повреждения) ГМК свидетельствует об универсальности молекулярно-клеточных механизмов их дисфункции как в ПЖ при ее доброкачественной гиперплазии, так и в детрузоре ГАМП. Полученные данные позволяют полагать, что недостаточная эффективность консервативной терапии ГАМП α_1 -адреноблокаторами и М-холиноблокаторами у пациентов с доброкачественной гиперплазией ПЖ [5] может быть обусловлена повышенной чувствительностью ГМК, изменениями характера межклеточных взаимодействий (разобщениями клеток в результате фиброза) и спонтанными сокращениями гипертрофированных ГМК [7, 10], популяция которых появляется как в детрузоре ГАМП, так и в ПЖ.

Гипертрофия ГМК может быть идиопатической или реализоваться как компенсаторно-приспособительная реакция на дистрофически-атрофические изменения и элиминацию части ГМК, которые индуцируются комплексом патогенных факторов (в том числе, и обструкцией путей выведения мочи, персистенцией инфекций, о чем свидетельствует значительная постоянно выявляемая в образцах ПЖ и мочевого пузыря

лимфоцитарно-плазмочитарная инфильтрация). В любом случае компенсаторная гипертрофия ГМК определяет ремоделирование и функциональный статус не только ПЖ при ее доброкачественной гиперплазии, но и детрузора мочевого пузыря. Определенную роль в развитии симптомов ГАМП может играть уротелий; под действием разных стимулов уротелиоциты могут продуцировать простагландины, ацетилхолин, оксид азота, факторы роста и другие вещества, повышающие чувствительность ГМК и их сократительную способность [11, 14].

Список литературы

1. Аляев Ю.Г., Гаджиева З.К., Петровский Н.В. Гиперактивный мочевой пузырь у пациентов с инфравезикальной обструкцией, обусловленной аденомой предстательной железы // Урология. – 2010. – № 6. – С. 10–15.
2. Неймарк А.И., Неймарк Б.А., Клыжина Е.А., Батанина И.А. Особенности микроциркуляции мочевого пузыря у женщин с гиперактивным мочевым пузырем // Урология. – 2010. – № 6. – С. 28–29.
3. Непомнящих Л.М. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Молекулярно-биологические механизмы и морфологические основы // Арх. патол. – 2007. – Вып. 3. – С. 3–12.
4. Непомнящих Л.М., Бакарев М.А. Морфогенез метаболических повреждений скелетных мышц: Стратегия ограничения повреждения // Вестн. РАМН. – 2009. – № 7. – С. 13–19.
5. Пушкарь Д.Ю., Раснер П.И. Опыт применения холинолитиков в лечении больных с аденомой предстательной железы с симптомами нижних мочевыводящих путей // Урология. – 2011. – № 2. – С. 80–85.
5. Andersson K.-E., Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology // *Physiol. Rev.* – 2004. – Vol. 84. – P. 935–986.
6. Chang S., Gomes C.M., Hypolite J.A. et al. Detrusor overactivity is associated with downregulation of large-conductance calcium- and voltage-activated potassium channel protein // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2010. Vol. 298. – P. F1416–F1423.
7. DiSanto M.E., Stein R., Chang S. et al. Alteration in expression of myosin isoforms in detrusor smooth muscle following bladder outlet obstruction // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2003. – Vol. 285. P. C1397–C1410.
8. Fisher S.A. Vascular smooth muscle phenotypic diversity and function // *Physiol. Genomics.* – 2010. – Vol. 42A. – P. 169–187.
9. Fry C.H., Sui G.P., Severs N.J., Wu C. Spontaneous activity and electrical coupling in human detrusor smooth muscle: implications for detrusor overactivity? // *Urology.* – 2004. – Vol. 63 (Suppl. 1). – P. 3–10.
10. Imamura M., Negoro H., Kanematsu A. et al. Basic fibroblast growth factor causes urinary bladder overactivity through gap junction generation in the smooth muscle // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2009. Vol. 297. – P. F46–F54.
11. Li L., Jiang C., Hao P. et al. Changes of gap junctional cell-cell communication in overactive detrusor in rats // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2007. – Vol. 293. P. C1627–C1635.
12. Sacco E., Bientinesi R., Marangi F. et al. Overactive bladder syndrome: the social and economic perspective // *Urologia.* – 2011. – Vol. 78. – P. 241–256.
13. Yoshida M., Masunaga K., Nagata T. et al. The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of lower urinary tract dysfunction: pathophysiology and pharmacotherapy of overactive bladder // *J. Pharmacol. Sci.* – 2010. – Vol. 112. – P. 128–134.
14. Zhang E.Y., Stein R., Chang S. et al. Smooth muscle hypertrophy following partial bladder outlet obstruction is associated with overexpression of non-muscle caldesmon // *Am. J. Pathol.* – 2004. Vol. 164. P. 601–612.

References

1. Alyaev Yu.G., Gadzhiev Z.K., Petrovskii N.V. *Urologia.* 2010. no 6. pp. 10–15.
2. Neimark A.I., Neimark B.A., Klyzhina E.A., Batanina I.A. *Urologia.* 2010. no 6. pp. 28–29.
3. Nepomnyashchikh L.M. *Arkhir patologii.* 2007. no 3. pp. 3–12.
4. Nepomnyashchikh L.M., Balarev M.A. *Vestnik RAMS.* 2009. no 7. pp. 13–19.
5. Pushkar D.Yu., Rasner P.I. *Urologia.* 2011. No 2. pp. 80–85.
6. Andersson K.-E., Arner A. *Physiol. Rev.* 2004. Vol. 84. pp. 935–986.
7. Chang S., Gomes C.M., Hypolite J.A. et al. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2010. Vol. 298. pp. F1416–F1423.
8. DiSanto M.E., Stein R., Chang S. et al. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2003. Vol. 285. pp. C1397–C1410.
9. Fisher S.A. *Physiol. Genomics.* 2010. Vol. 42A. pp. 169–187.
10. Fry C.H., Sui G.P., Severs N.J., Wu C. *Urology.* 2004. Vol. 63 (Suppl. 1). pp. 3–10.
11. Imamura M., Negoro H., Kanematsu A. et al. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009. Vol. 297. pp. F46–F54.
12. Li L., Jiang C., Hao P. et al. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007. Vol. 293. pp. C1627–C1635.
13. Sacco E., Bientinesi R., Marangi F. et al. *Urologia.* 2011. Vol. 78. pp. 241–256.
14. Yoshida M., Masunaga K., Nagata T. et al. *J. Pharmacol. Sci.* 2010. Vol. 112. pp. 128–134.
15. Zhang E.Y., Stein R., Chang S. et al. *Am. J. Pathol.* 2004. Vol. 164. pp. 601–612.

Рецензенты:

Горчаков В.Н., д.м.н., профессор, зав. лабораторией функциональной морфологии Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Селятицкая В.Г., д.б.н., профессор, зав. лабораторией эндокринологии Научного центра клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 30.03.2012.

УДК 616.314.17-008.1-085.27

ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНДЕРНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА, ЗУБОВ И ПАРОДОНТА

Максюков С.Ю., Гаджиева Д.Н., Шахбазов О.И., Беликова Е.С.

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: sunny1611@mail.ru

Статья посвящена изучению взаимосвязи изменения минеральной плотности элементов опорно-двигательного аппарата, твердых тканей зубов и пародонта в зависимости от возраста и пола. Костная ткань альвеолярного гребня, как и скелета, высокочувствительна к гормональным регулирующим и контролирующим механизмам организма. В статье описываются факты о связи остеопороза и высоты альвеолярного гребня в интерпроксимальных отделах. Уменьшение костной массы скелета способствует уменьшению высоты межзубной костной перегородки, снижению прикрепления десны, что позволяет рассматривать постменопаузальный остеопороз как фактор риска стоматологических заболеваний. Важным фактором, влияющим на инволютивные процессы в альвеолярной кости, является зависимость от возраста убыль костной массы. Минерализация костной ткани достигает максимальной величины к 25–35 годам, после 40 лет снижается примерно на 1 % в год у женщин и на 0,5 % у мужчин. Изучение связи остеопатий и поражения тканей зубочелюстного аппарата является актуальным направлением в стоматологии.

Ключевые слова: минеральная плотность костной ткани, опорно-двигательный аппарат, твердые ткани зубов, пародонт

AGE AND GENDER SENSITIVE MINERAL DENSITY CHANGES IN THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM, TEETH AND PERIODONTAL DISEASES

Maksyukov S.Y., Gadjiyeva D.N., Shahbazov O.I., Belikova E.S.

The Rostov state medical university, Rostov-on-Don, e-mail: sunny1611@mail.ru

Article is devoted to the study of the relationship between changes of mineral density elements of musculoskeletal apparatus, solid tissues tooth and periodontal depending on age and sex. Bone tissue alveolar comb, like the skeleton, is susceptible to damage from hormonal regulation and monitoring mechanisms of the organism. This article describes key facts about osteoporosis and the height of the alveolar ridge in the interproximal divisions. Decrease in bone mass skeleton helps to reduce the height of the interdental osteal partition, attach the gums to treat postmenopausal osteoporosis as a risk factor of dental diseases. An important factor influencing the involutive processes in the alveolar bone, is dependent on age decreased bone mass. Bone mineralisation reaches its maximum value to 25–35 years, after 40 years of decreases by about 1 % per year for women and 0,5 % for men. Study of osteopathy and lesions of tissues of the dental and maxillary device is an actual direction in stomatology.

Keywords: mineral density of an osteal tissue, locomotive organs, hard tissue of teeth, periodontal tissue

Распространенность изменений минеральной плотности зубов и пародонта среди населения РФ составляет 80 %, а у людей старше 40 лет выявляются в 100 % случаев [1]. Встречаемость патологии твердых тканей зубов и пародонта увеличивается с возрастом. Существенный прирост данной патологии отмечен у женщин в пре- и постменопаузальном периоде [2]. После 45 лет частота заболеваний пародонта у женщин составляет 58,7 % по сравнению с 26,6 % в возрасте 20–30 лет [15]. Исследованиями стоматологов и остеологов определена роль гипоестрогенемии у женщин в постменопаузальном периоде в развитии системного остеопороза и патологических процессов в зубочелюстной системе [14].

В исследованиях М. Tezal, J. Wactawski-Wende (2000), проведенных с участием 70 женщин в возрасте от 51 до 78 лет, выявлена корреляционная взаимосвязь между минеральной плотностью костной ткани различных отделов скелета и высотой альвеолярного гребня в интерпроксимальных

отделах. Уменьшение костной массы скелета способствует уменьшению высоты межзубной костной перегородки, снижению прикрепления десны. Результаты проведенного исследования позволили авторам сделать заключение, что постменопаузальный остеопороз является фактором риска стоматологических заболеваний [24].

Все большее внимание к проблеме остеопороза проявляют стоматологи ввиду частой встречаемости генерализованного пародонтита при остеопорозе и необходимости выбора адекватной комплексной терапии пародонтита. В комплексе тканей пародонта альвеолярная кость является одной из составляющих, и именно ей придается особое значение. При генерализованном пародонтите происходит резкая убыль костной ткани, и главная задача врача-стоматолога – замедление ее разрушения для предотвращения потери зубов [3]. Костная ткань альвеолярного гребня, как и скелета, высокочувствительна к гормональным регулирующим и контролирующим механизмам организма [1].

Многочисленные эпидемиологические исследования установили не только возрастное снижение минерализации костной ткани скелета, но и достоверные половые различия в уровне минеральной плотности кости. Мужчины имеют более высокую минеральную плотность кости, чем женщины, что может быть связано с большими размерами костей и большей костной массой в целом [2]. Различны также уровни достижения пика костной массы, который у мужчин выше, чем у женщин в связи с поздним наступлением пубертатного периода. При этом у мужчин вопрос о характере влияния андрогенов на минеральную плотность кости окончательно не решен. В работах Л.И. Беневоленской (2005) сообщается, что риск снижения минеральной плотности кости у мужчин после 50 лет значительно меньше, чем у женщин. Так, для мужчин характерны остеопении, а у женщин в аналогичном возрасте преобладают изменения, характерные для остеопороза [4]. Окончательно вопрос о роли половых гормонов в костном метаболизме у мужчин еще не решен, а в ряде работ вообще отрицается [23].

Выделяют два основных типа остеопороза – первичный и вторичный. К первичному относят возрастные потери костной массы и остеопатии неясной этиологии (ювенильный, идиопатический). Вторичный остеопороз, возникающий как осложнение иных патологических состояний или воздействий, представлен остеопорозом, обусловленным основным заболеванием, и остеопорозом, возникающим в результате лечения (ятрогенный) [2].

Альвеолярный отросток – часть верхней и нижней челюстей, в которой имеются альвеолы, принимающие форму зуба и поддерживающие его. Он формируется в период прорезывания зуба, обеспечивая костную поддержку для формирования периодонтальной связи и постепенно рассасывается после удаления зуба. Альвеолярный отросток состоит из наружной кортикальной пластинки, внутренней кортикальной пластинки, выстилающей стенки альвеол, и находящейся между ними трабекулярной кости. Соотношение компактного и губчатого слоев в альвеолярных отростках нижней и верхней челюстей неодинаково в различных частях [25]. Альвеолярный отросток верхней челюсти содержит 27–30% компактного и 70–72% губчатого слоя, в нижней челюсти – это соотношение, соответственно, 50,1 и 49,9%. Таким образом, приблизительное соотношение компактного и губчатого слоев альвеолярных отростков составляет 1:1 для нижней и 1:3 – для верхней челюсти [8].

Костная ткань челюстей имеет характерную организацию структурных элементов (остеонов и трабекул). Остеоны челюстей короткие, расположены вдоль поверхности кости. В области межзубных перегородок имеются так называемые переходные структуры – дуговые остеоны. Часть остеонов имеет косое направление. Они вплетаются в костные балки губчатого слоя и соединяются с дуговыми остеонами, образуя своеобразную систему арочных сводов. Губчатая кость построена таким образом, что трабекулы, располагаясь перекрестно, создают систему силовых распорок. В местах максимального напряжения и прикрепления мышц на верхней и нижней челюстях образуются утолщения компактного слоя с характерной ориентацией трабекул – так называемые контрфосы [5].

За последнее десятилетие появилось много работ, предполагающих возможную корреляцию между системным остеопорозом и убылью костной ткани альвеолярного отростка при патологии пародонта [8]. Точный механизм взаимосвязи остеопорозных изменений костей скелета с течением заболеваний пародонта пока неизвестен. Чаще всего выдвигается гипотеза, трактующая пониженную плотность костной ткани альвеолярного отростка как фактор, predisposing к повышенной резорбции, вызванной пародонтопатогенной флорой. Однако в данном случае стоит говорить о регионарных проявлениях остеопороза, поскольку воспалительные процессы в пародонте захватывают в большей степени альвеолярный отросток, не затрагивая тела челюстей. В то же время в этиологии остеопороза и пародонтита имеется много сходных патогенетических моментов, что наводит на мысль о взаимосвязи этих двух заболеваний. Например, оба они характеризуются убылью костной ткани, сходными факторами риска (курение, прием лекарственных препаратов, убыль костной ткани, связанная с возрастом, а самое главное – чрезмерные уровни множества воспалительных цитокинов и лизосомальных ферментов, ответственных за местное разрушение тканей) [9]. Отсюда вытекает ряд вопросов, требующих изучения.

В альвеолярной кости процессы внутренней перестройки протекают более активно, чем в других костях скелета. Соответствуя изменению функциональной нагрузки на зубочелюстной аппарат, ремоделирование выполняет две функции:

1) модифицирует структурную анатомию ткани таким образом, что нагружаемые трабекулы и структуры максимально усиливаются, в менее нагружаемых участках

костные перекладины истончаются, и кость рассасывается (закон Вольфа: форма есть следствие функции);

2) осуществляет контроль за гомеостазом кальция и минералов. Перестройка происходит в отдельных единицах ремоделирования, общее число которых может достигать нескольких миллионов [7].

Ремоделирование включает два тесно связанных процесса – разрушение и созидание кости. У молодых людей преобладают процессы костеобразования, за счет которых альвеолярная кость формируется и растет. У людей среднего возраста в норме эти процессы уравновешены. С возрастом высота альвеолярного гребня уменьшается, что связано с физиологической или сенильной атрофией [21].

Инволютивное снижение высоты альвеолярного гребня связано с уменьшением функциональной нагрузки на зубочелюстной аппарат. С одной стороны, необходимость в питательных веществах с возрастом становится меньше, так как пожилой человек потребляет значительно меньше пищи, чем молодой. С другой стороны, ослабевает жевательная сила мышц, следовательно, уменьшается жевательная нагрузка на пародонт. Процессы ремоделирования перестраивают костную ткань в соответствии с изменяющейся нагрузкой [19]. Вторым важным фактором, влияющим на инволютивные процессы в альвеолярной кости, является зависимость от возраста убыль костной массы. Минерализация костной ткани достигает максимальной величины к 25–35 годам, после 40 лет снижается примерно на 1 % в год у женщин и на 0,5 % у мужчин [13].

При заболеваниях пародонта под воздействием неблагоприятных местных (зубная бляшка), экзо-, эндогенных факторов или их комбинации нарушается физиологическое равновесие в кости, возникает разбалансировка процессов остеосинтеза и остеорезорбции, что ведет к деструкции альвеолярной кости [11].

При воспалительном процессе убыль костной ткани – это результат превалирования процессов резорбции над остеосинтезом. Образование новой кости в этом случае замедленно и не компенсирует разрушение кости и степень деструкции, вызванной действием этиологических факторов [17].

Процессы ремоделирования в костной ткани имеют интермиттирующий характер с периодами ремиссии и обострения. В период ремиссии процессы костеобразования и остеорезорбции уравновешены. Активные процессы перестройки костной ткани скелета чаще наблюдаются в весенне-осенние периоды, что совпадает с периодами

обострения хронического течения генерализованного пародонтита [12].

Ткани пародонта претерпевают существенные изменения на протяжении всей жизни человека. С возрастом снижаются активность обмена веществ, некоторых ферментов, иммунологическая реактивность. Генетически детерминированный процесс старения пародонта характеризуется рецессией десны, обнажением корней зубов, остеопорозом и/или остеосклерозом альвеолярного гребня, сужением периодонтальной щели. Инволютивные изменения околозубных тканей в большинстве случаев сочетаются с патологическими, воспалительными, воспалительно-дистрофическими и дистрофическими процессами в тканях пародонта. Кумулятивный эффект инволютивных изменений и патологических процессов способствует постепенному прогрессированию деструкции альвеолярной кости, подвижности зубов с последующей их потерей [18].

При замедленном темпе старения пародонта активность процессов внутренней перестройки костной ткани незначительна: костеобразование уравновешивает процессы резорбции костной ткани. Роль метаболических нарушений структурно-функционального состояния костной системы в патогенезе не существенна. У данного контингента больных рационально использовать местную терапию заболеваний пародонта [19].

У пациентов с нормальным темпом старения дистрофически деструктивные процессы в пародонте активизируются в период ускорения темпов ремоделирования костной ткани скелета. Назначение остеотропных препаратов рационально в период обострения хронического течения генерализованного пародонтита [20].

При ускоренном темпе старения активность дистрофически деструктивных процессов в тканях пародонта тесно взаимосвязана с нарушениями структурно-функционального состояния костной системы: низкой минеральной плотностью костей скелета, активными темпами ремоделирования, преобладанием процессов резорбции костной ткани в организме в целом. В патогенезе резорбции альвеолярного гребня существенную роль играют остеопения и остеопороз скелета. У данного контингента больных рационально использовать остеотропные препараты в комплексном лечении развившейся патологии. Коррекция метаболических нарушений структурно-функционального состояния костной системы, альвеолярного отростка в том числе, позволяют приостановить про-

цессы резорбции и активизировать формирование костной ткани [21]. Таким образом, определение темпа старения тканей пародонта позволяет назначить дифференцированное лечение.

Этиология и патогенез заболеваний пародонта довольно сложны, многообразны и до настоящего времени полностью не раскрыты. В развитии заболеваний пародонта важную роль отводят местным факторам, микрофлоре полости рта [23]. Микроорганизмы зубной бляшки, расположенные на поверхности зубов, в десневой борозде, межзубных промежутках, инициируют воспалительные процессы в тканях пародонта, способствуют прогрессированию патологических процессов, образованию пародонтальных карманов. Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности взаимодействуют со слизистой оболочкой десны, вызывая воспаление. У людей с ослабленными защитными функциями организма в воспалительной реакции на внедрение бактерий преобладают явления альтерации. Воспалительный экссудат, внутриклеточная жидкость вызывают дегенерацию тканей десневой борозды, десневых фибрилл. Дальнейшее распространение воспалительного процесса способствует деструкции и повреждению прикрепления десны, разрушению коллагеновых волокон. В местах повреждения слизистой десны формируются карманы и ретенционные ниши, в которых создаются благоприятные условия для размножения микроорганизмов и образования неприкрепленного слоя зубной бляшки. Замыкается патологический круг: патогенная микрофлора – воспаление десны – образование пародонтального кармана – увеличение количества микрофлоры [10]. К местным факторам, способствующим развитию патологических процессов в тканях пародонта, относят травматическую окклюзию. При скученности зубов, расположенных вне дуги, глубоком и прогнатическом прикусе развиваются окклюзионная травма и вследствие ишемии – дистрофический процесс. Прогрессирующая убыль альвеолярного гребня при заболеваниях пародонта нарушает связочный аппарат зубов, развиваются травмирующая перегрузка отдельных зубов и их смещение. Подвижность зубов, как результат травматической окклюзии и патологической убыли альвеолярного гребня, активизирует дистрофические деструктивные процессы в костной ткани пародонта, усиливает остеокластическую резорбцию [9].

Известно, что дефицит эстрогенов, характерный для постменопаузального остеопороза, ускоряет процессы ремоде-

лирования, способствует возникновению дисбаланса между резорбцией и формированием костной ткани, ускоренной потере костной массы, развитию остеопороза и его осложнений [22].

Е.Ю. Хохлова с соавт. (1995) изучали деминерализацию костной ткани у женщин в связи с потерей репродуктивной функции. Были обследованы женщины с вторичной аменореей (возраст 26–46 лет), после овариоэктомии (37–62 года), с естественной менопаузой (45–68 лет) и контрольная – женщины с нормальной овариальной функцией. Всего обследовано 52 пациентки. Для оценки содержания минералов использовали монофотонную абсорбциометрию и эхоостеометрию. Состояние костной ткани пародонта оценивали при помощи рентгенологического и эхоостеометрического метода. При сравнении с возрастными нормативами установлено, что деминерализация костей предплечья была выражена не у всех больных и чаще сопровождала вторичную аменорею. Оценка состояния пародонта по клиническим индексам показала, что по сравнению с контрольной группой наблюдается увеличение значений индексов от 1-й группы (вторичная аменорея) к 3-й (физиологическая менопауза). Наиболее тяжелое состояние пародонта было выявлено у больных 3-й группы. Изменения в пародонте сопровождалась выраженной атрофией костной ткани альвеолярной части (отростка). Особо было отмечено, что выраженность остеопороза в альвеолярной кости, где преобладает губчатая кость, большая, чем таковая в костях предплечья, где преобладает компактная кость. Подчеркивается, что остеопороз часто сопровождается атрофией альвеолярных отростков челюстей, что может служить дополнительным диагностическим признаком низкой минеральной плотности кости [16].

В целом установлено, что частота заболеваний пародонта у женщин с различным функциональным состоянием половых желез, по данным Е.В. Удовицкой (1975), представлена следующими цифрами: у женщин с нормальным состоянием половых желез в возрасте от 15 до 30 лет она составляет 26,6%, после 30 лет частота заболеваний пародонта возрастает до 58,7%, а после 45 лет и наступления климакса увеличивается до 66,6% [15]. При патологии яичников суммарные цифры заболеваний пародонта достигают 87,3%. Вероятно, что к столь частому поражению пародонта у этих больных имеет отношение дефицит половых гормонов в крови, достигающий небольшой выраженности к наступлению половой зрелости. Высокая поражённость

тканей пародонта у женщин с вторичной аменореей (дисменореей), которую часто называют и преждевременным климаксом, также может быть объяснена изменениями в организме, приводящими к раннему увяданию половой сферы. Частота заболеваний пародонта у женщин с такой патологией составляет 60,9%. Это подтверждается зависимостью частоты заболеваний пародонта от давности нарушения функции яичников и при раннем, и при физиологическом климаксе. При кастрационном синдроме частота заболеваний пародонта значительно ниже – 57,3%. Парадоксальность такого факта объясняется автором тем, что дистрофические процессы развиваются преимущественно не на фоне острых нейрогуморальных сдвигов, а вследствие медленно нарастающей дискоординации обменных процессов. Поэтому при значительной давности послеоперационного срока, когда последствия кастрации приобретают значение хронически действующего фактора, частота заболеваний пародонта у таких больных возрастает. О несомненном влиянии на состояние пародонта патологических сдвигов, вызванных удалением яичников, свидетельствует и то обстоятельство, что чем моложе возраст больной, в котором появились признаки кастрационного синдрома, тем выше частота заболеваний пародонта [15].

Состояние пародонта у женщин с недостаточной функцией яичников изучалось Г.В. Вишняк. По данным исследований частота заболеваний пародонта у женщин среднего и пожилого возраста с физиологической функцией яичников составляет 4–5%, а при патологии яичников она возрастает до 25%. В тех же исследованиях при анализе внутривитовых рентгенограмм женщин с гипострогенемией (климакс, кастрация) обнаружены следующие изменения: точечная деструкция кортикального слоя вершин межальвеолярных перегородок, очаговый остеопороз и равномерная убыль костной ткани альвеолярного отростка в пределах 1/3 межзубных перегородок, склеротическая перестройка костной ткани в глубоких отделах альвеолярных отростков челюстей [6]. Приведенные данные позволяют полагать, что роль гипогонадных состояний для развития заболеваний пародонта весьма существенна.

В настоящее время можно лишь с уверенностью утверждать, что снижение минерализации скелета усиливает патологические изменения в пародонте и твердых тканях зубов, однако, в литературе имеются единичные сведения о характере взаимосвязи между развитием остеопатий и поражением тканей зубочелюстного аппарата,

что обеспечивает актуальность исследований в этом направлении.

Список литературы

1. Заболевания пародонта и «системные болезни»: известное прошлое, многообещающее будущее / С.Д. Арутюнов, Н.В. Плещановская, А.В. Наумов и др. // Пародонтология. – 2009. – №1. – С. 3–6.
2. Атрушкевич В.Г. Остеопороз и пародонтит // Пародонтит: монография; под ред. Л.А. Дмитриевой. – М.: МедПресс, 2004. – С. 350–355.
3. Безрукова И.В. Быстро прогрессирующий пародонтит. – М.: Медицинская книга, 2004. – 142 с.
4. Беневоленская Л.И. Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 172 с.
5. Боровский Е.В., Иванов В.С., Максимовская Ю.М. Терапевтическая стоматология Текст: учеб. пособие для вузов. – М.: Медицина, 2004. – 736 с.
6. Вишняк Г.Н. Генерализованные заболевания пародонта. – Киев: Здоров'я, 1999. – 216 с.
7. Вольф Г., Ратейцхак Э., Ратейцхак К. Пародонтология. – М.: МЕД-пресс-информ, 2008. – 548 с.
8. Григорян А.С., Грудянов А.И., Рабухина Н.А. Болезни пародонта. – М.: МИА, 2004. – 75 с.
9. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 336 с.
10. Дмитриева Л.А. Современные аспекты клинической пародонтологии. – М.: МЕДпресс, 2001. – 128 с.
11. Мазур И.П., Поворознюк В.В. Костная система и заболевания пародонта. – Киев: Изд-во ВПЦ Экспресс, 2003. – 446 с.
12. Майбородин И.В., Притчина И.А., Гаврилова В.В. Регенерация тканей пародонта после лечения хронического пародонтита с учетом пола и возраста // Стоматология. – 2008. – №1. – С. 31–38.
13. Орехова Л.Ю. Заболевания пародонта. – М.: ПолиМедиаПресс, 2004. – 432 с.
14. Поворознюк В.В., Мазур И.П. Остеопороз и заболевания пародонта // Здоровье Украины. – 2003. – №7. – С. 3–7.
15. Удовичкая Е.В. Эндокринологические аспекты стоматологии. – М.: Медицина, 1975. – 192 с.
16. Хохлова Е.Ю., Воложин А.И., Марков Б.П. Состояние пародонта у больных с гипострогенемией в зависимости от выраженности системного остеопороза // Стоматология. – 1995. – № 2. – С. 31–33.
17. Шмидт Д.В., Шмагель К.В., Мозговая Л.А. Состояние местного иммунитета у больных с хроническим генерализованным пародонтитом // Стоматология. – 2008. – №4. – С. 33–38.
18. Baldi D., Izzotti A., Bonica P. et al. Degenerative periodontal-diseases and oral osteonecrosis: the role of gene-environment interactions. Review // Mutat. Res. – 2009. – Vol. 667, №1–2. – P. 118–131.
19. Bodic F., Hamel L., Lerouxel E. Bone loss and teeth. Review // Joint Bone Spine. – 2005. – Vol. 72, №3. – P. 215–221.
20. Jagelaviciene E., Kubilius R. The relationship between general osteoporosis of the organism and periodontal diseases // Medicina (Kaunas). – 2006. – Vol. 42, №8. – P. 613–618.
21. Jonasson G. Bone mass and trabecular pattern in the mandible as an indicator of skeletal osteopenia: a 10-year follow-up study // Oral. Surg. – 2009. – Vol. 108, №2. – P. 284–291.
22. Kazmierczak W., Fiegler P., Przybylek K. Changes to the periodontium in postmenopausal women. Review // Ginekol. Pol. – 2005. – Vol. 76, №2. – P. 163–167.
23. Pinto M., Jepsen K.J., Terranova C.J. Lack of sexual dimorphism in femora of the eusocial and hypogonadic naked mole-rat: a novel animal model for study of delayed

puberty on the skeletal system // *Bone*. – 2010. – Vol.46, №1. – P. 112–120.

24. Tezal M., Wactawski-Wende J., Grossi S.G. et al. The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women // *J. Periodontol.* – 2000. – Vol. 71, №9. – P. 1492–1498.

25. Tozum T.F., Taguchi A. Role of dental panoramic radiographs in assessment of future dental conditions in patients with osteoporosis and periodontitis // *NY State Dent. J.* – 2004. – Vol. 70. – P. 32–35.

References

1. Arutjunov S.D., Pleskanovskaja N.V., Naumov A.V. *Parodontologia*, 2009, no.1, pp. 3–6.
2. Atrushkevich V.G. *Osteoporoz i parodontit* [Parodontit]. Moscow, Med Press, 2004. pp. 350–355.
3. Bezrukova I.V. Bystroprogressirujujij parodontit. Moscow, Medicinskaja kniga, 2004. 142 p.
4. Benevolenskaja L.I. Osteoporoz. Diagnostika, profilaktika i lechenie. Moscow, GEOTAR-Media, 2005. 172 p.
5. Borovskij E.V., Ivanov V.S., Maksimovskaja Ju.M. Terapevticheskaja stomatologija. Moscow, Medicina, 2004. 736 p.
6. Vishnjak G.N. Generalizovannye zabolevanija parodontita. Kiev, Zdorovja, 1999. 216 p.
7. Vol'f G., Ratejchak Je., Ratejchak K. *Parodontologija*. Moscow, MED-pessinform, 2008. 548 p.
8. Grigorjan A.S., Grudjanov A.I., Rabuhina N.A. Bolezni parodonta. Moscow, MIA, 2004. 75 p.
9. Grudjanov A.I. *Zabolevanija parodonta*. Moscow, MIA, 2009. 336 p.
10. Dmitrieva L.A. *Sovremennye aspekty klinicheskoi parodontologii*. Moscow, MED-pess, 2001. 128 p.
11. Mazur I.P., Povoroznjuk V.V. *Kostnaja sistema i zabolevanija parodonta*. Kiev, Izdatel'stvo VPC Jekspress, 2003. 446 p.
12. Majborodin I.V., Pritchina I.A., Gavrilova V.V. *Stomatologija*. 2008, no. 1, pp. 31–38.

13. Orehova L.Ju. *Zabolevanija parodonta*. Moscow, Poli-MediaPress, 2004. 432 p.

14. Povoroznjuk V.V., Mazur I.P. *Zdorov'e Ukrainy*. 2003, no. 7, pp. 3–7.

15. Udovickaja E.V. *Jendokrinologicheskie aspekty stomatologii*. Moscow, Medicina, 1975. 192 p.

16. Hohlova E.Ju., Volozhin A.I., Markov B.P. *Stomatologija*. 1995, no. 2, pp. 31–33.

17. Shmidt D.V., Shmagel' K.V., Mozgovaja L.A. *Stomatologija*. 2008, no. 4, pp. 33–38.

18. Baldi D, Izzotti A, Bonica P. et al. *Mutat. Res.* 2009, vol. 667, no. 1-2, pp. 118–131.

19. Bodic F., Hamel L., Lerouxel E. *Joint Bone Spine*. 2005, vol. 72, no. 3, pp. 215–221.

20. Jagelaviciene E., Kubilius R. *Medicina (Kaunas)*. 2006, vol. 42, no. 8, pp. 613–618.

21. Jonasson G. *Oral. Surg.* 2009, vol. 108, no.2, pp. 284–291.

22. Kazmierczak W., Fiegler P., Przybylek K. *Ginek. Pol.* 2005, vol. 76, no. 2, pp. 163–167.

23. Pinto M., Jepsen K.J., Terranova C.J. *Bone*. 2010, vol. 46, no.1, pp. 112–120.

24. Tezal M., Wactawski-Wende J., Grossi S.G. et al. *J. Periodontol.* 2000, vol. 71, no. 9, pp. 1492–1498.

25. Tozum T.F., Taguchi A. *NY State Dent. J.* 2004, vol.70, pp. 32–35.

Рецензенты:

Калашников В.Н., д.м.н., главный врач МЛПУЗ «Стоматологическая поликлиника г. Ростова-на-Дону», г. Ростов-на-Дону;

Абоян И.А., д.м.н., главный врач МЛПУЗ Клинико-диагностического центра «Здоровье», г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 03.04.2012.

УДК 616.441-089.87.169.1-06:616-092:612.017.1-008.64-08 (045)

СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ СПЛЕНЭКТОМИИ

Масляков В.В., Громов М.С., Киричук В.Ф., Поляков А.В.

НГБОУ ВПО «Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ», Саратов, e-mail: maslyakov@inbox.ru

Проведено изучение состояния иммунного статуса в отдаленном послеоперационном периоде 50 пациентов после удаления селезенки по поводу ее травмы. Проводился анализ гуморального и клеточного звена системы иммунитета. В результате проведенного исследования установлено, что в клеточном звене системы иммунитета происходит снижение количества зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-киллеров. Вместе с тем отмечается повышение количества Т-цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов. В гуморальном звене систем иммунитета отмечается снижение количества иммуноглобулинов, за исключением IgA, интерлекинов, за исключением ИЛ-4. На основании проведенного исследования с целью коррекции выявленных иммунологических нарушений применяли полиоксидоний в дозе 12 мг. В результате проведенных исследований установлено, что применение этого препарата улучшает показатели как клеточного, так и гуморального звена системы иммунитета у пациентов после удаления селезенки. В связи с этим физиологически оправданным препаратом для коррекции иммунологических нарушений после спленэктомии рекомендуем полиоксидоний.

Ключевые слова: селезенка, спленэктомия, иммуностимуляторы

WAY OF CORRECTION OF IMMUNOLOGICAL COMPLICATIONS AFTER SPLEEN REMOVAL

Maslyakov V.V., Gromov M.S., Kirichuk V.F., Polykov A.B.

The Saratov branch of Samara medical institute «REAVIZ», Saratov, e-mail: maslyakov@inbox.ru

Studying a condition of the immune status in the remote postoperative period of 50 patients after spleen removal concerning its trauma is carried out. The analysis of a humoral and cellular link of system of immunity was carried out. As a result of the carried-out research it is established that in a cellular link of system of immunity there is a decrease in quantity of mature T-lymphocytes, T-helperov and T-killers. At the same time, increase of quantity of T-cytotoxic lymphocytes, B-lymphocytes is noted. In a humoral link the system of immunity is noted decrease in quantity of antibodies, except for IgA, IL, behind an exception IL-4. On the basis of the carried-out research for the purpose of correction of the revealed immunological violations applied polioksidoniiya in a dose of 12 mg. As a result of the carried-out researches it is established that application of this preparation improves indicators both cellular, and a humoral link of system of immunity at patients after spleen removal. In this regard physiologically justifiable preparation for correction of immunological violations after a splenektomiya we recommend polioksidoniiya.

Keywords: a spleen, spleen removal, immunity stimulators

Известно, что селезенка не является жизненно важным органом. Однако она относится к периферическим лимфоидным тканям. В ней концентрируются супрессорные, хелперные и часть эффекторных клеток, здесь же происходит процесс активного антителообразования и продукция гуморальных медиаторов [1]. В селезенке содержится приблизительно 25 % лимфоцитов типа В [1]. В ней протекают оба этапа дифференцировки антителообразующих клеток из костномозговых предшественников, в то время как для Т-лимфоцитов антигеннезависимый этап дифференцировки из костномозговых предшественников осуществляется в тимусе, а антигеннезависимый – в селезенке [6, 7, 8]. В селезенке осуществляется синтез IgM, IgG, вырабатывается С3- и С4-фрагментов комплемента [9]. Кроме того, в этом органе происходит синтез компонентов комплемента, которые включаются в альтернативный путь его активации [6]. Также в селезенке содержится большое количество пропер-

дина [7]. Кроме того, селезенке принадлежит активное участие в процессе опсонизации – изменения клеточной поверхности патогена или других частиц, что приводит к захвату опсонированных клеток фагоцитами. По мнению процесс опсонизации связан с наличием иммуноглобулинов, причем из них хорошо опсонизирует только IgG. В системе комплемента эту функцию выполняет практически один компонент – С3b, который присутствует в этом органе [8]. В настоящее время травма этого органа занимает одно из ведущих мест в хирургии, при этом наиболее часто выполняют спленэктомию [5]. Вместе с тем известно, что удаление этого органа приводит к развитию различных осложнений, связанных с иммунологическими нарушениями [3, 4]. С целью коррекции этих осложнений предложено применять иммуностимуляторы [4].

Цель исследования: изучить влияние полиоксидония и имунофана для коррекции иммунологических осложнений после спленэктомии.

Материалы и методы исследования

В работе проведен анализ изменений в иммунном статусе 50 пациентов с закрытыми травмами селезенки. Распределение пациентов по полу и возрасту представлено в табл. 1.

Таблица 1
Пациенты с травмой селезенки

Возраст, лет	Мужчины	Женщины
21–30	13	6
31–40	10	8
41–50	9	4
Всего:	32	18

Группу сравнения составили 30 относительно здоровых донора-добровольца того же возраста и пола. Сроки после операции составили от 5 до 9 лет.

При изучении иммунного ответа организма определялись следующие показатели: субпопуляции Т- и В-лимфоцитов: количество в периферической крови лимфоцитов, несущих медиаторы CD3 (зрелые Т-лимфоциты); CD4 (Т-хелперы); CD8 (цитотоксические Т-клетки); CD16 (натуральные киллеры); CD20 (В-клетки), а также соотношение CD4/CD8. Изучение названных показателей выполнялось с помощью точной цитофлуориметрии с моноклональными антителами.

Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводилось турбидиметрическим методом. Для этого исследования применяли 3,5%-й раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 Д (США) в фосфатном буфере (рН 8,4). Резуль-

таты учитывали на спектрометре СФ-46 при длине волны 450 нм и выражали в условных единицах. Общее содержание IgG, М, А – по методу простой радиальной иммуннодиффузии по Mancini и соавторам, а также IgE, определяемый по методу ИФА. Содержание С3-, С4-компонентов комплемента, ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона- γ (ИНФ γ), ИЛ-4, ИЛ-10 в плазме крови определяли с помощью набора реагентов ProCon (ООО «Протеиновый контур» г. Санкт-Петербург. Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови оценивалось по фагоцитарному индексу (ФИ) и фагоцитарному числу (ФЧ). Активность кислородсодержащих систем нейтрофилов оценивалась по реакции восстановления нитросинего тетразолия спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного (НСИ-ст.) зимозаном. Полиоксидоний применялся ежедневно внутримышечно в дозе 12 мг один раз в сутки, имунофан в дозе 50 мкг, оба препарата общим курсом 9 инъекций.

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи непараметрического метода U-критерия теста Mann – Whitney (пакет программ Statistica 6.0.). При этом были вычислены основные вероятностные характеристики случайных величин: среднее значение; нижний (25%) и верхний (75%) квартили, которые имели достоверность не менее 95% (р-значение < 0,05).

Результаты исследования и их обсуждение

Состояние клеточного звена системы иммунитета у пациентов после спленэктомии в отдаленном послеоперационном периоде представлено в табл. 2.

Таблица 2
Показатели клеточного звена иммунитета у пациентов после спленэктомии в отдаленном послеоперационном периоде (М $\pm$ m)

Показатель	Группа сравнения (n = 30)		После спленэктомии (n = 50)		p
	%	абс. число	%	абс. число	
CD 3	61 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,4 $\cdot$ 10 ⁹ /л	46 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	< 0,05
CD 4	48 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,3 $\cdot$ 10 ⁹ /л	26 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,8 $\cdot$ 10 ⁹ /л	< 0,05
CD 8	15 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	35 $\pm$ 0,1	10 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	< 0,05
CD 16	15 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,3 $\cdot$ 10 ⁹ /л	10 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	< 0,05
CD 20	8 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	19 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2 $\cdot$ 10 ⁹ /л	< 0,05
CD4/CD8 (y.e.)	1,6 $\pm$ 0,3		2,0 $\pm$ 0,3		< 0,05

Примечание. * здесь и далее p – по сравнению с группой сравнения.

Из данных, представленных в табл. 2, видно, что в группе пациентов после спленэктомии зарегистрировано статистически достоверное снижение количества зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-киллеров. Вместе с тем отмечается повышение количества Т-цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов.

Результаты гуморального звена системы иммунитета, полученные в группе пациентов после спленэктомии в отдаленном по-

слеоперационном периоде, представлены в табл. 3.

Из данных, представленных в табл. 3, видно, что у пациентов после спленэктомии в отдаленном послеоперационном периоде, происходит статистически достоверное снижение по сравнению с группой сравнения, практически всех показателей. Необходимо отметить, что в этой группе оставалось в пределах физиологически нормальной величины количество IgA и ИЛ-4.

Таблица 3

Показатели гуморального звена иммунитета у пациентов после спленэктомии
в отдаленном послеоперационном периоде ($M \pm m$)

Название показателей	Группа сравнения ($n = 30$)	После спленэктомии ($n = 50$)	p
Ig A, г/л	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,9$	$> 0,05$
Ig G, г/л	$6,3 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,2$	$< 0,05$
Ig M, г/л	$2,4 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,3$	$< 0,05$
Ig E, г/л	$1,4 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,6$	$< 0,05$
Общее количество комплемента, МЕ/мл	$221 \pm 0,4$	$115 \pm 0,2$	$< 0,05$
C3 – фракция комплемента, г/л	$12,5 \pm 0,6$	$0,65 \pm 0,4$	$< 0,05$
C4 – фракция комплемента, г/л	$0,18 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,3$	$< 0,05$
C1-инг. нг/мл	$220,4 \pm 0,4$	$120 \pm 0,1$	$< 0,05$
ЦИК, у. е.	$30 \pm 0,4$	$46,7 \pm 0,1$	$< 0,05$
ФНО α , пг/мл	$3,69 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ1 β , пг/мл	$5,94 \pm 0,1$	$3,21 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ-6, пг/мл	$1,48 \pm 0,2$	$0,22 \pm 0,1$	$< 0,05$
ИЛ-8, пг/мл	$26,1 \pm 0,2$	$21,7 \pm 0,03$	$< 0,05$
ИЛ-4, пг/мл	$0,81 \pm 0,1$	$0,80 \pm 0,1$	$> 0,05$
ИЛ-10, пг/мл	$29,8 \pm 0,3$	$20,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ-2, пг/мл	$0,08 \pm 0,1$	$0,01 \pm 0,1$	$< 0,05$
ИНФ γ , пг/мл	$4,02 \pm 0,1$	$2,01 \pm 0,01$	$< 0,05$
Фактор Н, нг/мл	$32,8 \pm 0,3$	$21,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФИ, %	$53,2 \pm 11$	$31 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФЧ, абс.	$5,81 \pm 0,1$	$1,23 \pm 0,03$	$< 0,05$
НСТ-сп., %	$25,1 \pm 0,2$	$23,6 \pm 0,1$	$< 0,05$
НСТ-ст., %	$31,4 \pm 0,3$	$21,3 \pm 0,1$	$< 0,05$

При анализе клинических данных установлено, что в группе пациентов с ранее удаленной селезенкой наблюдается развитие заболеваний, которые могут быть связаны с изменениями в иммунном статусе: склонность к частым «простудным заболеваниям» – в 42,1 % наблюдений, вовлечение

в патологический процесс легких и бронхов – в 42 %, склонность к гнойничковым заболеваниям кожи – в 12,2 % случаев.

Результаты, полученные в группе пациентов после спленэктомии и введения полиоксидония внутримышечно в дозе 12 мг, представлены в табл. 4.

Таблица 4

Показатели клеточного звена системы иммунитета в группе пациентов
после введения полиоксидония в дозе 12 мг ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения ($n = 30$)		После спленэктомии ($n = 25$)		p
	%	абс. число	%	абс. число	
CD 3	$61 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,4 \cdot 10^9/\text{л}$	$60 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,4 \cdot 10^9/\text{л}$	$> 0,05$
CD 4	$48 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,3 \cdot 10^9/\text{л}$	$47 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$	$> 0,05$
CD 8	$15 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,2 \cdot 10^9/\text{л}$	$15 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,2 \cdot 10^9/\text{л}$	$> 0,05$
CD 16	$15 \pm 0,4$	$0,5 \pm 0,3 \cdot 10^9/\text{л}$	$13 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$	$< 0,05$
CD 20	$8 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,2 \cdot 10^9/\text{л}$	$5 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$	$> 0,05$
CD4/CD8 (y.e.)	$1,6 \pm 0,3$		$1,5 \pm 0,4$		$> 0,05$

Из данных, представленных в табл. 4, видно, что в группе пациентов, которым вводили полиоксидоний в 12 мг, отмечается восстановление таких показателей клеточного звена системы иммунитета, как зрелые Т-лимфоциты (CD3); Т-хелперы (CD4). Данные показатели в анализируемой группе соответствовали результатам, полученным в группе относительно здоровых людей,

и физиологически нормальным величинам. В то же время в обеих исследуемых группах зарегистрировано снижение показателей лимфоцитов несущих рецепторы CD16 – натуральные киллеры.

Результаты, полученные в гуморальном звене системы иммунитета после применения полиоксидония, представлены в табл. 5.

Таблица 5

Показатели гуморального звена системы иммунитета в группе пациентов после введения полиоксидония в дозе 12 мг ($M \pm m$)

Название показателей	Группа сравнения ($n = 30$)	После спленэктомии ($n = 25$)	p
Ig A, г/л	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,9$	$> 0,05$
Ig G, г/л	$6,3 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,2$	$< 0,05$
Ig M, г/л	$2,4 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$	$> 0,05$
Ig E, г/л	$1,4 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,6$	$> 0,05$
Общее количество комплемента, МЕ/мл	$221 \pm 0,4$	$115 \pm 0,2$	$< 0,05$
C3 – фракция комплемента, г/л	$12,5 \pm 0,6$	$0,65 \pm 0,4$	$< 0,05$
C4 – фракция комплемента, г/л	$0,18 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,3$	$< 0,05$
C1-инг. нг/мл	$220,4 \pm 0,4$	$120 \pm 0,1$	$< 0,05$
ЦИК, у. е.	$30 \pm 0,4$	$29,7 \pm 0,1$	$> 0,05$
ФНО α , пг/мл	$3,69 \pm 0,2$	$3,69 \pm 0,2$	$> 0,05$
ИЛ1 β , пг/мл	$5,94 \pm 0,1$	$5,71 \pm 0,2$	$> 0,05$
ИЛ-6, пг/мл	$1,48 \pm 0,2$	$1,35 \pm 0,1$	$> 0,05$
ИЛ-8, пг/мл	$26,1 \pm 0,2$	$21,7 \pm 0,03$	$< 0,05$
ИЛ-4, пг/мл	$0,81 \pm 0,1$	$0,80 \pm 0,1$	$> 0,05$
ИЛ-10, пг/мл	$29,8 \pm 0,3$	$20,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ-2, пг/мл	$0,08 \pm 0,1$	$0,08 \pm 0,1$	$> 0,05$
ИНФ γ , пг/мл	$4,02 \pm 0,1$	$4,01 \pm 0,01$	$> 0,05$
Фактор Н, нг/мл	$32,8 \pm 0,3$	$21,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФИ, %	$53,2 \pm 11$	$31 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФЧ, абс.	$5,81 \pm 0,1$	$1,23 \pm 0,03$	$< 0,05$
НСТ-сп., %	$25,1 \pm 0,2$	$23,6 \pm 0,1$	$< 0,05$
НСТ-ст., %	$31,4 \pm 0,3$	$21,3 \pm 0,1$	$< 0,05$

В результате изучения влияния полиоксидония на показатели гуморального звена системы иммунного статуса нами установлено, что по сравнению с данными, полученными в группе исследуемых без иммунизации, в основной группе зарегистрированы следующие изменения: количество IgE и IgM соответствовало нормальным величинам; нормализовалось количество ЦИК; количество ФНО α , ИЛ1 β , ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ γ стало соответствовать данным, полученным в группе сравнения здоровых людей. В то же время показатели IgG, общего количества комплемента, его C3- и C4-фракций, фактора Н, ФИ, ФЧ абс., НСТ-сп., НСТ-ст. не изменялись и оставались пониженными (см. табл. 5).

Таким образом, представленные результаты применения полиоксидония в дозе 12 мг после спленэктомии показывают, что применение того препарата физиологически оправдано. Это подтверждается восстановлением показателей клеточного звена системы иммунитета и основных показателей гуморального звена системы иммунитета, увеличивается секреция ИНФ γ , продуцирующая Th1-клетками.

Для сравнения нами проведено изучение влияния имунофана в дозе 50 мкг на состояние клеточного и гуморального звена системы иммунитета в отдаленном послеоперационном периоде после спленэктомии.

Полученные данные клеточного звена системы иммунитета представлены в табл. 6

Таблица 6

Показатели клеточного звена системы иммунитета в группе пациентов после введения имунофана

Показатель	Результаты в группах				p*
	Группа сравнения (n = 30)		после спленэктомии (n = 25)		
	%	абс. число	%	абс. число	
CD3	61 ± 0,3	1,6 ± 0,4·10 ⁹ /л	56 ± 0,1	1,3 ± 0,4·10 ⁹ /л	< 0,05
CD4	48 ± 0,4	1,3 ± 0,3·10 ⁹ /л	45 ± 0,2	1,0 ± 0,5·10 ⁹ /л	< 0,05
CD8	15 ± 0,6	0,4 ± 0,2·10 ⁹ /л	15 ± 0,4	0,4 ± 0,2·10 ⁹ /л	> 0,05
CD16	15 ± 0,4	0,5 ± 0,3·10 ⁹ /л	13 ± 0,5	0,1 ± 0,1·10 ⁹ /л	< 0,05
CD20	8 ± 0,1	0,3 ± 0,2·10 ⁹ /л	5 ± 0,3	0,3 ± 0,1·10 ⁹ /л	> 0,05
CD4/CD8	1.6 ± 0.3		1.3 ± 0.4		> 0.05

Как видно из данных, представленных в табл. 6, после введения имунофана изменений в клеточном звене системы иммунитета не получено, все показатели после введения этого препарата соответствовали данным, полученным в группе обследуемых без введения имунофана. Отсюда

следует, что введение имунофана после спленэктомии не приводит к коррекции иммунологических нарушений в клеточном звене системы иммунитета.

Результаты изучения гуморального звена системы иммунитета после введения имунофана представлены в табл. 7.

Таблица 7

Показатели гуморального звена иммунитета в группе пациентов после введения имунофана ($M \pm m$)

Название показателей	Группа сравнения ($n = 30$)	После спленэктомии ($n = 25$)	p
Ig A, г/л	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,9$	$> 0,05$
Ig G, г/л	$6,3 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,2$	$> 0,05$
Ig M, г/л	$2,4 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,3$	$< 0,05$
Ig E, г/л	$1,4 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,6$	$< 0,05$
Общее количество комплемента, МЕ/мл	$221 \pm 0,4$	$200 \pm 0,2$	$> 0,05$
C3 – фракция комплемента, г/л	$12,5 \pm 0,6$	$11,5 \pm 0,4$	$> 0,05$
C4 – фракция комплемента, г/л	$0,18 \pm 0,6$	$0,16 \pm 0,3$	$> 0,05$
C1-инг. нг/мл	$220,4 \pm 0,4$	$120 \pm 0,1$	$< 0,05$
ЦИК, у. е.	$30 \pm 0,4$	$29,7 \pm 0,1$	$> 0,05$
ФНО α , пг/мл	$3,69 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ1 β , пг/мл	$5,94 \pm 0,1$	$3,21 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ-6, пг/мл	$1,48 \pm 0,2$	$0,22 \pm 0,1$	$< 0,05$
ИЛ-8, пг/мл	$26,1 \pm 0,2$	$21,7 \pm 0,03$	$< 0,05$
ИЛ-4, пг/мл	$0,81 \pm 0,1$	$0,80 \pm 0,1$	$> 0,05$
ИЛ-10, пг/мл	$29,8 \pm 0,3$	$20,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ИЛ-2, пг/мл	$0,08 \pm 0,1$	$0,01 \pm 0,1$	$< 0,05$
ИНФ γ , пг/мл	$4,02 \pm 0,1$	$2,01 \pm 0,01$	$< 0,05$
Фактор Н, нг/мл	$32,8 \pm 0,3$	$21,1 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФИ, %	$53,2 \pm 11$	$31 \pm 0,2$	$< 0,05$
ФЧ, абс.	$5,81 \pm 0,1$	$1,23 \pm 0,03$	$< 0,05$
НСТ-сп., %	$25,1 \pm 0,2$	$23,6 \pm 0,1$	$< 0,05$
НСТ-ст., %	$31,4 \pm 0,3$	$21,3 \pm 0,1$	$< 0,05$

Из данных табл. 7 видно, что у пациентов после спленэктомии и введения имунофана отмечается восстановление таких показателей, как IgG, общего количества комплемента, его C3- и C4-фракций. Все остальные показатели не изменялись и соответствовали данным, полученным в группе пациентов после спленэктомии. Из этого можно сделать заключение, что введение имунофана не приводит к коррекции иммунологических нарушений у пациентов после спленэктомии в отдаленном послеоперационном периоде.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что спленэктомия, выполненная по поводу травмы, в отдаленном послеоперационном периоде приводит к следующим изменениям в иммунном статусе организма: в клеточном звене к снижению количества зрелых

Т-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-киллеров. Вместе с тем отмечается повышение количества Т-цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов. В гуморальном звене: происходит снижение всех исследуемых показателей, за исключением IgA и ИЛ-4. С целью коррекции этих изменений физиологически оправдано применение полиоксидония в дозе 12 мг.

Выводы

1. Спленэктомия, выполненная по поводу травмы селезенки, в отдаленном послеоперационном периоде приводит к изменениям как в клеточном, так и в гуморальном звене системы иммунитета.

2. С целью коррекции иммунологических осложнений после спленэктомии в отдаленном послеоперационном периоде следует применять полиоксидоний в дозе 12 мг.

Список литературы

1. Барта И. Селезенка. – М.: Медицина, 1976. – С. 5–40.
2. Виноградов В.В., Денисенко В.И. Гетеротопическая аутолинтрансплантация селезеночной ткани после спленэктомии // Хирургия, 1986. – № 2. – С. 87–90.
3. Павлова И.Е. Особенности функционирования иммунной системы после спленэктомии у пациентов с заболеваниями системы крови и травмами селезенки: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2007. – №5. – 34 с.
4. Чуманов А.Ю. Хирургическое лечение повреждений селезенки с учетом изменений иммунного статуса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2011. – 12 с.
5. Шапкин Ю.Г., Киричук В.Ф., Масляков В.В. Иммунный статус в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов, оперированных по поводу повреждений селезенки // Хирургия. – 2006. – № 2. – С. 27–34.
6. Musavi M., Dayem H.A., Whitl A. Function of splenic omental implants in man after traumatic rupture of the spleen // The 32 nd World Congress of Surgery. – Sidney, 1987. – P. 49.
7. Okita K., Komaga K., Okaja K. Effect of splenectomy in tumor-bearing and gastric cancer patients // Gann. – 1977. – Vol. 680. – P. 731–736.
8. Vobofil Z. Segmentare resktion der verletzter humanmils // Chirurg. – 1982. – Bd. 53, № 11. – P. 692–696.
9. West K.W., Grosteld J.L. An autopsy method for evaluating trauma // Wel. J. Surg. – 1985. – Vol. 115, № 4. – P. 447–451.

References

1. Barta I. *Selezenka*. M.: Maditsina, 1976. pp. 5–40.
2. Vinogradov V.V., Denisenko V.I. *Geterotopicheskaj autolintrassplantathij selezenochnoi tkani posle splenektomii* – *Khirurgij*. 1986. no.2. pp. 87–90.
3. Pavlova I.E. *Osobennosti funkcionirovanij immunnoi sistemy posle splenektomii u patcientov s zabolevanijmi kro-*

vi I travmami selezenki: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. Spb, 2007. 5–34 p.

4. Chumanov A.Yu. *Khirurgicheskoe lechenie povrezhdenii selezenki s uchetom izmenenii immunnogo statusa: avtoref. dis. ... kand. med. nauk*. M., 2011. 12 p.
5. Schapkin Yu.G., Kirichuk V.F., Maslyakov V.V. *Immnny status v otdalennom posleoperatsionnom periode u patsientov, operirovannykh po povodu povrezhdenii selezenki* – *Khirurgij*, 2006. no. 2. pp. 27–34.
6. Musavi M., Dayem H.A., Whitl A. *Function of splenic omental implants in man after traumatic rupture of the spleen* – *The 32 nd World Congress of Surgery*, Sidney, 1987. pp. 49.
7. Okita K., Komaga K., Okaja K. *Effect of splenectomy in tumor-bearing and gastric cancer patients* – *Gann.*, 1977. Vol. 680. pp. 731–736.
8. Vobofil Z. *Segmentare resktion der verletzter humanmils* – *Chirurg.*, 1982. Bd. 53. no. 11. pp. 692–696.
9. West K.W., Grosteld J.L. *An autopsy method for evaluating trauma* – *Wel. J. Surg.*, 1985. Vol. 115. no. 4. pp. 447–451.

Рецензенты:

Александров Д.А., д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней и онкологии ФПК и ППС ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского Минздравсоцразвития РФ», г. Саратов;

Пучиньян Д.М., д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздравсоцразвития России, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 09.04.2012.

УДК 616-007.43;618.14-007.43

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДВУСТОРОННЕЙ ГЕРНИОПЛАСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИЭСТЕРОВОГО ИМПЛАНТАТА

¹Михалева Л.М., ²Протасов А.В., ²Геворгян А.О., ²Табуйка А.В.,²Титаров Д.Л., ²Шемятовский К.А.¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» Российской Академии медицинских наук, Москва, e-mail: morfolhum@mail.ru;²Российский университет дружбы народов, Москва

Исследование проведено на 35 белых беспородных крысах самцах половозрелого возраста, массой – 300 г. В экспериментальной группе (30 особей) крысам проводилось моделирование операции двусторонней герниопластики с использованием сетчатого имплантата (полиэстер). На каждый срок наблюдения (через 3, 7, 14 суток и 1, 3 и 6 месяцев) было прооперировано по 5 крыс. Интактная (контрольная) группа включала 5 животных. Проводилось морфологическое изучение ткани семенников, придатков семенника, семявыносящего протока и обработка полученных данных морфометрическими методами. Проведенное морфофункциональное исследование репродуктивных органов после моделирования двусторонней герниопластики с использованием полиэстерового имплантата показало, что при использовании сетчатого имплантата (полиэстер) происходят изменения в тканях стенки семявыносящего протока, что может спровоцировать различные нарушения в репродуктивных органах.

Ключевые слова: двусторонняя герниопластика, имплантат, полиэстер, репродуктивные органы

THE MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THE REPRODUCTIVE ORGANS AFTER THE OPERATION OF THE BILATERAL HERNIOPLASTY WITH THE POLYESTER IMPLANT

¹Mikhaleva L.M., ²Protasov A.V., ²Gevorgyan, A.O., ²Tabuyka A.V.,²Titarov D.L., ²Shemyatovsky K.A.¹Scientific-Research Institute of Human Morphology of RAMS, Moscow, e-mail: morfolhum@mail.ru;²Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

The research was conducted on 35 male white pedigree less rats of the sexually mature age, weight – 300 g. The experimental group (30 individuals) was carried out the simulation operation of the bilateral hernioplasty using mesh implant (polyester). At each observation period (after 3, 7, 14 days and 1, 3 and 6 months) were operated on 5 rats. The Intact group (control) included of 5 animals. Conducted a morphological study of testicular tissue, testicular appendages, vas deferens, and morphometric data processing methods. A study morphofunctional study of the reproductive organs after modeling bilateral hernioplasty with polyester implant showed that the use of mesh implants (polyester), changes the tissues of the wall of the vas deferens, which can cause various disorders in the reproductive organs.

Keywords: bilateral hernioplasty, implant, polyester, reproduction organs

С момента зарождения герниологии было предложено огромное множество способов лечения грыж [2]. Большинство авторов отказалось от пластики местными тканями в пользу современных искусственных эксплантатов, благодаря которым осуществляется пластика ворот «без натяжения», что помогает избежать целого ряда отрицательных последствий так называемых «классических» способов [4, 6]. Распространение протезной герниопластики привело к тому, что потребность в инертном пластическом материале стала довольно значительной [3]. Одним из современных материалов, использующимся в герниопластике, является полиэстер. Приведённые в литературе данные об утрате или снижении фертильности эякулята при огромном количестве ежегодно выполняемых оперативных вмешательств у мужчин репродук-

тивного возраста не позволяют оставить без внимания проблему влияния пахового грыжесечения на состояние яичка, на фертильность [1, 5].

Цель – изучить возможное влияние сетчатого полиэстерового имплантата на репродуктивные органы белых беспородных крыс-самцов после двусторонней герниопластики в эксперименте.

Материал и методы исследования

Нами было проведено исследование на 35 белых беспородных крысах самцах половозрелого возраста, массой – 300 г. Животные были разделены на 2 группы. В первой группе крысам проводилось моделирование операции двусторонней герниопластики с использованием сетчатого имплантата (полиэстер). На каждый срок наблюдения (через 3, 7, 14 суток и 1, 3 и 6 месяцев) было прооперировано по 5 крыс. Вторая интактная (контрольная) группа включала 5 животных.

Методы

1. Хирургический метод: моделирование операции герниопластики с использованием сетчатого имплантата.
2. Клиническое наблюдение.
3. Морфологический метод.
4. Морфометрический метод.
5. Биологический метод.
6. Метод статистической обработки.

Результаты исследования и их обсуждение

Морфологическое исследование семенника, придатка семенника и семявыносящего протока при проведении двусторонней герниопластики полиэфировым импланта-

том позволило выявить изменения в тканях репродуктивных органов.

Морфофункциональная характеристика семенника

При морфологическом изучении изменений канальцев и оболочки семенника в опытных группах отмечаются незначительные изменения толщины оболочки семенника по сравнению с интактным препаратом.

Так, через 3-е суток после операции во всех исследуемых группах отмечается незначительное утолщение белочной оболочки семенника. В отдельных препаратах отмечается отек, нередко отслойка сперматогенного эпителия (рис. 1).

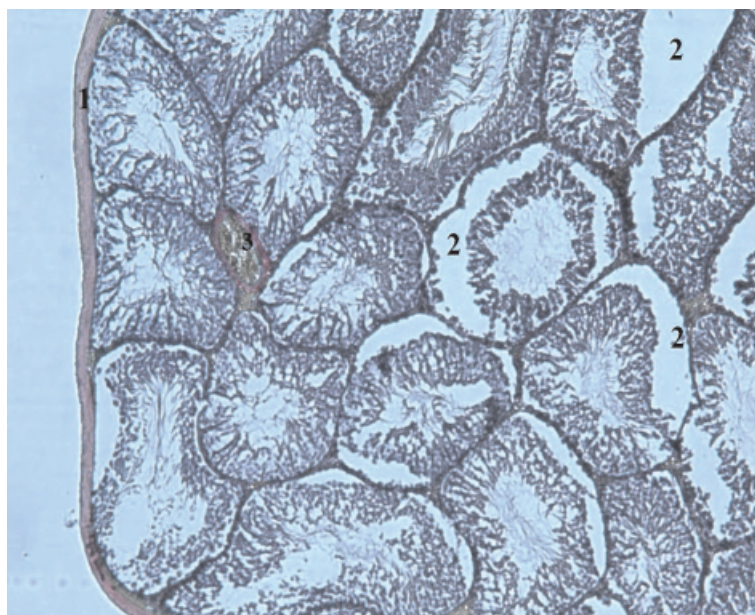


Рис. 1. Семенник. Двусторонняя герниопластика. 3-и сутки после операции. Окраска по ван Гизону. x240:

1 – утолщение оболочки семенника; 2 – отслойка сперматогенного эпителия;
3 – умеренный отек интерстициальной ткани

В более позднем сроке наблюдения, через 1 месяц после операции, нарушения межканальцевых связей единичные, утолщение белочной оболочки семенника во всех исследуемых группах почти не отмечается.

Через 3 месяца после операции в экспериментальной группе клетки Лейдига присутствуют в интерстициальной ткани, в семенных канальцах представлены все стадии сперматогенеза (рис. 2).

Через 6 месяцев после операции, несмотря на сохраняющееся разобщение межканальцевых связей и частичную отслойку эпителия в некоторых канальцах семенника, сперматогенез восстанавливается во всех исследуемых группах.

Проведенное морфологическое исследование показало, что в семеннике в опытной группе отмечается незначительное утолщение белочной оболочки. Отмечаются невыраженные изменения в структуре канальцев в виде появления фрагментарных участков отслойки сперматогенного эпителия в отдельных препаратах, нарушения межканальцевых связей из-за возникающего на ранних сроках после операции отека. Сперматогенный эпителий во всех препаратах сохранен. В просвете представленных канальцев семенников имеются половые клетки во всех стадиях развития.

В табл. 1 представлены результаты морфометрического исследования толщины оболочки семенника в мкм.

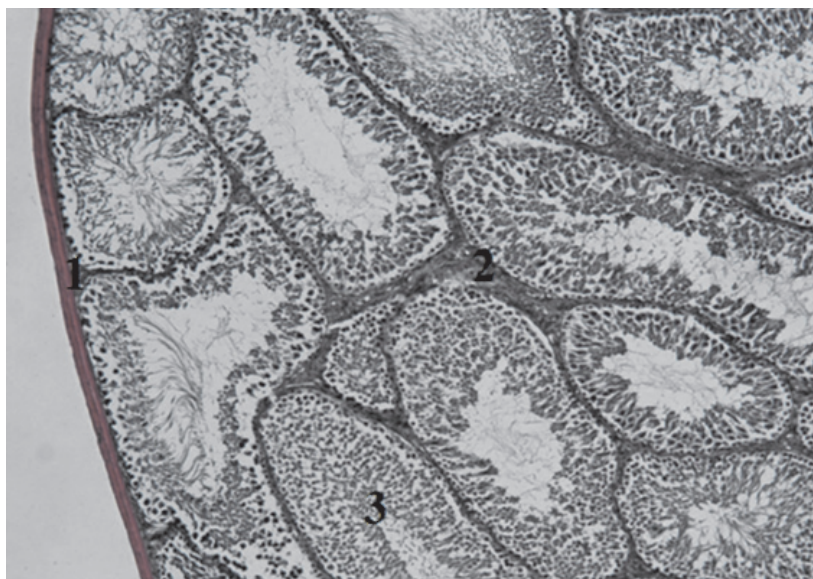


Рис. 2. Семенник. Двусторонняя герниопластика. 3 месяца после операции. Окраска по ван Гизону. $\times 240$:

1 – белочная оболочка; 2 – клетки Лейдига; 3 – все стадии сперматогенеза

Таблица 1

Характеристика средних величин показателя толщины оболочки семенника с учетом средней ошибки

Срок исследования	Оболочка семенника – $M \pm m$ (мкм)					
	3 дня	7 дней	14 дней	1 месяц	3 месяца	6 месяцев
Двусторонняя герниопластика (правая)	$40,76 \pm 0,59^{***}$	$31,82 \pm 0,61^{***}$	$34,03 \pm 1,30^{**}$	$34,36 \pm 1,60^{***}$	$29,39 \pm 0,21^*$	$34,31 \pm 0,74^*$
Двусторонняя герниопластика (левая)	$36,71 \pm 0,87^{***}$	$28,73 \pm 0,52^{***}$	$35,33 \pm 1,68^{**}$	$33,09 \pm 1,48^{***}$	$31,55 \pm 1,09^{**}$	$28,57 \pm 0,56^*$
Интактный препарат	$22,84 \pm 1,27$					

Примечания: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$, *** – $p < 0,0001$.

На начальном этапе (через 3-е суток после операции) увеличение составляет в среднем 78% (двусторонняя герниопластика). Через 6 месяцев после операции этот показатель составляет 50%.

Морфофункциональная характеристика семявыносящего протока

При морфофункциональном изучении семявыносящего протока отмечается незначительное утолщение эпителия и соединительнотканной пластины семявыносящего протока. Уменьшение просвета протока не отмечается. В просвете всех канальцев сохраняются сперматозоиды.

Через 3-е суток после операции в опытных группах с проведенной герниопластикой сетчатым имплантатом визуализируется мощная мышечная оболочка. Адвентиция представлена волокнистой соединительной тка-

нью. Толщина эпителия умеренно увеличена. Стереоцилии сохранены. В просвете протока определяются зрелые сперматозоиды.

Через 3 месяца после операции при моделировании герниопластики визуализируется мощная мышечная оболочка, адвентиция представлена волокнистой соединительной тканью. Во всех препаратах, где была проведена герниопластика сетчатым имплантатом, отмечается утолщение эпителия и соединительнотканной пластины семявыносящего протока с его частичной отслойкой и деформацией. В просвете протока определяются сперматозоиды (рис. 3).

В семявыносящем протоке при моделировании двусторонней герниопластики начиная с 3-х суток послеоперационного периода отмечается утолщение эпителия и соединительнотканной пластины семявы-

носящего протока (в ранние сроки незначительно). При этом сначала происходит очаговое разрастание – через 14 суток после операции, затем – диффузное.

В табл. 2 представлены результаты морфометрического исследования толщины оболочки семявыносящего протока (мкм).

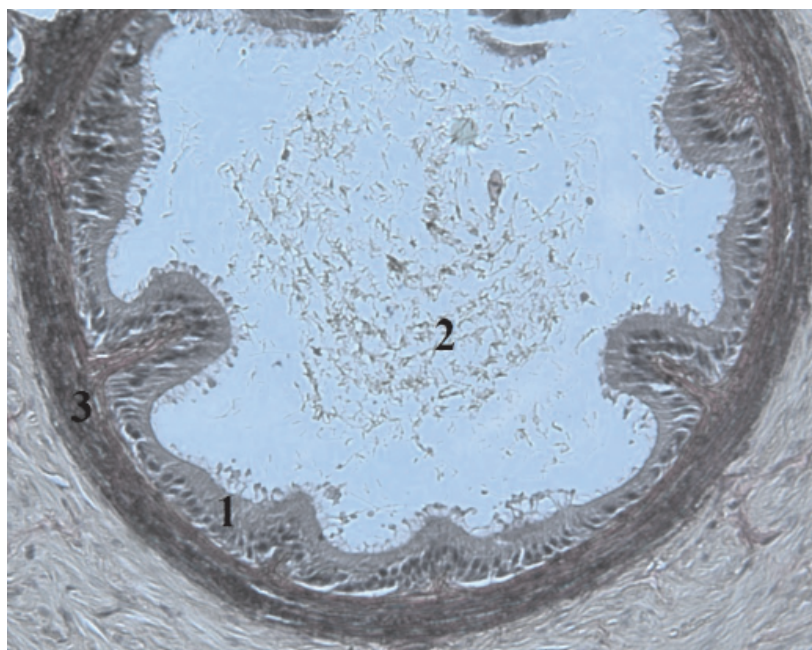


Рис. 3. Семявыносящий проток. Двусторонняя герниопластика. 3 месяца после операции.

Окраска по ван Гизону. $\times 240$:

1 – утолщение эпителия протока; 2 – в просвете протока определяются зрелые сперматозоиды; 3 – утолщение соединительной пластины

Таблица 2

Характеристика средних величин показателя эпителия семявыносящего протока с учетом средней ошибки

Срок исследования	Эпителий семявыносящего протока – $M \pm m$ (мкм)					
	3 дня	7 дней	14 дней	1 месяц	3 месяца	6 месяцев
Двусторонняя герниопластика (правая)	$18,67 \pm 1,29^{***}$	$21,77 \pm 1,13^{***}$	$20,78 \pm 2,08^{**}$	$14,97 \pm 0,22^{***}$	$21,41 \pm 1,41^{***}$	$21,92 \pm 0,75^*$
Двусторонняя герниопластика (левая)	$19,81 \pm 0,79^{***}$	$21,98 \pm 1,06^{***}$	$18,64 \pm 1,34^{**}$	$18,25 \pm 0,83^{***}$	$20,85 \pm 0,55^{**}$	$21,09 \pm 1,23^*$
Интактный препарат	$13,78 \pm 2,05$					

Примечания: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$, *** – $p < 0,0001$.

В результате проведенного морфометрического исследования выявлена общая тенденция утолщения эпителия семявыносящего протока на всех этапах и во всех экспериментальных группах. На начальном этапе (через 3-е суток после операции) увеличение составляет в среднем 39%. Через 6 месяцев после операции этот показатель составляет 56%.

В результате проведенного морфометрического исследования выявлена общая тенденция существенного увеличения тол-

щины соединительнотканной пластины семявыносящего протока на всех этапах в экспериментальной группе. На начальном этапе (через 3-е суток после операции) утолщение составляет в среднем от 54%. Через 6 месяцев после операции разброс показателя увеличивается и составляет 86%.

Заключение

Итак, проведенное морфофункциональное исследование репродуктивных органов после моделирования двусторонней герни-

пластики с использованием полиэфирного имплантата показало, что происходят изменения в тканях стенки семявыносящего протока, что может спровоцировать различные нарушения в репродуктивных органах. При этом необходимо учитывать, что в эксперименте были задействованы здоровые животные, половозрелые самцы-крысы без какой-либо патологии.

Список литературы

1. Асимов А.С., Насури И.Б. Репродуктивная функция у мужчин после пахового грыжесечения // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1972. – № 3. – С. 68–70.
2. Егиев В.Н., Авакян В.А., Чижов Д.В. Протезирующая герниопластика послеоперационных вентральных грыж // Герниология. – 2004. – №3. – С. 16–19.
3. Нестеренко Ю.А., Никитин В.М., Салов Ю.Б. Конференция хирургов: тезисы докладов. – Тула, 1984. – С. 144–145.
4. Нестеренко Ю.А., Серочкин Г.Г., Абсев Ф.С. Результаты хирургического лечения рецидивных паховых грыж // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1986. – № 2. – С. 57–59.
5. Пономарев В.М. Хирургическое лечение паховых грыж // Хирургия. – 1989. – № 10. – С. 91–94.
6. Cumberland V.H. A preliminary report of the use of prejabvicated nylon weave in the repair of ventral hernia // Med. J. Australia. – 1952. – Vol.1, № 5. – P. 143–147.

References

1. Asimov A.S., Nasuri I.B. *Reproduktivnaya funktsiya u muzhchin posle pakhovogo grizhesecheniya*, Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova, 1972, no. 3, pp. 68–70.
2. Egiev V.N., Avakyan V.A., Chizhov D.V. *Proteziyushchaya gernioplastika posleoperatsionnykh ventralnykh gryzh*, Gerniologiya, 2004, no. 3, pp. 16–19.
3. Nesterenko Yu.A., Nikitin V.M., Salov Yu.B. *Konferentsiya khirurgov: Tezisy dokladov*. Tula, 1984, pp. 144–145.
4. Nesterenko Yu. A., Serochkin G.G., Absev F.S. *Rezultaty khirurgicheskogo lecheniya retsidivnykh pakhovikh gryzh*, Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova, 1986, no. 2, pp. 57–59.
5. Ponomarev V.M. *Khirurgicheskoe lechenie pakhovikh gryzh*, Khirurgiya, 1989, no. 10, pp. 91–94.
6. Cumberland V.H. *A preliminary report of the use of prejabvicated nylon weave in the repair of ventral hernia* – Med. J. Australia. 1952. Vol.1, no. 5. pp. 143–147.

Рецензенты:

Богданов Д.Ю., д.м.н., профессор кафедры эндоскопической хирургии ФПДО ГБОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития России, г. Москва;

Кутин А.А., д.м.н., профессор, заместитель главного врача по науке Клинической больницы №85 Федерального медико-биологического агентства, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 10.04.2012.

УДК 57.012:611-018.7:616.33-006.6-091

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ПРИ КАРЦИНОМАХ ЖЕЛУДКА

Непомнящих Г.И., Мезенцева Г.А., Постникова О.А., Русинова С.Г.

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии»
СО РАМН, Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Для изучения изменений структуры эпителиоцитов при различных формах рака желудка был проведен светооптический и электронно-микроскопический анализ биоптатов желудка, включающий опухолевые очаги и перифокальную зону. Установлено, что на отдалении от опухолевого очага у пациентов с высоко- и умереннодифференцированными карциномами желудка наиболее типичными изменениями являются распространенная неполная кишечная метаплазия и ассоциированная с этими участками дисплазия на фоне диффузной атрофии эпителия. В прилежащих к опухоли участках слизистой оболочки нередко обнаруживалась неравномерная гиперплазия эпителия. В перифокальных зонах при низкодифференцированной и перстневидно-клеточной карциномах, а также при недифференцированном раке желудка на первый план вышли атрофические изменения слизистой оболочки и дисплазия генеративных зон эпителия. При изучении регионарных лимфатических узлов с акцентом на наличие, размер и множественность метастазов выяснилось, что у пациентов с аденокарциномами метастазы обнаружены в 37% случаев, у больных с недифференцированным раком желудка – в 38%, при смешанных формах опухоли желудка наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах выявлено у 60% оперированных больных, что значительно превышало показатели первых двух групп.

Ключевые слова: рак желудка, эпителиоциты, патоморфология

STRUCTURAL CHANGES OF EPITHELIOCYTES IN GASTRIC CARCINOMAS

Nepomnyashchikh G.I., Mezentseva G.A., Postnikova O.A., Rusinova S.G.

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology CD RAMS,
Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru*

To investigate changes of epitheliocytes in various types of gastric cancer, biopsy specimens from tumor foci and perifocal zone were analyzed using light and electron microscopy. It has found that in tissue specimens taken at a distance from the tumor foci of patients with high- and moderately differentiated carcinomas of the stomach, the most typical changes comprised a widespread incomplete intestinal metaplasia and associated with these areas dysplasia, developing on the background of diffuse epithelial atrophy. In the areas adjacent to the tumor, an irregular mucosal hyperplasia was often detected. In specimens from perifocal areas of low-differentiated and signet ring cell carcinomas, as well as of undifferentiated gastric carcinomas, atrophic changes of mucosa and dysplasia of the generative epithelial zone took a leading role. The study of regional lymph nodes with an emphasis on the presence, size and multiplicity of metastases revealed that in patients with adenocarcinomas metastases were found in 37% of cases, in patients with undifferentiated gastric cancer – in 38%, and in mixed-type cancer metastases in regional lymph nodes were detected in 60% of operated patients, which was significantly higher than the rates in the first two groups.

Keywords: gastric cancer, epithelial cells, pathomorphology

Опухолевые клетки отличаются от нормальных нарушениями прочной сопряженности между процессами роста и дифференцировки [9]. Увеличение темпа воспроизводства озлокачествленных клеток обеспечивается не столько через укорочение митотического цикла, сколько за счет возрастания количества тех элементов, которые вместо достижения терминальной степени дифференцировки остаются во фракции роста [6, 11, 13]. В качестве еще одного механизма немалую роль играет «карикатурная» сигнальная связь, то есть нарушенная интеграция между малигнизированными клетками, проходящими через этапы дифференцировки, и микроокружением [2, 4]. Достигнут значительный прогресс в области изучения морфофункциональных особенностей слизистой оболочки желудка при предраке и раке, отчасти связанный с развитием высокочувствительных

способов выявления в гистологических срезах отдельных тканевых и клеточных компонентов [1, 3]. Однако многие аспекты структурно-метаболической перестройки слизистой оболочки желудка при ее малигнизации остаются предметом дискуссий, и поиск изменений, предшествующих возникновению опухоли, по-прежнему актуален [5, 10].

Цель исследования – провести комплексный морфологический анализ, включающий световую и электронную микроскопию, для оценки популяций опухолевых клеток и не-трансформированной слизистой оболочки опухолевых очагов при раке желудка.

Материал и методы исследования

Проведено исследование операционного материала 102 пациентов (61 мужчины и 41 женщины в возрасте от 33 до 77 лет) со злокачественными новообразованиями желудка различных TNM стадий по международной классификации ВОЗ. На ос-

новании патоморфологического анализа опухолей в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ клинические наблюдения разделены на три основные группы. Первую группу составили 59 пациентов (34 мужчины и 25 женщин в возрасте от 38 до 77 лет) с аденокарциномами желудка. В зависимости от степени дифференцировки опухолей в этой группе были выделены две подгруппы: с высоко- и умереннодифференцированными аденокарциномами – кишечный рак по классификации Лаурина (1965) и с низкодифференцированными аденокарциномами и перстневидно-клеточным раком (диффузный рак по Лаурену). Исследованы 83 образца ткани опухоли желудка и 71 образец нетрансформированной слизистой оболочки. Вторая группа состояла из 25 человек (13 мужчин и 12 женщин в возрасте от 48 до 70 лет) с недифференцированным раком желудка – изучено 35 образцов опухоли, и 30 – нетрансформированной слизистой оболочки. В третью группу вошли 18 пациентов (14 мужчин и 4 женщины в возрасте от 33 до 76 лет) со смешанными формами опухолей желудка – изучено 26 фрагментов ткани опухоли и 22 – нетрансформированной слизистой оболочки.

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином в комбинации с реакцией Перлса, по ван Гизону с окраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта, ставили ШИК-реакцию. Полутонкие срезы окрашивали реактивом Шиффа и азуром II. Исследования проводили в универсальном микроскопе Leica DM 4000B (Германия). Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, исследовали в электронном микроскопе JEM 1010 при ускоряющем напряжении 80 кВт.

Результаты исследования и их обсуждение

Светооптическое исследование первичных опухолей пациентов 1-й группы выявило преобладание зрелых форм аденокарцином, характеризующихся формированием папиллярных и тубулярных железистых структур, умеренно выраженной тканевой и клеточной атипией, появлением патологических митозов, в разной степени выраженными фиброзными изменениями стромы. В низкодифференцированной аденокарциноме среди обширных скоплений опухолевых клеток или фиброзных полей с трудом обнаруживались мелкие железы, степень анаплазии опухолевых клеток возрастала. Перстневидно-клеточный рак отличался диффузным распределением клеток типичной перстневидной формы и, как правило, отсутствием десмопластической реакции стромы.

Особый интерес представляло изучение состояния слизистой оболочки желудка в отдаленных от опухоли участках. При кишечном типе рака светооптическое исследование фрагментов пилорического отдела желудка во всех наблюдениях выявило наличие распространенной неполной кишечной метаплазии. Обращала на себя внимание атрофия слизистой оболочки, ино-

гда выраженная, с заметным истончением собственной пластинки, дистрофическими изменениями покровно-ямочного эпителия и уменьшением количества желез [7]. Диспластические изменения эпителия от слабой до тяжелой степени (увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, снижение секреции мукоида, псевдомногорядность, повышение митотической активности) обнаружены в большинстве исследованных фрагментов. Характерна многофокусность диспластических изменений, нарастающих по направлению к опухолевому очагу.

В фундальном отделе желудка очаговая кишечная метаплазия эпителиоцитов отмечена у 25% пациентов. Диспластические изменения энтеролизованного и интактного эпителия выявлены в половине наблюдений. Мононуклеарная инфильтрация отличалась слабой интенсивностью и поверхностной локализацией. В целом, патологические изменения в фундальном отделе желудка носили менее выраженный характер по сравнению с пилорическим отделом.

При изучении регионарных лимфатических узлов обращали внимание на наличие, размер и множественность метастазов. У пациентов с аденокарциномами метастазы в лимфатических узлах обнаружили у 37% больных.

Таким образом, светооптическое исследование первичных опухолей желудка пациентов 1-й группы выявило преобладание зрелых форм аденокарцином, характеризующихся формированием капиллярных и тубулярных железистых структур, умеренно выраженной тканевой и клеточной атипией. В большинстве случаев зрелых аденокарцином опухолевый очаг хорошо отграничен от окружающих тканей стенки желудка. Перстневидно-клеточный рак отличался диффузным распределением изолированных округлой формы клеток, содержащих в цитоплазме большое количество слизи. Опухоль характеризовалась инфильтративным ростом и была плохо отграничена от окружающих тканей [8, 12].

Новообразования у пациентов 2-й группы состояли из полиморфных либо монотипических по составу анапластических клеток, располагающихся в виде тяжей, комплексов, или изолированно друг от друга. Клеточные ядра различались по основным светооптическим характеристикам: форме, размерам, окраске. Наиболее часто в клетках недифференцированного рака желудка встречались крупные гиперхромные угловатой формы ядра, а также небольшие светлые пузырьковые ядра. Цитоплазма была, как правило, скудная и плохо различима. Анализ частоты и выраженности

патологических изменений нетрансформированной слизистой оболочки обнаружил их сходство с перифокальными процессами при диффузном типе карцином в первой группе наблюдений, что свидетельствует об определенном гистогенетическом единстве этих вариантов рака желудка. Ведущим патологическим изменением являлась дисплазия генеративных зон желудочного эпителия на фоне атрофически-склеротических процессов. Метастазы в регионарных лимфатических узлах обнаружены у 38% пациентов, что соответствует аналогичному показателю в первой группе.

Таким образом, светооптическое исследование опухолей желудка пациентов 2-й группы выявило наличие недифференцированного рака с солидным или скirroзным характером роста. Опухолевый очаг был плохо отграничен от окружающих тканей стенки желудка, отличался инфильтративным ростом и латеральным распространением опухоли по подслизистому слою.

Смешанные формы (3-я группа) сочетали в одном опухолевом очаге участки аденокарцином с различной степенью дифференцировки (часто с перстневидными клетками) либо разные патогистологические варианты рака желудка. Морфологическая картина отражала направление «дифференцировки» клеточных популяций от центра к периферии опухоли. Практически во всех исследованных случаях карцинома распространялась в глубь желудочной стенки, инвазируя подслизистый, мышечный, иногда серозный слои, в ряде наблюдений комплексы раковых клеток выявлялись в большом сальнике или брыжейке поперечной ободочной кишки.

В слизистой оболочке вне опухолевого очага у 60% пациентов имела кишечная метаплазия, ограниченная пилорическим отделом желудка; с такой же частотой встречались атрофия, склероз и густая полиморфно-клеточная инфильтрация. Наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах выявлено у 60% оперированных больных этой группы, что значительно превышало данные первых двух анализируемых групп.

Таким образом, светооптический анализ перифокальных процессов в слизистой оболочке при различных патогистологических формах рака желудка показал, что при высоко- и умереннодифференцированных аденокарциномах наиболее типичными изменениями являются распространенная неполная кишечная метаплазия и ассоциированная с этими участками дисплазия на фоне диффузной атрофии эпителия. При низкодифференцированной и перстневид-

но-клеточной аденокарциномах, а также при недифференцированном раке желудка на первый план выходят атрофические изменения слизистой оболочки и дисплазия генеративных зон эпителия [14].

Электронно-микроскопический анализ аденокарциномы желудка выявил множественные патологические изменения ультраструктуры малигнизированных клеток: большие, неправильной формы ядра с изрезанными контурами и неравномерным распределением крупноглыбчатого гетерохроматина в кариоплазме, увеличенным количеством ядрышек, иногда атипичными митозами.

При перстневидно-клеточном раке желудка преобладали опухолевые клетки с переполненной секреторными гранулами цитоплазмой и эксцентрически расположенным ядром аномальной формы. Слизистая оболочка желудка вне опухолевого очага отличалась мозаичностью ультраструктурной картины. В очагах кишечной метаплазии, кроме типичных покровно-ямочных эпителиоцитов, обнаружены также каемчатые и бокаловидные клетки, цитоплазма которых была переполнена крупными электронно-прозрачными глобулами слизи, а уплощенные ядра оттеснены к базальному полюсу клеток. На апикальной поверхности каемчатых эпителиоцитов выявлялись высокие, нерегулярно расположенные микроворсинки. В цитоплазматическом матриксе большое число митохондрий и развитая гранулярная цитоплазматическая сеть. Отражением атрофических процессов в слизистой оболочке желудка было наличие большого числа эпителиоцитов, почти лишенных микроворсинок, имеющих электронно-плотную цитоплазму с едва различимыми органеллами. В дистрофически измененных клетках покровно-ямочного эпителия наблюдалось уменьшение количества секреторных мукоидных гранул, среди которых преобладали незрелые, с плотным содержимым и неровными контурами. Диспластические изменения эпителиоцитов выражались в увеличении размеров ядер, появлении крупных ядрышек, значительном снижении содержания внутриклеточного муцина.

При недифференцированном раке желудка преобладали атипичные клетки с гладкими, лишенными микроворсинок контурами. Клеточные ядра отличались большими размерами, с глубокими инвагинациями в нуклеолемме, придающими ядру причудливую двухлопастную или трехлопастную форму. Изучение желудка при недифференцированном раке на отдалении от первичной опухоли показало высокую

степень развития атрофически-склеротических процессов слизистой оболочки и наличие диспластических изменений эпителия, ассоциированных с генеративными зонами (желудочные ямки, верхние отделы шеек желез). Неполная кишечная метаплазия носила очаговый характер и была ограничена, как правило, пилорическим отделом желудка. Анализ частоты и выраженности патологических изменений нетрансформированной слизистой оболочки при недифференцированном раке выявил их сходство с перифокальными процессами при диффузном типе карцином в первой группе наблюдений, что свидетельствует об определенном гистогенетическом единстве этих вариантов рака желудка.

Ультраструктурный анализ карцином желудка со смешанным типом строения подтвердил полиморфизм тканей и клеточную атипию, обнаруженные при светоптическом исследовании. В участках опухоли обнаружили злокачественные клетки с признаками секреции слизи в виде различных по размеру гранул, содержащих муцин. При снижении уровня дифференцировки по направлению к периферии опухоли наблюдалось прогрессирующее изменение ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону увеличения размеров ядер. В слизистой оболочке желудка на отдалении от опухолевого очага в ряде случаев отсутствовали патологические изменения покровно-ямочного эпителия. По мере приближения к опухолевому очагу нарастала выраженность и гетерогенность изменений эпителиальных структур слизистой оболочки желудка. Анализ перифокальных процессов в окружающей слизистой оболочке желудка выявил меньшую распространенность и частоту предраковых изменений (дисплазии, неполные кишечные метаплазии и атрофии эпителия), чем в других исследованных группах пациентов. В целом, это свидетельствует о более высоких темпах опухолевой прогрессии смешанных форм карцином желудка.

Заключение

Проведен комплексный морфологический анализ, включающий световую и электронную микроскопию опухолевых очагов, нетрансформированной слизистой оболочки, и регионарных лимфатических узлов при раке желудка. По результатам микроскопического исследования слизистой оболочки желудка на отдалении от опухолевого очага у пациентов с высоко- и умереннодифференцированными карциномами желудка установлено, что наиболее типичными изменениями являются распро-

страненная неполная кишечная метаплазия и ассоциированная с этими участками дисплазия. В прилежащих к опухоли участках слизистой оболочки нередко обнаруживалась неравномерная гиперплазия эпителия. При низкодифференцированной и перстневидно-клеточной карциномах, а также при недифференцированном раке желудка на первый план выходит дисплазия генеративных зон эпителия; неполная кишечная метаплазия носит очаговый характер.

Список литературы

1. Морфологическая диагностика вариантов дисплазии и раннего рака желудка / Т.А. Белоус, Г.А. Франк, К.К. Пугачев, Л.В. Литвинова // Новое в онкологии: Сб. науч. трудов. – Вып. 1. – М., 1995. – С. 74–81.
2. Головин Д.И. Ошибки и трудности гистологической диагностики опухолей. – Л.: Медицина, 1982. – 303 с.
3. Проллиферативная активность клеток опухоли при кишечном и диффузном типах рака желудка / М.В. Завьялова, В.М. Перельмутер, И.В. Степанов и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 4 (46). – С. 36–40.
4. Серов В.В., Золотаревский И.Б., Берестов А.В. Ранний рак желудка: морфология, гистология, морфогенез // Арх. патологии. – 1990. – № 5. – С. 70–74.
5. Рак желудка при первично-множественных злокачественных опухолях / В.И. Чисов, Л.А. Ватакмадзе, А.В. Бутенко, П.А. Морозова // Первично-множественные злокачественные опухоли / под ред. В.И. Чисова, А.Х. Трахтенберга. – М., 2000. – С. 233–241.
6. Mucinous gastric carcinomas: clinicopathologic and molecular analyses / J.S. Choi, M.A. Kim, H.E. Lee, H.S. Lee, W.H. Kim // Cancer. – 2009, Aug. 1. – Vol. 115, № 15. – P. 3581–90.
7. Patterns of gastric atrophy in intestinal type gastric carcinoma / H.M. El-Zimaity, H. Ota, D.Y. Graham et al. // Cancer. – 2002. – Vol. 94, № 4. – P. 1428–1436.
8. Clinicopathologic characteristics and prognosis of signet ring cell carcinoma of the stomach: results from a Chinese mono-institutional study / C.G. Jiang, Z.N. Wang, Z. Sun, F.N. Liu, M. Yu, H.M. Xu // Surg. Oncol. – 2011 Jun 1. – Vol. 103, № 7. – P. 700–3.
9. McLoughlin J.M. Adenocarcinoma of the stomach: a review // Proc. (Bayl Univ Med Cent). – 2004 Oct. – Vol. 17 № 4. – P. 391–9.
10. Noffsinger A. and Waxman I. Preinvasive Neoplasia in the Stomach: Diagnosis and Treatment // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2007. – Vol. 5. – P. 1018–1023.
11. Gastric cancer histology: clinicopathologic characteristics and prognostic value / J.M. Park, Y.J. Jang, J.H. Kim, S.S. Park, S.H. Park, S.J. Kim, Y.J. Mok, C.S. Kim // J Surg Oncol. – 2008 Dec 1. – Vol. 98, № 7. – P. 520–5.
12. Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alterations / K. Yamazaki, Y. Tajima, R. Makino, N. Nishino, S. Aoki, M. Kato, M. Sakamoto, K. Morohara, T. Kaetsu, M. Kusano // World J Gastroenterol. – 2006 Jun 28. – Vol. 12, № 24. – P. 3803–9.
13. Clinicopathologic characteristics and prognosis of mucinous gastric carcinoma / M. Zhang, G.Y. Zhu, H.F. Zhang, H.Y. Gao, X.F. Han, Y.W. Xue // J Surg Oncol. – 2010 Jul 1. – Vol. 102, № 1. – P. 64–7.
14. Mixed-type gastric carcinomas exhibit more aggressive features and indicate the histogenesis of carcinomas / H.C. Zheng, X.H. Li, T. Hara, S. Masuda, X.H. Yang, Y.F. Guan, Y. Takano // Virchows Arch. – 2008 May. – Vol. 452, № 5. – P. 525–34.

References

1. Belous T.A., Frank G.A., Pugachev K.K., Litvinova L.V. *Morfologicheskaya diagnostika variantov displazii i rannego raka zheludka. Novoe v onkologii: Sbornik nauchnykh trudov. Vyp. 1.* Moskva, 1995, pp.74–81.
2. Golovin D.I. *Oshibki i trudnosti gistologicheskoi diagnostiki opuholei.* Leningrad: Meditsina, 1982. 303 p.
3. Zavyalova M.V., Perelmutter V.M., Stepanov I.V., Vtorushin S.V., Afanasiev S.G., Avgustinovich A.V. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*, 2011, no. 4 (46), pp. 36–40.
4. Serov V.V., Zolotarevsky I.B., Berstov A.V. *Arch. Patologii*, 1990, no. 5, pp. 70–74.
5. Tchisov V.I., Vashakmadze L.A., Butenko A.V., Morozova P.A. *Rak zheludka pri pervichno-mnozhestvennykh zlokachestvennykh opukholyah. V sb. Pervichno-mnozhestvennye zlokachestvennye opukholy.* Red. V.I. Tchisov, A.H. Trahtenberg. Moskva, 2000, pp. 233–241.
6. Choi JS, Kim MA, Lee HE, Lee HS, Kim WH. Mucinous gastric carcinomas: clinicopathologic and molecular analyses – *Cancer*. – 2009, Aug. 1. Vol.115, no. 15. pp. 3581–90.
7. El-Zimaity H.M., Ota H., Graham D.Y. et al. Patterns of gastric atrophy in intestinal type gastric carcinoma – *Cancer*. 2002. Vol. 94, no. 4. pp. 1428–1436.
8. Jiang C.G., Wang Z.N., Sun Z., Liu F.N., Yu M., Xu H.M. Clinicopathologic characteristics and prognosis of signet ring cell carcinoma of the stomach: results from a Chinese mono-institutional study – *Surg. Oncol.* 2011 Jun 1. Vol. 103, no. 7. pp. 700–3.
9. McLoughlin J.M. Adenocarcinoma of the stomach: a review – *Proc. (Bayl Univ Med Cent)*. – 2004 Oct. Vol. 17. no. 4. pp. 391–9.
10. Noffsinger A. and Waxman I. Preinvasive Neoplasia in the Stomach: Diagnosis and Treatment – *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2007. Vol. 5. pp. 1018–1023.
11. Park J.M., Jang Y.J., Kim J.H., Park S.S., Park S.H., Kim S.J., Mok Y.J., Kim C.S. Gastric cancer histology: clinicopathologic characteristics and prognostic value – *J Surg Oncol.* 2008 Dec 1. Vol. 98, no. 7. pp. 520–5.
12. Yamazaki K., Tajima Y., Makino R., Nishino N., Aoki S., Kato M., Sakamoto M., Morohara K., Kaetsu T., Kusano M. Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alterations – *World J Gastroenterol.* 2006 Jun 28. Vol. 12, no. 24. pp. 3803–9.
13. Zhang M., Zhu G.Y., Zhang H.F., Gao H.Y., Han X.F., Xue Y.W. Clinicopathologic characteristics and prognosis of mucinous gastric carcinoma – *J Surg Oncol.* 2010 Jul 1. Vol. 102, no. 1. pp. 64–7.
14. Zheng H.C., Li X.H., Hara T., Masuda S., Yang X.H., Guan Y.F., Takano Y. Mixed-type gastric carcinomas exhibit more aggressive features and indicate the histogenesis of carcinomas – *Virchows Arch.* 2008 May. Vol. 452. no.5. pp. 525–34.

Рецензенты:

Гуляева Л.Ф., д.б.н., профессор, зав. лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск;

Горчаков В.Н., заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор, зав. лабораторией функциональной морфологии Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 13.04.2012.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ПРИ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАЛЛЕЛЯХ ПРОГНОЗА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Павлова Т.В., ¹Комисов А.А., ¹Бессмертный Д.В., ¹Павлов И.А.,
¹Нестеров А.В., ²Белянский К.Д., ²Першин Е.В.

¹*«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
Белгород, e-mail: Info@bsu.edu.ru;*

²*Воронежское областное патологоанатомическое бюро, Воронеж, e-mail: vopab@mail.ru*

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста показателей заболеваемости и смертности. В Белгородской области с 1999 по 2010 г. заболеваемость выросла с 14,3 до 43,2 человек, приходящихся на 100 тысяч населения. У 23 больных с простатэктомией проведено комплексное морфофункциональное изучение опухоли с применением иммуногистохимии, электронной и зондовой сканирующей микроскопии. Морфологическая картина рака достаточно разнообразна. В подавляющем большинстве случаев (от 95 до 97%) РПЖ представлен аденокарциномой, происходящей из ацинарного эпителия. Реже встречаются перстневидноклеточный и мелко-клеточный РПЖ. Наблюдаются и другие формы РПЖ. Показано, что применение новых инновационных методов исследования расширяет границы для изучения патогенеза рака предстательной железы с целью дальнейшего применения в клинике.

Ключевые слова: рак предстательной железы, морфология

DIFFERENTIAL CRITERIA FOR CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARALLELS OF PROSTATE CANCER PREDICTION

¹Pavlova T.V., ¹Komisov A.A., ¹Bessmertny D.V., ¹Pavlov I.A., ¹Nesterov A.V.,
²Belyanskiy K.D., ²Pershin E.V.

¹*Belgorod State University, National Research, Belgorod, e-mail: Info@bsu.edu.ru;*

²*Voronezh Regional Office for autopsy, Voronezh, e-mail: vopab@mail.ru*

The problem of prostate cancer (PCa) has become today a special urgency because of the steady growth of morbidity and mortality. In the Belgorod region from 1999 to 2010, incidence increased from 14,3 to 43,2 persons per 100 thousand population. 23 patients with prostatectomy carried out a comprehensive study of the morphofunctional tumors using immunohistochemistry, electron probe and scanning microscopy. Morphological picture of cancer is quite diverse. The vast majority (95 to 97%) of prostate cancer presented adenocarcinoma originating from the acinar epithelium. Less common perstnevnikokletochny and small cell prostate cancer. Observed in other forms of prostate cancer. It is shown that the use of innovative new methods of research expands the boundaries for the study of the pathogenesis of prostate cancer with the aim of further use in the clinic.

Keywords: prostate cancer, morphology

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста показателей заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями ранней диагностики. По данным Международного агентства по изучению рака, злокачественными опухолями предстательной железы (ПЖ) в мире ежегодно заболевают более полумиллиона мужчин. В структуре заболеваемости злокачественными опухолями у мужчин в различных странах: США, страны Европы, Японии рак предстательной железы занимает первое место. В России за последние 10 лет произошло практически двукратное увеличение общего числа наблюдаемых больных с данной патологией как в абсолютных, так и относительных показателях.

Подъем заболеваемости приводит к росту смертности от РПЖ, которая среди прочих онкологических заболеваний у мужчин занимает второе место после рака легких и состав-

ляет 4,7% в структуре общей смертности от всех онкологических заболеваний. Высокая смертность от этой формы рака и пути ее снижения представляют исключительно важную проблему для ученых всех стран мира.

Морфологическая картина рака достаточно разнообразна. Особую роль здесь играют биопсийные методы. В подавляющем большинстве случаев (от 95 до 97%) РПЖ представлен аденокарциномой, происходящей из ацинарного эпителия. Реже встречаются перстневидноклеточный и мелкоклеточный РПЖ. Наблюдаются и другие формы РПЖ. Широкое применение приобрели иммуногистохимические методы исследования. Однако вопросы морфогенеза и диагностики РПЖ остаются еще недостаточно изученными. Особое значение при изучении морфогенеза онкозаболеваний приобретают новые, инновационные методы диагностики, которые как значительно дополняют уже имеющиеся,

так и создают основу для создания новых способов лечения.

В связи с этим целью нашего исследования явилось сопоставление морфологических данных широкого спектра при РПЖ (сканирующая электронная микроскопия и микроэлементный анализ, иммуногистохимия, зондовая микроскопия) с клиническим прогнозом.

На базе Белгородского областного онкологического диспансера с 2008 по 2010 г. проведено изучение изменения качества жизни больных РПЖ при различных методах лечения. В исследование вошло 134 больных РПЖ. У 23 с простатэктомией проведен комплексный морфофункциональный анализ опухолей предстательной железы. Всем больным перед простатэктомией выполнялась мультифокальная биопсия предстательной железы под УЗИ контролем. 18 больным биопсия бралась из 12 точек, 3 больным – из 8 точек, 2 больным из 18 точек. Таким образом, нами наиболее часто выполнялась биопсия из 12 точек. Все больные получали профилактическую антибактериальную терапию: Ципролет 500 мг два раза в день три дня. Изучение выполнено как по стандартизированной схеме, которая включала макроскопический анализ, вырезку материала, гистологическое изучение, так и с использованием растровой электронной микроскопии, включая микроэлементный анализ. Особо следует отметить применение зондовой сканирующей микроскопии.

Для гистологического исследования при световой микроскопии из операционного материала вырезались кусочки, которые маркировали и затем фиксировали в 10%-м растворе формалина, забуфференном по Лилли при pH-7,4, затем заливали в парафин по обычной методике. Серийные срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали по стандартной схеме, затем окрашивали гематоксилином и эозином. После заливки кусочков в парафин на микротоме приготавливали срезы с последующей окраской их гематоксилином и эозином. Образцы просматривали и фотографировали в световом микроскопе «TOPIC-T» CETI (Нидерланды).

Иммуногистохимическое исследование проведено с применением антител фирмы «Дако» (Дания). Выбраны следующие антитела: моноклональные кроличьи к человеческим AMACR (P504S), клон 13H4, FLEXRTU, моноклональные мышинные к человеческим Цитокератин, клон 34BE12, FLEXRTU, поликлональные кроличьи к человеческим Простат-специфический антиген. FLEX RTU, моноклональные мышинные к человеческим p63 Протеин, клон 4A4, моноклональные мышинные к человеческим Ki67 Антиген, клон MIB-1, FLEXRTU.

В ходе исследования микроэлементного состава при помощи РЭМ изучаемые кусочки опускали в 37° фиксирующую смесь: 2% глутаральдегид на 0,15 М фосфатном буфере с pH 7,2–7,4. Затем пробы просматривали в растровом микроскопе FEI Quanta 200 3D (Нидерланды-Чехия). Нами было изучено распределение микроэлементов на поверхности образца, полученного путем операционной биопсии при удалении опухолевого узла.

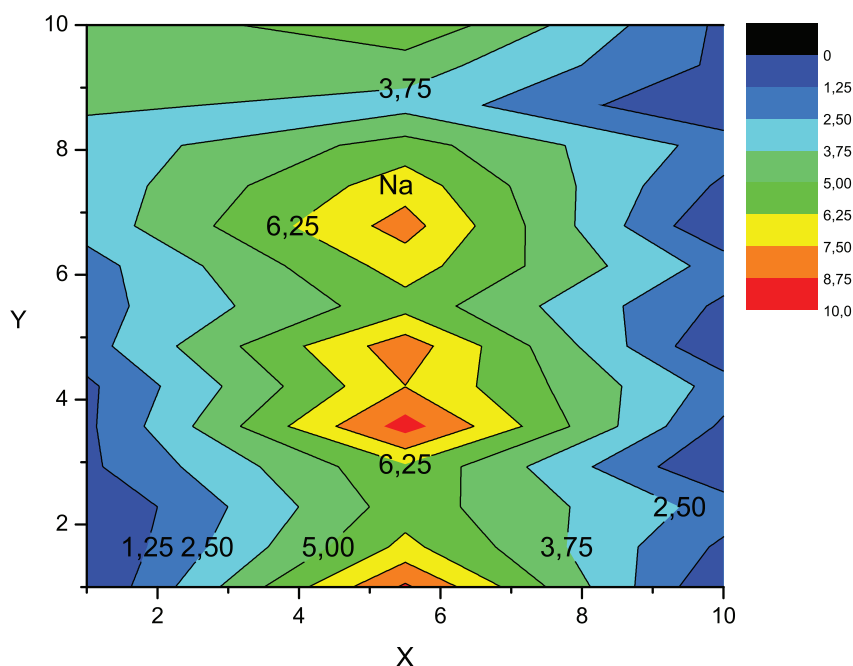
Среди основных свойств опухолевого роста особое место занимает биохимический атипизм, который проявляется в метаболических изменениях в опухолевой ткани. Все перестройки метаболизма в опухоли направлены на обеспечение ее роста и приспособления к относительному дефициту кислорода, который возникает при быстром росте неоплазмы. Имеющаяся при этом автономность роста носит относительный характер, так как опухолевая ткань постоянно получает от организма различные питательные вещества, в том числе, и кислород. С помощью использования точечного анализа нами показано, что содержание кислорода значительно отличается в различных участках ткани ПЖ при опухолевом росте. Так, в участках ПЖ с фиброзно-мышечной стромой его содержание было $28,20 \pm 0,25\%$ по отношению к другим макро- и микроэлементам. В случае со стадией неинвазивной опухоли, представленной опухолевыми клоном, представленным ограниченным числом клеток питающегося за счет диффузии питательных веществ из тканевой жидкости и не имеющих сосудов, содержание кислорода доходило до $38,5 \pm 0,3\%$. В стадию инвазии опухоли ПЖ со значительным клоном клеток, содержание кислорода составляло $49,5 \pm 1,0\%$.

Особое диагностическое значение имело также распределение натрия и магния в ПЖ при карциноме. Так, в участках ПЖ с фиброзно-мышечной стромой содержание магния было крайне незначительным и составляло $0,30 \pm 0,20\%$ по отношению к другим макро- и микроэлементам. В случае со стадией неинвазивной опухоли его содержание доходило до $13,05 \pm 1,40\%$, а в стадию инвазии опухоли – наоборот, несколько уменьшалось и составляло $0,65 \pm 0,10\%$. Содержание натрия было соответственно: $0,15 \pm 0,11\%$, от 0 до $0,03 \pm 0,02$; $0,35 \pm 0,02\%$. В первой фазе инвазии РПЖ на клеточной поверхности снижается концентрация ионов кальция до $0,25 \pm 1,02 \pm 0,20$, что приводит к повышению отрицательного заряда опухолевых клеток. Однако в опухолевых узлах его содержание достигало $3,02 \pm 0,20\%$.

Дополнительно было показано распределение микроэлементов вокруг опухолевой клетки. Выбраны средние величины,

независимо от инвазии опухоли. Было показано наибольшее прогностическое значение Na и Mg вокруг опухолевых клеток,

когда содержание микроэлементов равномерно уменьшалось исходя от клона опухолевых клеток (таблица, рисунок).



Распределение Na вокруг опухолевых клеток

**Микроэлементный состав
опухолевых клеток**

Элемент	Соотношение, %
Na	$8,97 \pm 0,843$
Mg	$9,37 \pm 0,76$
P	$37,93 \pm 2,21$
K	$6,66 \pm 0,53$
Ca	$37,07 \pm 2,08$

Было показано наибольшее прогностическое значение Na и Mg вокруг опухолевых клеток, когда содержание микроэлементов равномерно уменьшалось исходя от клона опухолевых клеток (см. рисунок).

Биохимический атипизм может быть показан также с помощью морфологических методов – гисто- и иммуногистохимических, поэтому его еще называют гистохимическим атипизмом. Иммуногистохимические методы на сегодняшний день являются обязательной частью любых исследований, так как только они обеспечивают специфическую визуализацию локализации в тканях различных клеток, гормонов и их рецепторов, ферментов, иммуноглобулинов, компонентов клеток (сократительных и промежуточных филаментов) и даже отдельных генов, а также помогают изучать секреторные и синтетические процессы. Большое распространение метод иммуногистохимии получил и в диагностике различных патологических процессов и в урологии, в частности в диагностике РПЖ.

Иммуногистохимические методы на сегодняшний день являются обязательной частью любых исследований, так как только они обеспечивают специфическую визуализацию локализации в тканях различных клеток, гормонов и их рецепторов, ферментов, иммуноглобулинов, сократительных и промежуточных филаментов и даже отдельных генов. Большое распространение метод иммуногистохимии получил и в диагностике РПЖ. Приоритетной задачей в настоящее время является не разработка способов применения каждого маркера в отдельности, а создание набора из доступных маркеров, способного достаточно подробно дать характеристику опухоли. Маркеры РПЖ по степени значимости можно разделить на ряд основных групп: это маркеры, используемые для диагностики РПЖ, и маркеры, определяющие потенциал злокачественности РПЖ. Однако это деление является условным.

В первую группу маркеров можно отнести различные цитокератины, определяемые в базальном эпителии (общий цитокератин, СК-5/6, высокомолекулярный цитокератин), и маркер p63. Последний является функциональным гомологом p53, но экспрессируется в ткани ПЖ исключительно базальным слоем эпителия и играет, как предполагается, важную роль в его формировании. При этом цитокератин относится к маркерам степени зрелости опухолевых клеток и служит универсальным маркером

эпителиальных тканей. При РПЖ экспрессия p63 значительно снижается. Нами также при исследовании высокомолекулярного цитокератина (клон 34bE12) и p63 была показана минимальная его активность или отсутствующая его экспрессия.

Простатспецифический антиген (PSA) кодируется геном, расположенным в длинном плече 19 хромосомы и синтезируется секреторным эпителием ПЖ при участии дигидростерона. PSA относится к гликопротеинам. По функции PSA является протеолитическим ферментом, относящимся к семейству калликреинов. Основным субстратом для PSA являются белки, содержащиеся в эякуляте и обуславливающие гелеобразную консистенцию последнего. PSA расщепляет эти белки и способствует разжижению спермы, что, в свою очередь, благоприятно сказывается на подвижности сперматозоидов. PSA находится в сыворотке крови в свободном и связанном с белками состоянии. PSA локализуется в цитоплазме неопухолевых glandулярных клеток, расположенных во всех зонах ПЖ. Снижение или отсутствие экспрессии PSA констатируется при низкодифференцированном раке. При некоторых аденокарциномах экспрессия PSA исчезает после проведения гормонотерапии или лучевой терапии. Нами показано, что в строме среди желез имелись разрастания округлых, овальных, угловатых ацинарных структур, образованных однорядным светлым эпителием с экспрессией PSA.

Для оценки биологической агрессивности опухоли используются иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67 (пролиферативная активность). Он относится ко второй группе иммуногистохимических маркеров. Ген, кодирующий Ki-67, расположен на длинном плече 10 хромосомы. Ki-67 относится к регуляторным белкам. Его появление совпадает с вступлением клетки в митоз, что позволяет использовать его в качестве универсального маркера пролиферации при оценке роста злокачественных опухолей, в том числе РПЖ. Индекс Ki-67 является независимым показателем прогноза рецидива и выживаемости у больных РПЖ. Существует прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией РПЖ. Целесообразность использования Ki-67 показана и в нашем исследовании. Это группа иммуногистохимических маркеров прогрессии опухоли. Индекс Ki-67 является независимым показателем прогноза рецидива и выживаемости у больных РПЖ. Существует прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией РПЖ.

Нами показано, что количество Ki67+ клеток в опухолях преимущественно 1–2%. Одним из маркеров канцерогенеза, наиболее диагностически значимым в последнее время в материале ПЖ является P504S. Нами показана его слабая экспрессия в карциномах.

Таким образом, вышеизложенное позволяет говорить о том, что применение новых, инновационных методов исследования расширяет границы для изучения патогенеза РПЖ с целью дальнейшего применения в клинике.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Дифференциально-диагностическое значение изменения плоидности ядер эпителиальных клеток предстательной железы в процессе канцерогенеза // Урология. – 2002. – № 3. – С. 8–11.
2. Аксель Е.М. Рак предстательной железы. – М., 2002. – С. 11–20.
3. Аляев Ю.Г., Безруков Е.А., Шестиперов П.А. Молекулярная патология рака предстательной железы: диагностическая и прогностическая значимость основных маркеров // Онкоурология. – 2006. – № 2. – С. 45–50.
4. Алфимов А.Е. Критерии прогнозирования эффективности максимальной андрогенной блокады при терапии распространенного рака предстательной железы: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – 122 с.
5. Аль-Шукри С.К. Опухоли мочеполовых органов: рук. для врачей / С.К. Аль-Шукри, В.Н. Ткачук. – СПб.: Питер, 2000. – 320 с.
6. Качество жизни больных локализованным раком простаты / Ю.Г. Аляев, Е.А. Безруков, Г.Е. Крупинов, Ю.Л. Демидко, П.А. Шестиперов // Врач. – 2007. – №5. – С. 34–36.
7. Алферова М.А. Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях): учебное пособие / М.А. Алферова, И.М. Михалевич, Р.Ю. Рожкова. – Иркутск: ИГИУВ, 2003. – Вып. 1. – 71 с.

References

1. Avtandilov G.G. *Urologija*–Urology, 2002, no 3, pp. 8–11.
2. Aksel' E.M. *Rak predstatel'noj zhelezy* [Prostate Cancer], Moscow, Medicine, 2002, pp. 11–20.
3. Aljaev Ju.G., Bezrukov E.A., Shestiperov P.A. *Onkourologija* – Oncourology, 2006, no 2, pp. 45–50.
4. Alfimov A.E. *Kriterii prognozirovaniya jeffektivnosti maksimal'noj androgennoj blokady pri terapii rasprostranennogo raka predstatel'noj zhelezy: dis. kand. med. nauk.* [Criteria for predicting the effectiveness of maximum androgen blockade for treatment of advanced prostate cancer: thesis of PhD on medical sciences], Moscow, 2002, 122 p.
5. Al'-Shukri S.K., Tkachuk V.N. *Opuholi mochepolovyyh organov: Ruk. dlja vrachej* [Tumors of the urinary tract: a guide for the doctors], St. Petersburg, Piter, 2000, 320 p.
6. Aljaev Ju.G., Bezrukov E.A., Krupinov G.E., Demidko Ju.L., Shestiperov P.A. *Vrach – Doctor*, 2007, no 5, pp. 34–36.
7. Alferova M.A., Mihalevich I.M., Rozhkova R.Ju. *Osnovy prikladnoj statistiki (ispol'zovanie Excel i Statistica v medicinskih issledovaniyah): Uchebnoe posobie* [Fundamentals of Applied Statistics (using «Excel» and «Statistics» for medical research): Textbook], Irkutsk: ISIPM, 2003, 71 p.

Рецензенты:

Чефранова Ж.Ю., д.м.н., профессор, заведующая неврологическим отделением БОКБ Св. Иоасафа, г. Белгород;

Луценко В.Д., д.м.н., профессор, главный врач МУЗ «Городская больница №2», г. Белгород.

Работа поступила в редакцию 27.02.2012.

УДК 614.71/.73 + 616.1/.8

ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО ВЛИЯНИЯ АЭРОТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ

Петров С.Б., Петров Б.А.

ГБОУ ВПО «Кировская ГМА» Минздрава России, Киров, e-mail: sbpetrov@mail.ru

В работе приведены материалы исследования по оценке комплексного влияния аэротехногенных загрязнителей городской среды на заболеваемость населения г. Кирова. Методом выделения главных компонент определены 3 фактора, объясняющие 81 % полной дисперсии переменных (55, 17 и 9 % соответственно). Нагрузка на каждый выделенный фактор отличается по составу химических загрязнителей атмосферного воздуха. Так, прямая и сильная корреляционная связь фактора № 1 установлена с концентрациями в атмосферном воздухе взвешенных веществ, оксидов серы и азота, этилбензола и формальдегида, фактора № 2 с концентрациями оксида углерода, бензола и толуола, фактора № 3 с атмосферной концентрацией фенола. Выделенные факторы неравнозначным образом влияют на заболеваемость населения. Так, доминирующий характер влияния на уровень распространенности заболеваний установлен с фактором, объясняющим наибольший процент дисперсии и ассоциированным с взвешенными веществами, оксидами азота, серы и углерода, рядом ароматических углеводородов, формальдегидом.

Ключевые слова: атмосферный воздух городской среды, химические загрязнители, взрослое и детское население, заболеваемость, факторный анализ

ESTIMATION OF COMPLEX INFLUENCE OF AEROTECHNOGENIC POLLUTANTS OF THE CITY ENVIRONMENT ON THE POPULATION MORBIDITY

Petrov S.B., Petrov B.A.

Kirov state medical academy, Kirov, e-mail: sbpetrov@mail.ru

In work materials of research are resulted according to complex influence of aerotechnogenic pollutants of the city environment on disease of the population of Kirov. The factor analysis of allocation of the principal components defines 3 factors explaining 81 % of the full dispersion of variables (55, 17 and 9 % accordingly). Loading on each allocated factor differs on structure of aerial chemical pollutants. So, direct and strong correlative communication of the factor № 1 is established with concentration in free air of airborne matters, sulphur and nitrogen oxides, ethyl benzene and formaldehyde, the factor № 2 with concentration of white damp, benzene and toluene, the factor № 3 with atmospheric concentration of phenol. Dominating character of influence on prevalence level of morbidity the factor explaining the greatest percent of a dispersion and associated with is airborne matters, oxides of nitrogen, sulphur and carbon, by a number of aromatic hydrocarbons, formaldehyde is established.

Keywords: atmospheric air of the city environment, chemical pollutants, adult and children's population, morbidity, factor analysis

В структуре экологических факторов городской среды большой удельный вес принадлежит аэротехногенным загрязнителям, источниками которых являются промышленные предприятия, энергетические объекты, транспорт. По оценкам экспертов ВОЗ, загрязнение атмосферного воздуха, по сравнению с другими факторами окружающей среды, представляет наибольшую опасность для здоровья населения [5].

Целью настоящего эколого-эпидемиологического исследования являлось изучение влияния промышленно-транспортных выбросов на распространенность заболеваний среди городского населения. В задачи исследования входили оценка уровней загрязненности атмосферного воздуха вредными химическими веществами, проведение статистического анализа распространенности заболеваний среди взрослого и детского населения с установлением причинно-следственных связей с выделенными группами аэротехногенных загрязнителей (факторами).

Материал и методы исследования

Исследование проведено на территории г. Кирова, одного из крупных промышленных городов северо-востока Европейской части РФ. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха городской территории являются предприятия теплоэнергетики и цветной металлургии, машиностроительной и нефтехимической промышленности, автотранспорт.

Оценка уровней загрязненности атмосферного воздуха проведена путем анализа данных территориального мониторинга. Было проанализировано более 2000 проб атмосферного воздуха на содержание взвешенных веществ, оксидов серы, азота и углерода, фенола, формальдегида, ароматических углеводородов, бензпирена. Для характеристики качества атмосферного воздуха городской среды были рассчитаны коэффициент комплексного загрязнения атмосферного воздуха (K^*), относительный уровень загрязнения атмосферного воздуха за счет автотранспорта [2, 3].

Заболеваемость взрослого и детского населения изучалась путем анализа данных учета всех случаев обращений за медицинской помощью в городские учреждения здравоохранения (ф. № 12).

Для оценки нормальности распределений применялся тест Шапиро-Вилка, который не выявил

статистически значимых отличий распределений изучаемых показателей от нормального распределения, что позволило применить в статистическом анализе параметрические методы. Для характеристики влияния азротехногенных загрязнителей городской среды на заболеваемость населения был применен факторный анализ методом выделения главных компонент, вращением по типу «варимакс» с нормализацией Кайзера. Оценка силы, направления и статистической значимости связей между изучаемыми показателями выполнена методом корреляционного анализа по

Пирсону. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программы SPSS for Windows, версия 18 [1, 6].

Результаты исследования и их обсуждение

Метод выделения главных компонент позволил определить 3 фактора, объясняющие 81 % полной дисперсии переменных – 55, 17 и 9 % соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Факторные нагрузки на выделенные компоненты

Контролируемые загрязнители атмосферного воздуха	Факторы (компоненты)		
	№ 1	№ 2	№ 3
	% дисперсии: 55 %	% дисперсии: 17 %	% дисперсии: 9 %
Сера диоксид	0,87	-	-
Взвешенные вещества	0,87	-	-
Азота оксид	0,82	-	-
Азота диоксид	0,81	-	-
Этилбензол	0,74	0,47	-
Формальдегид	0,73	0,49	-
Ксилол	0,63	0,36	-
Бензол	-	0,92	-
Толуол	0,29	0,76	0,44
Углерода оксид	0,60	0,73	-
Фенол	-	0,30	0,92
Бензпирен	0,40	0,23	-

Из представленных в табл. 1 величин факторной нагрузки переменных на выделенные компоненты (выраженных в виде коэффициентов корреляции Пирсона) видно, что с фактором № 1 наибольшую корреляцию имеют концентрации в атмосферном воздухе взвешенных веществ, оксидов серы и азота. Следует отметить, что концентрации перечисленных веществ коррелируют только с данным фактором. Несколько меньшее значение коэффициента корреляции наблюдается у этилбензола и формальдегида, однако, и здесь связь сильная и прямая. В меньшей степени нагрузка на фактор № 1 выражена у атмосферных концентраций ксилола, оксида углерода и бензпирена (прямая средней силы связь).

Наибольшую нагрузку на фактор № 2 оказывают концентрации в атмосферном воздухе ароматических углеводородов –

бензола и толуола, оксида углерода (сильная прямая корреляционная зависимость). Атмосферная концентрация бензола коррелирует только с данным фактором и имеет здесь максимальное значение. В меньшей степени с фактором № 2 коррелируют другие ароматические углеводороды – ксилол и этилбензол, формальдегид (прямая средней силы связь). Фактор № 3 имеет сильную прямую корреляционную связь с атмосферной концентрацией фенола и связь средней силы – с концентрацией толуола.

Таким образом, выделенные компоненты отличаются по составу веществ, оказывающих нагрузку на каждый фактор.

В табл. 2 представлены связи выявленных факторов с показателями, характеризующими качество атмосферного воздуха городской среды.

Таблица 2

Связь выявленных факторов с показателями качества атмосферного воздуха
городской территории

Показатели качества атмосферного воздуха	Фактор № 1	Фактор № 2	Фактор № 3
Коэффициент комплексного загрязнения атмосферного воздуха (K [*])	0,72*	0,42*	0,13
Относительный уровень загрязнения атмосферного воздуха за счет автотранспорта	0,53*	0,65*	0,18

Примечание. * уровень значимости коэффициента корреляции $p < 0,05$.

Как видно из данной табл. 2, фактор № 1, в котором преобладают пыле-газовый компонент и ряд углеводородов, имеет сильную прямую корреляционную связь с показателем комплексного загрязнения атмосферного воздуха и связь средней силы с показателем загрязнения атмосферного воздуха за счет автотранспорта. Напротив, фактор № 2 (бензол и другие ароматические углеводороды, оксид углерода) в большей степени связан с уровнем загрязнения за счет выбросов автотранспорта, чем с комплексным загрязнением атмосферного воздуха. Между фактором № 3 (фенол) и показателями загрязнения атмосферного воздуха статистически значимая корреляционная связь не выявлена.

Исходя из анализа связей между выявленными факторами и показателями, отражающими качество атмосферного воздуха, можно сделать вывод, что фактор № 1 яв-

ляется более универсальным, характерным для комплексного загрязнения атмосферного воздуха, основными источниками которого в городской среде являются выбросы предприятий теплоэнергетики и автотранспорта. Фактор № 2 более специфичен для загрязнения атмосферного воздуха за счет автотранспорта. Фактор № 3, отражающий выбросы фенола в атмосферный воздух, вносит незначительный вклад в уровень загрязнения атмосферного воздуха, что можно объяснить отсутствием на исследуемой территории крупных источников поступления данного химического вещества в окружающую среду (химическое производство и предприятия, производящие полимеры).

В табл. 3 представлено влияние выделенных факторов на уровень распространенности заболеваний среди взрослого населения по отдельным классам болезней.

Таблица 3

Влияние выделенных факторов на уровень распространенности заболеваний среди взрослого населения

Класс болезней	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Новообразования	0,67*	0,36*	0,21
Болезни крови	0,53*	0,07	0,10*
Болезни эндокринной системы	0,56*	0,19	0,16*
Болезни нервной системы	0,27	0,66*	0,30
Болезни глаза	0,39*	0,58*	0,27
Болезни уха и сосцевидного отростка	0,31	0,48*	0,72*
Болезни системы кровообращения	0,70*	0,53*	0,09
Болезни органов дыхания	0,65*	0,48*	0,09
Болезни органов пищеварения	0,73*	0,14	0,20
Болезни кожи	0,68*	0,33	0,22
Болезни костно-мышечной системы	0,21	0,02	0,11
Болезни мочеполовой системы	0,74*	0,36	0,22
Общий уровень	0,76*	0,37*	0,22

Пр и м е ч а н и е . * уровень значимости коэффициента корреляции $p < 0,05$.

Как видно из данной табл. 3, на общий уровень заболеваемости у взрослых в наибольшей степени влияет фактор № 1, несколько меньшее влияние оказывает фактор № 2. Фактор № 3 не имеет статистически значимой связи с общим уровнем заболеваемости. По отдельным классам болезней фактор № 1 можно ассоциировать с новообразованиями, болезнями крови, эндокринной системы, системы кровообращения, органов дыхания, органов пищеварения, кожи и подкожной клетчатки, мочеполовой системы. В меньшей степени фактор № 1 оказывает влияние на болезни глаза и его придаточного аппарата. Значения фактора № 2 имеют наибольшую корреляцию

с уровнями распространенности болезней глаза и его придаточного аппарата, нервной системы. Причем болезни нервной системы статистически значимо коррелируют только с фактором № 2. Наблюдается сочетанное влияние факторов № 1 и № 2 на распространенность новообразований, болезней глаза и его придаточного аппарата, системы кровообращения, органов дыхания. Фактор № 3 имеет статистически значимую сильную прямую корреляционную связь только с болезнями уха и сосцевидного отростка.

В табл. 4 представлено влияние выделенных факторов на уровень распространенности заболеваний среди детского населения.

Таблица 4

Влияние выделенных факторов на уровень распространенности заболеваний среди детского населения

Класс болезней	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Новообразования	0,65*	0,12	0,15
Болезни крови	0,20	0,14	0,20
Болезни эндокринной системы	0,20	0,67*	0,32
Болезни нервной системы	0,28	0,27	0,09
Болезни глаза	0,49*	0,50*	0,60*
Болезни уха и сосцевидного отростка	0,58*	0,39*	0,43*
Болезни системы кровообращения	0,21	0,30	0,17
Болезни органов дыхания	0,72*	0,10	0,20
Болезни органов пищеварения	0,69*	0,10	0,22
Болезни кожи	0,67*	0,67*	0,14
Болезни костно-мышечной системы	0,26	0,25	0,18
Болезни мочеполовой системы	0,75*	0,24	0,11
Отдельные состояния в перинатальном периоде	0,75*	0,21	0,25
Общий уровень	0,70*	0,51*	0,17

Пр и м е ч а н и е . * уровень значимости коэффициента корреляции $p < 0,05$.

Как видно из данной таблицы, наибольшее влияние на общий уровень заболеваемости детского населения оказывает фактор № 1. Фактор № 1 имеет сильную прямую корреляционную связь с уровнями заболеваемости болезнями органов дыхания и мочеполовой системы, прямую корреляционную связь средней силы с новообразованиями, болезнями глаза и его придаточного аппарата, уха и сосцевидного отростка, органов пищеварения, кожи и подкожной клетчатки. Фактор № 2 характеризует прямую корреляционную связь средней силы с болезнями эндокринной системы, глаза и его придаточного аппарата, уха и сосцевидного отростка, кожи и подкожной клетчатки. Фактор № 3 оказывает влияние на болезни глаза и его придаточного аппарата, уха и сосцевидного отростка. Наблюдается сочетанное влияние выделенных факторов на распространенность болезней глаза и его придаточного аппарата, уха и сосцевидного отростка.

Результаты анализа свидетельствуют о различном характере влияния факторов на заболеваемость взрослого и детского населения. Так, у взрослых в основном преобладает влияние фактора № 1 и в меньшей степени № 2, у детей влияние выделенных факторов более сбалансировано. Это можно объяснить большей чувствительностью детского организма к воздействию химических загрязнителей атмосферного воздуха.

Выделенные факторы неравнозначным образом влияют на заболеваемость населения. Так, доминирующий характер влияния

на уровень распространенности заболеваний установлен с фактором № 1, ассоциированного с взвешенными веществами, оксидами азота, серы и углерода, рядом углеводородов и бензпиреном. Вероятно, одной из причин сильного влияния данного фактора является выраженная способность взвешенных веществ сорбировать токсичные газообразные соединения с образованием пылегазовых композиций, биологическое действие которых характеризуется усилением токсичности, активизацией формирования иммунопатологических процессов, снижением уровня антиоксидантной защиты [4].

Таким образом, по результатам исследования были определены приоритетные загрязнители атмосферного воздуха городской среды и наиболее информативные показатели заболеваемости населения, что нашло свое практическое применение при проведении медико-экологического мониторинга на территории г. Кирова.

Список литературы

1. Крыштановский А.О. Анализ социологических данных с помощью пакета SPSS. – М.: Изд-во: ГУ ВШЭ, Высшей школы экономики. Издательский дом. – 2006. – 283 с.
2. Методика определения выбросов автотранспорта для проведения сводных расчетов загрязнения атмосферы городов. – М.: Госкомэкологии России, 1999. – 18 с.
3. Пенчева П.К. Критерии комплексной оценки загрязнения атмосферы // Гигиена и санитария. – 1982. – №1. – С. 74–76.
4. Исследование биологического действия летучей золы в составе пылегазовой смеси / С.Б. Петров, Б.А. Петров, П.И. Цапков, Т.И. Шешунова // Экология человека. – 2009. – № 12. – С. 13–16

5. Актуальные проблемы комплексной гигиенической характеристики факторов городской среды и их воздействия на здоровье населения / Ю.А. Рахманин, С.И. Иванов, С.М. Новиков, Ю.А. Ревазова, Н.В. Русаков // Гигиена и санитария. – 2007. – № 5. – С. 5–7.

6. Халафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований // Ростов н/Д., 2008. – 320 с.

References

1. Kryshtanovskii A.O. Analiz sotsiologicheskikh dannykh s pomoshchyu paceta SPSS [The analysis of the sociological data by means of package SPSS] Isdatelstvo: GU VSHE, Vysshei shkoly ekonomiki isdatelskii dom. 2006. 283 p. [in Russian]

2. Metodika opredeleniya vybrosov avtotransporta dlya provedeniya svodnykh raschetov sagryazneniya atmsfery gorodov [Technique of definition of emissions of motor transport for carrying out of summary calculations of pollution of atmosphere of cities] M.: Goskomekologiya Rossii. 1999. 18 p.

3. Pencheva P.K. Kriterii kompleksnoi otsenki zagryazneniya atmosfery [Criteria of a complex estimation of pollution of atmosphere] Gigiena i sanitariya. 1982. no. 1. pp. 74–76.

4. Petrov S.B., Petrov B.A., Tsapok P.I., Sheshunova T.I. Issledovanie biologicheskogo deistviya letuchei zoly v sostave pylegazovoi smesi [Research of biological action flying ashes in structure of dust-gas mixture] Ekologiya cheloveka. 2009. no. 12. pp. 13–16.

5. Rakhmanin Yu.A., Ivanov S.I., Novikov S.M., Revazova Yu.A., Rusakov N.V. Aktual'nye problemy kompleksnoi gigienicheskoi kharakteristiki faktorov gorodskoi sredy i ikh vozdeistviya na zdorov'e naseleniya [Actual problems of the complex hygienic characteristic of factors of the city environment and their influence on population health] Gigiena i sanitariya. 2007. no. 5. pp. 5–7.

6. Khalafyan A.A. Sovremennye statisticheskie metody meditsinskikh issledovaniy [The modern statistical methods of medical researches] Rostov-na-Donu, 2008. 320 p.

Рецензенты:

Шардаков В.И., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории иммунологии лейкозов ФГУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального Медико-биологического агентства России, г. Киров;

Костяев А.А., д.м.н., доцент, руководитель лаборатории консервирования крови и тканей ФГУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального Медико-биологического агентства России, г. Киров.

Работа поступила в редакцию 26.03.2012.

УДК 611.3.018.025:612.017

РОЛЬ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СИСТЕМЕ МЕСТНОГО ИММУНОФАГОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ПАРОДОНТА У ДЕТЕЙ

Рева Г.В., Русакова Е.Ю., Толмачёв В.Е., Первов Ю.Ю., Разумов П.В.,
Игнатенко К.А., Голенкова Н.А., Погорелый В.В., Игнатьев С.В.,
Денисенко Ю.В., Рева И.В.

ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»,
Владивосток, e-mail: vgmu.ru

Изучена возрастная динамика тучных клеток в системе пародонта у детей. Проведён иммуногистохимический мониторинг тканевых базофилов при патологии пародонта и на фоне применения иммуномодулирующих препаратов. Установлено, что иммуномодулирующие препараты способствуют снижению количества активных тканевых базофилов и ускоряют процессы репаративной регенерации структур пародонта после удаления зубов. Сделан вывод об индуцирующем влиянии иммуномодуляторов на репаративные процессы в пародонте в условиях воспалительных процессов через механизмы снижения проницаемости основного вещества соединительной ткани и усиления синтетических процессов.

Ключевые слова: тучные клетки, иммунциты, пародонт

THE ROLE OF MAST CELLS IN THE SYSTEM OF THE LOCAL IMMUNE AND PHAGOCYTIC PART OF CHILDREN'S PERIODONTIUM

Reva G.V., Rusakova E.Y., Tolmachev V.E., Pervov Y.Y., Razumov P.V., Ignatenko K.A.,
Golenkova N.A., Pogoreliy V.V., Ignatiev S.V., Denicenko J.V., Reva I.V.

Vladivostok State Medical University, Vladivostok, e-mail: vgmu.ru

Must cells age dynamics of children's periodont was studied. Immuno- histochemical monitoring of tissue basophilic leukocytes in the case of periodontium pathology and against the background of immunomodulatory drugs usage was held. It was determined that immunomodulatory drugs were able to promote the decrease of the active tissue basophilic leukocytes number and to accelerate reparative regeneration processes of periodontium structures after teeth removal. It was concluded that immunomodulatory drugs had inductive influence on periodontium reparative processes in the conditions of inflammation through the decrease of basal substance permeability and synthetic processes intensification.

Keywords: labrocytes, immunocytes, periodontium

Многолетние наблюдения за больными с поражениями зубов, которые встречаются в детском возрасте, такими, как периодонтит, свидетельствуют о высокой актуальности исследований, ведущихся в направлении поисков ключевого морфологического субстрата, являющегося ведущим в развитии различных патологических процессов в полости рта [1, 9]. Одним из важнейших механизмов, обеспечивающих все этапы перестройки пародонта в онтогенезе человека, является гомеостаз в системе иммунофагоцитарного звена. Несмотря на многочисленность работ, посвящённых изучению тучных клеток в различных тканях и органах [2, 5, 12], их роль в патологии пародонта окончательно не выяснена, отсутствуют данные системных наблюдений тучных клеток в тканях пародонта в условиях физиологической и репаративной регенерации, алгоритм их количественных и качественных изменений на фоне применения иммуномодулирующих препаратов.

Целью нашего исследования является совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики стоматологиче-

ских заболеваний у детей. В связи с этим в работе решались следующие задачи:

- изучить структуру стоматологической заболеваемости у детей Приморского края;
- изучить роль тучных клеток в системе иммунофагоцитарного звена пародонта детей;
- провести анализ применения различных иммуномодулирующих лекарственных средств в лечении стоматологической патологии у детей;
- разработать алгоритм патогенетически обоснованного лечения и профилактики стоматологической патологии у детей с учётом иммунного гомеостаза пародонта в различных возрастных группах.

Материалы и методы исследования

Клиническая характеристика материала

Обследованы 360 детей Приморского края, проживающих в сельской и городской местности. В комплекс исследования входили методы: эпидемиологический, статистический, лабораторный, анкетирование. Осмотры и лечебные мероприятия проводились в условиях школьных стоматологических и медицинских кабинетов с использованием стерильных наборов пародонтальных зондов и стоматологических зеркал. По клиническим показани-

ям удаление зубов проведено у 117 детей. Одновременно с экстирпацией производили забор биоптатов пародонта размерами 0,3×0,3 мм. В случаях с предшествующими экстирпацией зубов воспалительными процессами в периодонте применяли иммуномодулирующий препарат имудон. Учитывали детей сельской местности и городской. Распределение детей также провели по возрастным группам, рекомендованным ВОЗ (2009).

С целью определения фенотипа иммунокомпетентных клеток методом иммунной гистохимии биоптаты фиксировали в 10%-v формалине на фосфатном буфере pH 6,8–7,2 в течение 24 часов. Затем промывали в проточной воде в течение 2-х часов и обезживляли в спиртах возрастающей концентрации в течение 1 часа в каждой порции спирта. В спирте 96 градусов выдерживали в течение 1, 2-х, 1 часа и 4-х часов, а затем помещали в абсолютный спирт 5 раз по 30 минут и оставляли в последней порции абсолютного спирта на ночь. После этого материал погружали в смесь абсолютного спирта и ксилола в соотношении 1:1 на 0,5 часа, а затем проводили в 3 сменах ксилола в термостате при 37 градусах по 0,5 часа в каждой. Затем использовали смесь ксилол/парафин (1:1) при 56 градусах по 20 минут в 2-х порциях, а затем в 2-х порциях парафина при 56 градусах в течение 1 часа в обеих порциях. После этого производили заливку. Парафиновые блоки выдерживали в течение суток в термостате при температуре 37 градусов, а затем приготавливали срезы. Срезы и вся дальнейшая обработка материала (депарафинирование и обезживание) производились на автоматизированной аппаратуре лаборатории патоморфологии Медицинского университета Ниигаты (Япония), дающей высокую чувствительность к маркировке, En Vision -системе. Тучные клетки на срезах определяли с помощью классического метода окрашивания метиленовой синью и выявляли с помощью маркера CD204 фирмы DAKO.

Подсчёт клеток производили в 100 полях зрения в 60 срезах. При этом подсчитывали общее количество иммуноцитов в поле зрения и анализировали степень их окрашивания.

Фон и неспецифическое окрашивание исключали, строго соблюдая условия окрашивания – температуру, pH, время. Для блокирования неспецифического окрашивания срезы в течение 20 минут инкубировали с неиммунной сывороткой, а уже затем инкубировали с первичными антителами. Для контроля и исключения артефактов при выполнении исследований, часть препаратов обрабатывали дважды только не иммунной сывороткой.

Все статистические данные получены с помощью компьютерного программного обеспечения микроскопа Olympus BX51и цифровой камеры CD25 фирмы Olympus.

Результаты исследования и их обсуждение

Макроскопические анатомические исследования и микроскопическое изучение периодонта приводят к мнению о важной роли его структур в поддержании гомеостаза пародонта. Поэтому полученные в исследовании результаты дают более глубокие представления о структуре, физиоло-

гической регенерации, физиологии и роли пародонта в нормальном функционировании. Как и другими исследователями, нами установлено, что периодонт представлен особым видом соединительной ткани, состоящей из клеток и коллагенового волокнистого остова, окружённого аморфным основным веществом. Во все периоды онтогенеза человека формирующий периодонт человека участвует в трофическом обеспечении метаболических потребностей зубов. Изменение клеточных взаимодействий в системе периодонта – процесс, обеспечивающий регенераторные процессы, как физиологические, так и репаративные [3]. Одним из важнейших механизмов, обеспечивающих все этапы перестройки периодонта в онтогенезе человека, является гомеостаз в системе взаимодействий иммунофагоцитарного звена. Деструкция и инволюция периодонта, нарушение межклеточных взаимодействий в системе периодонта, является одним из пусковых механизмов патологии зубочелюстного аппарата. Иммуномоделирование в механизмах репаративной регенерации периодонта является одним из основных в регуляции взаимоотношений структур пародонта.

Нами установлено, что при удалении зуба альтерация слизистой оболочки сопровождается отёком и выраженной инфильтрацией клеток крови в соединительную ткань пародонта (рис. 1).

Отмечено, что в повреждённую ткань после экстирпации зубов мигрирует большое количество базофилов, идентифицируются тучные клетки (рис. 2).

Дополнительное подтверждение наличия миграции в повреждённую ткань тучных клеток мы получили с помощью метода маркировки CD 204 клеток иммунофагоцитарного звена, соответствующих тучным клеткам (рис. 3).

Тучные клетки периодонта, благодаря наличию в них биогенных аминов, представляют мощное звено, определяющее развитие и регуляцию гомеостатических и компенсаторных механизмов при травме и инфекциях периодонта.

Как и другими авторами, нами отмечено, что коэффициент дегрануляции и коэффициент функциональной напряжённости тканевых базофилов в сосудистой и межсосудистой областях периодонта являются критерием устойчивости системы тучных клеток к действию стрессорного фактора [4, 6]. Критический период их активности отмечается через 20–30 минут после травмы, лабильность системы – через 2–3 часа, истощение компенсаторных механизмов отмечается через сутки после травмы.

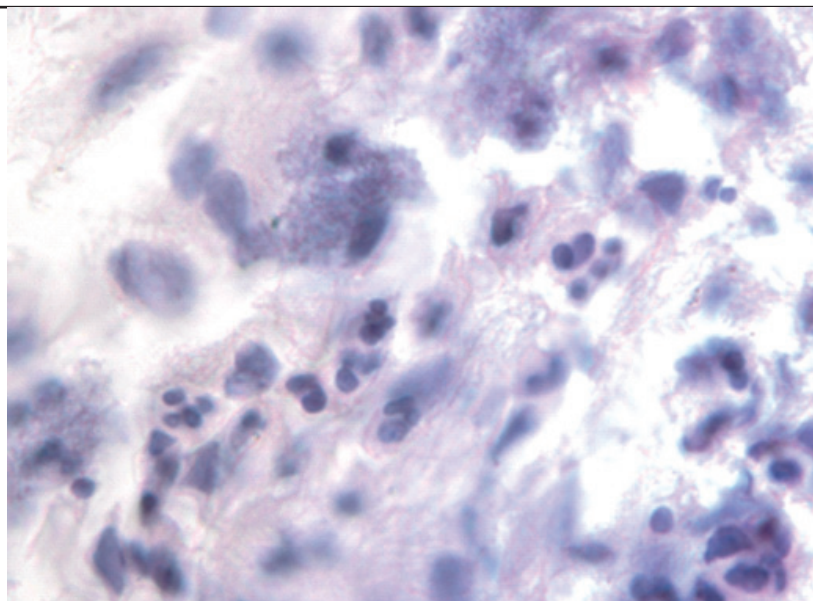


Рис. 1. Инфильтрация клеток крови в соединительную ткань пародонта. Микрофото. Ув. X 200. Окраска г/э. Идентифицируются лейкоциты

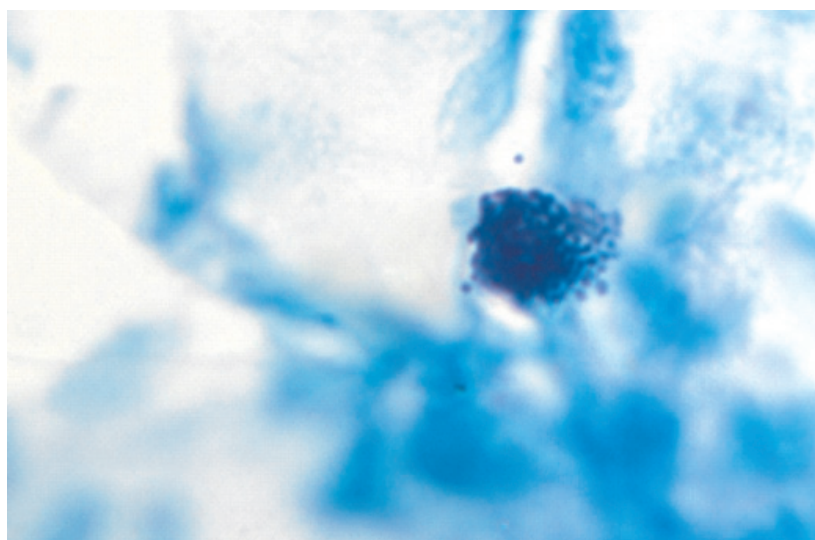


Рис. 2. Тучная клетка в пародонте. Микрофото. Ув. X 400. Окр. метиленовым синим

В процессе патологического процесса в периодонте первоначально происходит активное перераспределение крови, которое определяет защитные гомеостатические механизмы, осуществляемые, в том числе, тучными клетками. Наименьшая устойчивость к действию повреждающего фактора отмечается в зоне верхушки корня зуба, наиболее устойчивой является область периодонта второй трети корня зуба.

Результаты биохимического анализа содержания биогенных аминов в крови человека определяют степень устойчивости к действию стрессирующего фактора. Высокий коэффициент отношения катехола-

минов к серотонину является показателем устойчивости клеточных взаимодействий при развитии патологических реакций в системе пародонта и определяет, в конечном итоге, прогноз в течение патологического процесса с вовлечением тучных клеток [10].

Параллельное определение уровня биогенных аминов в крови детей, имеющих патологический процесс в периодонте, является важнейшим показателем степени нарушения периодонтального кровообращения и фактором, определяющим назначение патогенетически обусловленного лечения лекарственными препаратами.

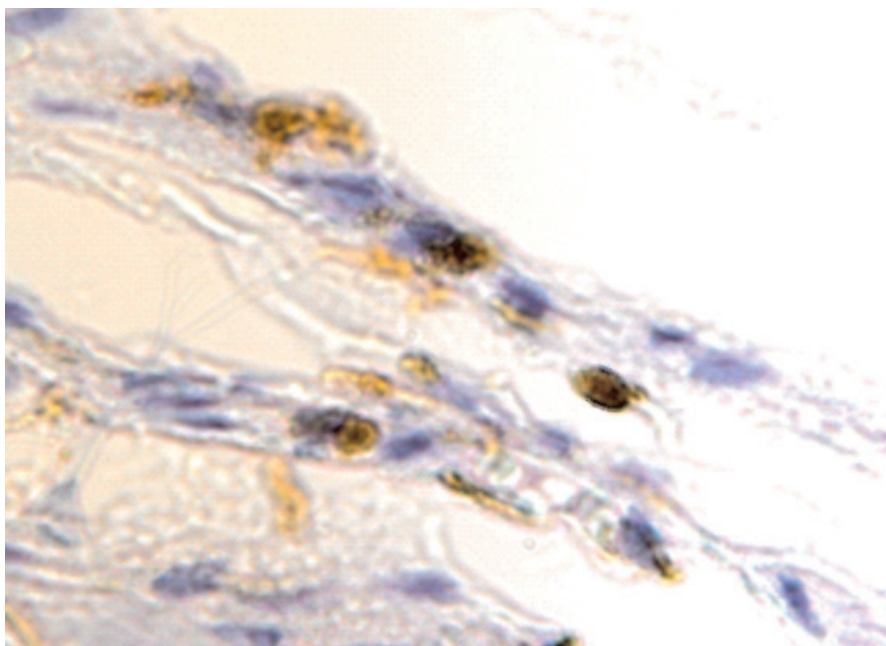


Рис. 3. Тучные клетки в пародонте. Микрофото. Ув. X 400. Окр. ИГХ

Ранняя коррекция в системе тканевых базофилов, осуществляемая через биогенные моноамины, может быть одним из основных факторов, определяющих исход травматических и инфекционных поражений пародонта, как и других структур организма [8]. В молочных и несформированных постоянных зубах заболевание часто протекает с закрытой полостью зуба и при неглубокой кариозной полости. Также особенностью периодонтита у детей является преобладание гранулирующей формы хронического периодонтита, при этом часто наблюдается патологическая резорбция корней этих зубов. Нами отмечено, что гранулирующая форма периодонтита у маленьких детей сопровождается образованием свища на десне чаще, чем у подростков и взрослых. Отмечается довольно частое разрежение кости в области бифуркации корней, превышающее таковое у верхушки корня на фоне периодонтита.

Нами установлено, что у детей, получивших до экстирпации зуба препараты иммуномоделирующего действия (имудон и др.), имеют повышенные количественные показатели тучных клеток в тканях пародонта, клинически нами установлено более быстрое завершение репаративной регенерации. Это может быть связано с тем, что тучные клетки, выделяя специфические цитокины для привлечения макрофагов, вызывают ускорение процессов фагоцитоза повреждённых тканей [1, 4]. Одновременно они, выделяя медиаторы гистамин и гепа-

рин, изменяющие проницаемость стенки сосудов и межклеточного вещества структур пародонта, способствуют усиленной миграции антиген представляющих и фагоцитирующих иммунцитов в зону альтерации [7, 12].

Полученные результаты свидетельствуют о важности применения иммуномодулирующих препаратов у детей с патологией пародонта вне зависимости от необходимости проведения экстирпации зубов, как влияющих через тучные клетки на систему клеток иммунофагоцитарного звена и ускоряющих репаративную регенерацию.

Список литературы

1. Роль тучных клеток слизистой оболочки десны в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / Ю.Л. Осипова, Н.В. Булкина, А.Ю. Кропотина, Н.А. Хариш, О.Ю. Гусева, Ю.Н. Альбицкая // Успехи современного естествознания. – 2009. – № 7 – С. 55–56.
2. Tissue eosinophilia in a mouse model of colitis is highly dependent on TLR2 and independent of mast cells / E.J. Albert, J. Duplisea, W. Dawicki, I.D. Haidl, J.S Marshall // Am J Pathol.. Am J Pathol. – 2011, Jan. – №178(1). – С. 150–60.
3. Galli, S.J., Maurer M., Lantz, C.S. Mast cells as sentinels of innate immunity // Curr. Opin. Immunol. – 1999. – №11. – С. 53–59.
4. Galli, S.J., Nakae, S., Tsai, M. Mast cells in the development of adaptive immune response // Nat. Immunol. – 2005. – №6. – С. 135–142.
5. The significant role of mast cells in cancer / K. Khazaie, N.R. Blatner, M.W. Khan, F. Gounari, E. Gounaris, K. Dennis, A. Bonertz, F.N. Tsai, M.J. Strouch, E. Cheon et al. // Cancer Metastasis Rev. 2011 Mar; 30(1):45–60.
6. Marie Fischer^{1,2}, Ilkka T. Harvima³, Ricardo F.S. Carvalho¹, Christine Möller¹, Anita Naukkarinen⁴, Gunilla Enblad² and Gunnar Nilsson. Mast cell CD30 ligand is upregulated in

cutaneous inflammation and mediates degranulation-independent chemokine secretion // *J Clin Invest.* – 2006. – №116(10). – C. 2748–2756.

7. Mast cell-derived TNF contributes to airway hyperactivity, inflammation, and TH2 cytokine production in an asthma model in mice / S. Nakae, L.H. Ho, M. Yu, R. Monteforte, M. Iikura, H. Suto, S.J. Galli // *Allergy Clin Immunol.* – 2007 Jul. – №120(1). – C. 48–55.

8. A critical role for mast cells and mast cell-derived IL-6 in TLR2-mediated inhibition of tumor growth / S.A. Oldford, I.D. Haidl, M.A. Howatt, C.A. Leiva, B. Johnston, J.S. Marshall // *J Immunol.* – 2010. – Dec 1. – №185(11). – C. 7067–76.

9. Prussin C., Metcalfe D.D. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils // *J Allergy Clin Immunol.* – 2003. – 111 (2 Suppl): S486–94. doi:10.1067/mai. 2003.120.

10. Pulendran B., Ono S.J. A shot in the arm for mast cells // *Nat. Med.* – May 2008. – №14 (5). – C. 489–90.

11. Saito H. et al. Selective growth of human mast cells induced by Steel factor, IL-6, and prostaglandin E2 from cord blood mononuclear cells // *J. Immunol.* – 1996. – №157. – C. 343–350.

12. Wilhelm M., Silver R., Silverman A.J. Central nervous system neurons acquire mast cell products via transgranulation // *Eur. J. Neurosci.* – November, 2005. – №22 (9). – C. 2238–48.

References

1. Osipova Yu.L., Bulkina N.V., Kropotina A.Yu., Harish N.A., Gyseva O.Yu., Albitskaya Yu.N. *Rol tuchnykh kletok slizistoy obolochki desny v patogeneze vospalitelnykh zabolevaniy parodonty – Uspechi sovremennogo estestvoznaniya.* 2009. no. 7 pp. 55–56.

2. Albert EJ, Duplisse J, Dawicki W, Haidl ID, Marshall JS. *Am J Pathol. Tissue eosinophilia in a mouse model of colitis is highly dependent on TLR2 and independent of mast cells* – *Am J Pathol.* 2011, Jan; 178(1):150–60.

3. Galli, S.J., Maurer, M., Lantz, C.S. 1999. *Mast cells as sentinels of innate immunity* – *Curr. Opin. Immunol.* 11:53–59.

4. Galli, S.J., Nakae, S., Tsai, M. 2005. *Mast cells in the development of adaptive immune response* – *Nat. Immunol.* 6:135–142.

5. Khazaie K., Blatner N.R., Khan M.W., Gounari F., Gounaris E., Dennis K., Bonertz A., Tsai F.N., Strouch M.J., Cheon E., et al. *The significant role of mast cells in cancer* – *Cancer Metastasis Rev.* 2011 Mar; 30(1):45–60.

6. Marie Fischer^{1,2}, Ilkka T. Harvima³, Ricardo F.S. Carvalho¹, Christine Möller¹, Anita Naukkarinen⁴, Gunilla Enblad² and Gunnar Nilsson. *Mast cell CD30 ligand is upregulated in cutaneous inflammation and mediates degranulation-independent chemokine secretion* – *J Clin Invest.* 2006;116(10):2748–2756.

7. Nakae S., Ho L.H., Yu M., Monteforte R., Iikura M., Suto H., Galli S.J. *Mast cell-derived TNF contributes to airway hyperactivity, inflammation, and TH2 cytokine production in an asthma model in mice* – *Allergy Clin Immunol.* 2007 Jul; 120(1):48–55.

8. Oldford S.A., Haidl I.D., Howatt M.A., Leiva C.A., Johnston B., Marshall J.S. *A critical role for mast cells and mast cell-derived IL-6 in TLR2-mediated inhibition of tumor growth* – *J Immunol.* 2010. – Dec 1;185(11):7067–76.

9. Prussin C., Metcalfe D.D. *IgE, mast cells, basophils, and eosinophils* – *J Allergy Clin Immunol* (2003). 111 (2 Suppl): S486–94. doi:10.1067/mai. 2003.120.

10. Pulendran B., Ono S.J. *A shot in the arm for mast cells* – *Nat. Med.* (May 2008). 14 (5): 489–90.

11. Saito H. et al. *Selective growth of human mast cells induced by Steel factor, IL-6, and prostaglandin E2 from cord blood mononuclear cells* – *J. Immunol.* 1996.157:343–350.

12. Wilhelm M/, Silver R/, Silverman A.J. *Central nervous system neurons acquire mast cell products via transgranulation* – *Eur. J. Neurosci.* (November, 2005) 22 (9): 2238–48.

Рецензенты:

Красников Ю.А., д.м.н., профессор кафедры хирургии Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток.

Усов В.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 30.03.2012.

УДК 616.43/45:616.71-001.5-007.234

ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ МАССЫ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОСТЯХ СКЕЛЕТА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Свешников К.А., Свешников А.А.*ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. академика Г.А. Илизарова Минздрава России», Курган, e-mail: www.ilizarov.ru*

На рентгеновском двухэнергетическом костном денситометре фирмы «GE/Lunar Corp.» (США) обследовали 14141 здоровых людей в возрасте от 3 до 85 лет, из них женщин – 9179, мужчин – 4962. Построены гендерные ряды и в возрастном аспекте проанализированы изменения массы минералов в крупных сегментах скелета. Показано, что наименьшие возрастные изменения массы минералов происходят в костях верхних конечностей. Затем следуют кости нижних конечностей. Существенный вклад в проявление остеопении и остеопороза вносит туловище, где сосредоточена основная масса трабекулярной кости. Сравнение гендерных рядов показало, что остеопения и остеопороз раньше выявляются и степень изменений большая у женщин. Основными факторами, оказывающими влияние на размер и массивность скелета, являются: генетическая код, механическая нагрузка, гормональный статус и питание, недостаточное или длительное (более 10 лет) употребление кальция ниже нормы. Клеточным механизмом, который лежит в основе истончения трабекул, является связанное с возрастом снижение массы матрикса, синтезируемого остеобластами. Это приводит к уменьшению толщины стенки остеона губчатой кости в каждом цикле ремоделирования и, как следствие, к отрицательному костному балансу.

Ключевые слова: минералы кости, гендерные различия, остеопения, остеопороз

GENDER DIFFERENCES OF MASS MINERALS IN BONES IN AGE ASPECT

Sveshnikov K.A., Sveshnikov A.A.*Federal state institution «Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology
and Orthopaedics», Kurgan, e-mail: www.ilizarov.ru*

On the X-ray two-energy bone densitometer of firm «GE/Lunar Of corp.» (USA) inspected 14141 healthy people at the age from 3 to 85 years, of them women – 9179, men – 4962. Are built numbers and in the aspect dependent on age are analyzed changes of the mass of minerals in the large segments of skeleton. It is shown that the smallest changes in the mass of minerals dependent on age occur in the bones of upper extremities. Then they follow the bone of lower extremities. The significant contribution to the manifestation of osteopenia and osteoporosis introduces the body, where it is concentrated bulk of trabecular bone. The comparison of gender numbers showed osteopenia and osteoporosis earlier they are revealed and the degree of changes large in women. Basic factors, that render influence on the size and massiveness of skeleton are: genetic is the code, mechanical load, hormonal status and nourishment, the insufficient or prolonged (more than 10 years) use of calcium lower than standard. The cellular mechanism, which is the basis of thinning trabeculas, is the decrease in the mass of the matrix, connected with the age, synthesized by osteoblasts. This leads to the decrease of the thickness of the wall of the osteon of spongy bone in each cycle of remodeling and, as a result, to the negative bone balance.

Keywords: bone minerals, gender differences, osteopenia, osteoporosis

По вопросу о гендерных (половых) различиях минеральной плотности костей (МПК) в настоящее время есть всего лишь одна публикация [4]. Малочисленность данных обусловлена тем, что задача изучения остеопороза у мужчин в ближайшие 10 лет поставлена II Российским конгрессом по остеопорозу только в 2005 году. В определенной мере сказывалось и недостаточное число костных денситометров. Нами МПК систематически изучается у здоровых людей уже 33 года. Первая база данных была опубликована в «Физиологии человека» в 1987–1989 гг. [1, 2], а вторая – выполнена по проекту РФФИ в 2006 г. на рентгеновском двухэнергетическом денситометре [3].

Изучение вопроса о гендерных различиях стало возможным благодаря неинвазивному методу – рентгеновской двухэнергетической абсорбциометрии, которая применяется в ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий» с 2002 года.

Цель работы состояла в изучении вопроса о гендерных различиях МПК в возрасте 3–85 лет.

Материал и методы исследования

Нами обследовано 14141 здоровых людей в возрасте от 3 до 85 лет, из них женщин – 9179, мужчин – 4962. Все обследованные были здоровыми людьми, проживающими на территории Уральского региона. Это была случайная выборка людей. В исследование не включались те, кто имел заболевания скелета или применял препараты, влияющие на минеральный обмен.

Измерение МПК проводили на рентгеновском двухэнергетическом костном денситометре фирмы «GE/Lunar Corp.» (США) в стандартных точках: поясничном отделе позвоночника, шейках бедренных костей и во всем теле. В позвоночнике, наряду с МПК (г/см²), определяли суммарное содержание минералов в граммах во всем позвонке и в их сочетаниях.

Сравнение полученных результатов осуществляли с учетом методических рекомендаций Международного общества клинической денситометрии (ISCD, 2003, 2005, 2007 гг.).

В качестве инструмента вычислений использованы пакет статистического анализа и встроенные формулы расчетов данных компьютерной программы Microsoft® Excel (2007).

Результаты исследования и их обсуждение

Темп накопления минеральной массы в 5–7 лет одинаковый у мальчиков и девочек несмотря на то, что у мальчиков в 5–5,5 лет отмечен первый скачок роста, а у девочек он происходил в 6–6,5 лет (табл. 1).

Во время второго скачка роста увеличение МПК у мальчиков отличается от такового у девочек по двум причинам: у мальчиков на два года больше предпубертатный рост из-за более позднего наступления половой зрелости (возраст 14 лет по сравнению с 12 годами у девочек), и длится скачок роста в периоде полового созревания около 4 лет, по сравнению с таковым у девочек, составляющим 3 года. Эти отличия предопределяют более высокие показатели пиковой костной массы у мальчиков.

Таблица 1

Различия в увеличении массы минеральных веществ (г) у детей
в возрасте 5–19 лет (M ± SD)

Пол	Возраст (годы)				
	5–7	8–10	11–13	14–16	17–19
Женский	199,22 ± 13,93	298,14 ± 23,84	426,09 ± 29,82	524,11 ± 41,92	172,09 ± 13,77
Мужской	190,44 ± 13,17	352,31 ± 21,12	615,31 ± 36,9	753,20 ± 52,71	517,05 ± 31,02
Различие: p	> 0,5	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Наибольшая величина прироста минералов у девушек и юношей наблюдалась в 14–16 лет. В 17–19 лет прирост МПК у девушек уменьшался в 3 раза, а у юношей на значительно меньшую величину – в 1,5 раза, что связано с тем, что кости у них имеют генетически больший размер, массивность, а также большее количество кальция в кортикальной кости. Пик костной массы наблюдали в 21–25 лет.

В основе возрастной физиологической атрофии костной ткани лежит снижение интенсивности ремоделирования, которая происходит у лиц обоего пола, хотя и существуют различия между мужчинами и женщинами в потере костной ткани.

В возрасте 40–60 лет величина потери за год выше у женщин. В 61–75 лет – процент снижения одинаковый, а в 76–85 – несколько меньший у мужчин.

Отчетливо выраженная остеопения во всем теле у мужчин наблюдалась нами в 66–70 лет (Т-критерий был равен –1,2SD), а остеопороз – в 81–85 лет (Т-критерий составил –3,0SD; табл. 3). У женщин остеопения отмечена в 56–60 лет (Т-критерий равен –1,5SD), остеопороз в 71–75 лет (–2,7SD).

В туловище убыль минералов выявлена раньше, чем во всем скелете, и выражена в большей мере (табл. 2). Остеопения у мужчин отмечена в 66–70 лет (–1,6SD), остеопороз – в 81–85 лет –3,7SD. У женщин остеопения появлялась раньше (56–60 лет), а остеопороз был выражен более значительно (–4,7SD).

Во всем позвоночнике у мужчин признаки остеопении были отмечены в 66–70 лет, у женщин в 56–60 лет (табл. 3).

В 81–85 лет деминерализация у мужчин составила –3,4SD, у женщин –4,5SD. В поясничном отделе позвоночника, где позвонки имеют наибольшие размеры и массу минералов, Т-критерий у мужчин в возрасте 71–75 лет был равен –1,2SD, а в 81–85 лет –2,0 SD (табл. 4). У женщин остеопения наблюдалась уже 56–60 лет, а в 81–85 лет Т-критерий был равен –2,7 SD.

В проксимальной трети бедренной кости и шейке у мужчин изменения происходили однонаправленно – появлялись в 66–70 лет, остеопороз впервые констатировался в возрасте 76–80 лет, а в возрасте 81–85 лет Т-критерий был равен –3,5–3,8SD (табл. 4). У женщин остеопения в проксимальной трети бедренной кости обнаружена в 56–60 лет, но проявления остеопороза были большими, чем у мужчин (табл. 4). В шейке бедренной кости у женщин снижение минеральной плотности происходило раньше, чем у мужчин – в 56–60 лет. Остеопороз развивался однонаправленно, только в 81–85 лет Т-критерий был большим у женщин (–4,1SD), у мужчин составил (–3,5SD).

Из всех костей скелета наименьшая деминерализация была в костях верхней конечности: у мужчин остеопения констатировалась в 76–80 лет (табл. 5), а остеопороз (–2,6 SD) – в 81–85 лет. У женщин остеопения раньше появлялась (в 66–70 лет), а остеопороз в 81–85 лет был более выражен (–3,8SD).

В нижних конечностях у мужчин и женщин остеопения обнаружена в 66–70 лет (табл. 5). Остеопороз развивался в 76–80 лет (Т-критерий у мужчин составлял –3,1 SD, у женщин – 3,3SD), а в 81–85 лет критерии были соответственно –3,7 SD и –4,5SD.

Таблица 2

Гендерные различия массы минеральных веществ (г, М ± SD)
во всем скелете и туловище в возрастном аспекте

Возраст, годы	Мужчины	Т-критерий	Женщины	Т-критерий
<i>Во всем скелете</i>				
21–25	3290,3 ± 230,25	–	2618,1 ± 183,27	–
36–40	3273,8 ± 184,26	–	2560,5 ± 179,24	–
56–60	3158,7 ± 252,70	–	2233,2 ± 133,99	–1,5
66–70	2954,7 ± 177,28	–1,2	2158,5 ± 170,28	–1,9
71–75	2819,8 ± 197,39	–1,4	1916,4 ± 134,15	–2,7
76–80	2550,0 ± 153,00	–2,3	1767,2 ± 109,32	–3,3
81–85	2309,8 ± 115,49	–3,0	1573,5 ± 110,14	–4,0
<i>Во всем туловище</i>				
21–25	1100,4 ± 77,00	–	877,4 ± 52,64	–
36–40	1090,1 ± 76,31	–	852,0 ± 59,64	–
56–60	1011,3 ± 60,68	–0,8	723,0 ± 43,38	–1,8
66–70	922,9 ± 73,82	–1,6	664,2 ± 46,49	–2,4
71–75	800,8 ± 48,05	–2,7	566,8 ±	–3,5
76–80	732,9 ± 36,65	–3,3	511,5 ±	–4,2
81–85	694,5 ± 33,76	–3,7	463,3 ±	–4,7

Таблица 3

Гендерные различия массы минеральных веществ (г, М ± SD) во всем позвоночнике
и его поясничном отделе в возрастном аспекте

Возраст, годы	Мужчины	Т-критерий	Женщины	Т-критерий
<i>Во всем позвоночнике</i>				
21–25	294,8 ± 20,64	–	247,4 ± 23,58	–
36–40	300,7 ± 21,05	–	245,42 ± 19,63	–
56–60	291,0 ± 17,46	–	215,97 ± 15,12	–1,2
66–70	256,0 ± 20,48	–1,3	195,94 ± 15,68	2,1
71–75	217,0 ± 13,02	–2,6	165,26 ± 11,57	–3,3
76–80	294,8 ± 17,69	2,9	146,46 ± 8,79	–4,1
81–85	143,4 ± 10,04	–3,4	131,37 ± 9,20	–4,5
<i>В поясничном отделе позвоночника (L2–L4)</i>				
21–25	63,4 ± 5,07	–	51,8 ± 4,14	–
36–40	62,8 ± 4,40	–	51,2 ± 3,58	–
56–60	61,6 ± 4,31	–	46,3 ± 2,32	–1,1
66–70	57,2 ± 3,46	–0,9	43,5 ± 2,61	–1,6
71–75	55,7 ± 3,90	–1,2	42,3 ± 2,96	–1,8
76–80	53,3 ± 3,73	–1,6	41,3 ± 2,07	–2,0
81–85	50,9 ± 3,56	–2,0	37,8 ± 3,02	–2,7

Сравнительно небольшое число сведений о возрастных изменениях массы минералов в различных костях скелета мужчины не позволяло построить гендерные ряды данных и провести сравнительный анализ. В данной работе на достаточном материале впервые проведено такое исследование. Нами убедительно показано, что наименьшие изменения массы минералов происходят в костях верхних конечностей. Затем следуют кости нижних конечностей. Существенный вклад в проявления остеопении и остеопороза вносит туловище, где сосредоточены основная масса трабекулярной кости. Сравнение гендерных рядов показало, что остеопения и остеопороз раньше выявляются и большая степень изменений у женщин.

Масса минералов прежде всего уменьшалась в трабекулярной кости пропорционально возрасту. Убыль минералов является главной, хотя и не единственной причиной медленного истончения трабекулярных пластин. Клеточным механизмом, который лежит в основе истончения трабекул, считается связанное с возрастом снижение массы матрикса, синтезируемого остеобластами. Это приводит к уменьшению толщины стенки остеона губчатой кости в каждом цикле ремоделирования и, как следствие, к отрицательному костному балансу. Толщина стенки остеона является отражением сочетанной деятельности всех остеобластов, которые присутствовали в фазе формирования цикла ремоделирования. Полости резорбции, созданные остеокластами,

остеобласты заполняют значительно хуже. Недостаточная пьезоэлектрическая стимуляция ведет к торможению и уменьшению ко-

личества остеобластов, а также к усиленной деятельности остеокластов, в результате чего развивается остеопороз.

Таблица 4

Гендерные различия массы минеральных веществ (г, $M \pm SD$) в проксимальной трети бедренной кости и ее шейке в возрастном аспекте

Возраст, годы	Мужчины	Т-критерий	Женщины	Т-критерий
<i>Во всей проксимальной трети бедра</i>				
21–25	43,0 ± 3,01	–	33,6 ± 2,69	–
36–40	43,9 ± 2,63	–	33,9 ± 2,37	–
56–60	41,8 ± 2,91	–	28,3 ± 2,58	–1,6
66–70	36,3 ± 1,82	–1,6	25,6 ± 1,78	–2,4
71–75	32,9 ± 2,30	–2,4	23,6 ± 1,65	–3,0
76–80	29,7 ± 1,78	–3,1	20,8 ± 1,46	–3,8
81–85	26,7 ± 2,14	–3,8	18,5 ± 1,36	–4,5
<i>В шейке бедренной кости</i>				
21–25	6,5 ± 0,46	–	5,1 ± 0,41	–
36–40	6,6 ± 0,53	–	5,3 ± 0,32	–
56–60	6,2 ± 0,39	–	4,50 ± 0,27	–1,2
66–70	5,4 ± 0,43	–1,7	4,2 ± 0,25	–1,6
71–75	5,0 ± 0,35	–2,3	5,1 ± 0,36	–2,3
76–80	4,7 ± 0,38	–2,8	3,9 ± 0,31	–2,9
81–85	4,2 ± 0,29	–3,5	3,0 ± 0,21	–4,1

Таблица 5

Гендерные различия массы минеральных веществ (г, $M \pm SD$) в верхних и нижних конечностях в возрастном аспекте

Возраст, годы	Мужчины	Т-критерий	Женщины	Т-критерий
<i>В обеих верхних конечностях</i>				
21–25	450,5 ± 31,54		302,6 ± 18,16	
36–40	487,4 ± 38,99	–	318,3 ± 22,28	–
56–60	475,7 ± 28,54	–	292,6 ± 23,41	–
66–70	450,5 ± 31,54	–	259,3 ± 15,56	1,4
71–75	440,6 ± 24,03	–0,6	242,4 ± 16,97	–2,0
76–80	398,2 ± 27,84	–1,2	236,3 ± 14,18	–2,2
81–85	334,3 ± 20,60	–2,6	188,2 ± 13,17	–3,8
<i>В обеих нижних конечностях</i>				
21–25	1192,3 ± 83,5		920,5 ± 64,43	
36–40	1215,8 ± 72,94	–	923,3 ± 64,63	–
56–60	1155,3 ± 69,32	–	852,4 ± 68,27	–0,7
66–70	1065,9 ± 74,61	–1,1	775,1 ± 46,51	–1,6
71–75	1025,4 ± 73,86	–1,4	729,0 ± 51,03	–2,1
76–80	822,7 ± 53,75	–3,1	617,6 ± 30,88	–3,3
81–85	751,1 ± 42,98	–3,7	503,5 ± 30,21	–4,5

В процессе трудовой деятельности на конечности приходятся наибольшие нагрузки и поэтому в них больше минеральных веществ.

У женщин быстрее теряются минералы трабекулярной кости, а после 60 лет присоединяется и медленная убыль кортикальной кости. Уменьшение ее объема является результатом двух процессов: истончение кортикального слоя и увеличение кортикальной порозности. Порозность усиливается в результате изменений, связанных с возрастом. Оба процесса приводят к уменьшению радиальной

скорости заполнения остеонов и снижению толщины стенки остеона, увеличению диаметра гаверсова канала и увеличению числа единиц ремоделирования, которые прекращают свое развитие после фазы реверсии, что приводит к образованию пустых лакун резорбции. Все эти изменения можно объяснить прогрессирующей с возрастом несостоятельностью остеобластов вследствие как уменьшения образования новых клеток, так и снижения способности образовывать матрикс.

Выявить гендерные различия удалось потому, что основными факторами, оказы-

вающими влияние на размер и массивность скелета, являются:

- 1) генетический код, реализуемый во время роста;
- 2) механическая нагрузка;
- 3) гормональный статус и питание;
- 4) недостаточное или длительное (более 10 лет) употребление кальция ниже нормы.

Большое количество факторов питания определяет, насколько эффективно будет заложена основа и реализована генетическая программа построения кости. Эти факторы включают в себя источники калорий, белки, витамины и минеральные вещества. Дефицит любого из этих веществ приводит к уменьшению либо размера кости, либо ее массивности и, таким образом, уменьшает величину пиковой костной массы, которую способен достигнуть индивидуум. Кроме того, в отличие от других элементов питания, таких как белок, количество удержанного в организме кальция всегда существенно ниже количества, поступившего с пищей. Это происходит из-за относительно низкой эффективности абсорбции даже в период роста, а также из-за ежедневных потерь кальция с частицами кожи, ногтей, волосами, с потом, с мочой, а также с нереабсорбируемыми пищеварительными ферментами [5]. Низкое потребление кальция не ограничивает рост кости в длину и ширину. Это объясняется тем, что формирующие кость участки не «видят» диету. Они находятся под влиянием только уровней циркулирующего кальция, фосфора и кальцитропных гормонов. Несколько меньшее потребление кальция женщинами может приводить к образованию кости с более тонким кортикальным слоем и с меньшим числом тонких трабекул [6]. Если количество требуемого кальция меньше оптимального, то эндостально-трабекулярная резорбция усиливается, а баланс между костеобразованием и резорбцией, в норме положительный во время роста, снижается в направлении нулевого значения. Это приводит к формированию скелета с низкой массой при нормальной форме и размере. Эндостальное расширение может возрастать в условиях недостаточного потребления кальция, выходя за пределы требований генетической программы. Необходимо также учитывать и тот факт, что МПК – разная у представителей каждой популяции, исходя из географических факторов, образа жизни, включая подверженность стрессам и степень изменения психологического состояния, физической активности и вредных факторов окружающей среды. У мужчин причиной снижения МПК может быть уменьшенная концентрация свободного тестостерона в крови, а также эстрадиола, недостаточный уровень 25-гидроксивитамина D в крови, нарушение всасывания

кальция в кишечнике (мальабсорбция), конституциональные факторы (астеническое телосложение), при этом замедляется интенсивность костеобразования и ускоряется резорбция кости, то есть стимулируется развитие остеопороза.

Заключение

В результате обследования 14141 здоровых людей в возрасте от 3 до 85 лет, из них женщин – 9179, мужчин – 4962 удалось построить гендерные ряды и в возрастном аспекте проанализировать изменения массы минералов в крупных сегментах скелета. Показано, что наименьшее возрастное снижение массы минералов происходит в костях верхних конечностей. Затем следуют кости нижних конечностей. Существенный вклад в проявление остеопении и остеопороза вносит туловище, где сосредоточена основная масса трабекулярной кости. Сравнение гендерных рядов показало, что остеопении и остеопороз раньше выявляются и степень изменений большая у женщин.

Список литературы

1. Свешников, А.А. Уральская база данных о возрастных изменениях минеральной плотности костей скелета // Современные аспекты реабилитации в медицине: первая Междун. научн. конф. – Ереван, 2005. – С. 190–191.
2. Свешников А.А. Возрастные изменения содержания минеральных веществ в костях нижней конечности здорового человека // Физиология человека. – 1989. – № 1. – С. 148–153.
3. Свешников, К.А. Гендерные различия минеральной плотности костей скелета в возрастном аспекте // Материалы III Российского конгресса по остеопорозу. – Екатеринбург, 2008. – С. 121–122.
4. Fractures, physical activity, and growth velocity in adolescent Belgian boys / C.J.R. Blimkie et al. // Med. Sci. Sports Exerc. – 1993. – Vol. 25. – P. 801–808.
5. Ilich J.Z., Brownbill R.A., Tamborini L. Bone and nutrition in elderly women: protein, energy, and calcium as main determinants of bone mineral density // Eur. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 57, № 4. – P. 554–565.

References

1. Sveshnikov A.A. Uralskaya baza dannykh o vozrastnykh izmeneniyakh mineralnoy plotnosti kostei skeleta – Pervaya Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya «Sovremennyye aspekty reabilitatsii v medicine». Erevan, 2005. pp. 190–191.
2. Sveshnikov A.A. Vozrastniya izmeneniya mineralnykh veshchestv v kostyakh nignei konechnosti zdorovogo cheloveka – Fiziologiya cheloveka. 1989. no. 1. pp. 148–153.
3. Sveshnikov A.A. Gendernie razlichiya mineralnoy plotnosti kostei skeleta v vozrastnom aspekte – Materialy III Rossiyskogo kongressa po osteoporozu. Ekaterinburg. 2008. pp. 121–122.
4. Fraktures, fizikel activity, end grous velositi in adolescent Belgien boys / C.J.R. Blimkie [et al.] – Med. Sci Sports Exerc. 1993. V. 25. pp. 801–808.
5. Ilich J.Z., R.A. Brovnbill, L. Tamborini. Bone end nutrition in elderly women: protein, energy, end kalthium es mein determinants of bone mineral density – Eur. J. Klin. Nutr. 2003. V. 57. no. 4. pp. 554–565.

Рецензенты:

Колпаков В.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, ГОУ ВПО «Тюменская госмедикадемия» Минздравсоцразвития РФ, г. Тюмень;

Кузнецов А.П., д.б.н., профессор, зав. кафедрой анатомии и физиологии ГОУ ВПО «Курганский государственный университет», г. Курган.

Работа поступила в редакцию 20.02.2012.

УДК 616.517:616.5-001.1-056.3:616.995.122

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ КОЖИ ПРИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОПИСТОРХОЗОМ

Сенчукова С.Р., Романов Е.Б., Колдышева Е.В., Торнуев Ю.В.

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии»
СО РАМН, Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Проведено комплексное клиническое и патоморфологическое исследование 150 пациентов с микст-патологией (аллергодерматоз и хроническая описторхозная инвазия), проживающих в эндемичной по описторхозу Новосибирской области. В сравнительном аспекте представлена динамика клинической картины 124 наблюдений аллергодерматозов, ассоциированных с хроническим описторхозом, в условиях различных методов лечения описторхозной инвазии (хлоксил, билтрицид, попутрил) с группой из 26 пациентов, не получавших антигельминтную терапию. Показано, что описторхозная инвазия отягощает и осложняет течение хронических дерматозов, в результате чего реализуется более тяжелая форма микст-болезни. Предложен комплексный подход к лечению сочетанной патологии, который позволяет добиться лучших результатов лечения, удлинить период ремиссии дерматоза. В морфогенезе хронических аллергодерматозов, ассоциированных с описторхозом, ведущую роль играют нарушения взаимодействия таких фундаментальных клеточных реакций эпидермиса, как пролиферация и дифференцировка, структурно-функциональных изменений компонентов соединительной ткани и сосудов дермы, в значительной степени связанных с дисфункцией эпидермально-дермального взаимодействия.

Ключевые слова: аллергодерматозы, экзема, описторхоз, антигельминтная терапия, световая микроскопия

CLINICAL PECULIARITYS AND SCINS PATHOMORPHOLOGY IN ALLERGODERMATHOSIS, ASSOCIATED WITH OPISTHORCHIASIS

Senchukova S.R., Romanov E.B., Koldysheva E.V., Tornuev Y.V.

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS, Novosibirsk,
e-mail: pathol@soramn.ru*

A comprehensive clinical and pathomorphological study of 150 patients with mixed-pathology (allergic and chronic opisthorchiasis) living in endemic opisthorchiasis Novosibirsk region was carried out. In a comparative perspective there were investigated the dynamics of clinical course of 124 allergodermatoses associated with chronic opisthorchiasis in the various treatments of opisthorchiasis invasion (hloksila, biltricid, poputril) with a group of 26 patients who did not receive antihelminthic therapy. It is shown that opisthorchiasis makes more severe and complicates the course of chronic dermatitis, which results in the more severe form of mixed disease. A comprehensive approach to treatment of comorbidity, which allows to achieve the best results of treatment, lengthen the period of remission of dermatosis. In the morphogenesis of chronic allergodermatoses associated with opisthorchiasis, the cell reactions of epidermis such as proliferation and differentiation, structural and functional changes in the components of the connective tissue and blood vessels of the dermis, play a key role and determine the dysfunction of the epidermal-dermal interaction.

Keywords: allergodermathosis, eczema, opisthorchiasis, anthelmintic therapy, light microscopy

Описторхоз – важнейшая составляющая в структуре краевой патологии населения Западной Сибири, где в силу природных и социальных условий существует самый напряженный в мире очаг этой инвазии (в низовьях Иртыша и среднего течения Оби зараженность населения в некоторых районах достигает 76–100%). Предпосылками формирования патологического процесса служат пролонгированные механические и токсические повреждения органов и тканей в местах обитания гельминтов, что приводит к нарушению нормального функционирования органа и сопряженных с ним систем. Происходит сенсибилизация организма антигенами описторхисов, важное значение имеет и токсическое действие продуктов жизнедеятельности гельминтов на организм в целом. К настоящему времени накоплен достаточно большой материал сибирских исследователей, дающий основание утверждать, что описторхозная инва-

зия отягощает и осложняет течение других заболеваний, в результате чего реализуется более тяжелая форма микст-патологии.

Среди патогенетических факторов, связанных с развитием заболеваний кожи, значительное место принадлежит аллергическим процессам, что обусловлено возрастанием антропогенной нагрузки на окружающую среду. В связи с этим все большее внимание обращает на себя проблема аллергодерматозов (термин, более часто употребляемый среди российских дерматологов). Аллергодерматозы представляют собой группу близких по патогенезу, клиническим и морфологическим проявлениям патологических процессов, среди которых экзема занимает одно из ведущих мест. По различным данным, пациенты с экземой составляют от 15 до 30% от обратившихся к врачу дерматологу. общепринятой единой классификации в настоящее время не существует. Различают истинную (идио-

патическую) экзему, микробную (монетовидная, варикозная, паратравматическая), себорейную, детскую и другие формы. Экзема формируется в результате воздействия сложного комплекса этиологических и патогенетических факторов, в том числе наследственных, нейроэндокринных, вегето-сосудистых, метаболических и инфекционно-аллергических. На современном этапе ведущим патогенетическим звеном принято считать выраженные иммунные нарушения (дисгаммаглобулинемия, уменьшение числа функционально активных Т-лимфоцитов и увеличение числа В-лимфоцитов, появление в крови патологических иммунных комплексов) и изменение уровня простагландинов и циклических нуклеотидов (принимающих участие в регуляции иммунного ответа).

Цель исследования – изучить влияние хронической описторхозной инвазии на течение хронических аллергодерматозов в условиях антигельминтной терапии.

Материал и методы исследования

Проведено комплексное клиническое и патоморфологическое исследование 150 пациентов с микст-патологией (аллергодерматоз и хроническая описторхозная инвазия), проживающих в эндемичной по описторхозу Новосибирской области, из них 65 женщин и 85 мужчин. Возраст пациентов от 18 до 63 лет, площадь поражения кожи – от 14 до 20%. Все исследования выполнены с информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации (2000 г.) и одобрены биоэтическим комитетом ФГБУ «Научно-исследовательского института региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН.

Диагноз описторхоза основан на обнаружении яиц описторхисов при микроскопии желчи и/или копроскопии. Интенсивность инвазии косвенно оценивали по результатам химико-седиментационного метода исследования фекалий (низкая, средняя, тяжелая, очень тяжелая). У 63,9% пациентов интенсивность инвазии была средней, у 36,1% – низкой. Как правило, тяжесть поражения кожи соответствовала степени интенсивности описторхозной инвазии. Продолжительность описторхозной инвазии определяли условно по данным эпиданамнеза. Все жалобы больных характеризовались проявлением 3 синдромов – болевого, диспепсического и общетоксического; у 65% пациентов хронический описторхоз протекал латентно и субклинически. У большинства обнаружен хронический рецидивирующий холецистит с дистонией желчного пузыря, у 14,8% – явления гастродуоденитов, у 9,5% – присоединение панкреатопатии.

Лечение аллергодерматозов включало в себя комплекс антигистаминных и десенсибилизирующих препаратов, сорбентов, а также местное применение кортикостероидных мазей. После курса лечения дерматоза и проведения в течение 1–2 нед. подготовительной терапии (диета, спазмолитики, гепатопротекторы, желчегонные, физиолечение) пациенты были разделены на 4 группы. Пациентам 1-й, 2-й и 3-й групп назначали один из антигельминтных

препаратов: хлосил (гексахлорпаракил – вызывает деструкцию нуклеопротеидов в клетках кишечного эпителия и паренхимы фасциол, оказывает угнетающее действие на углеводный обмен трематод и тем самым приводит к их гибели; назначали из расчета 60 мг на 1 кг массы в сутки, пятидневным курсом после исчезновения острых явлений кожного процесса); бильтрицид (празиквантел, азинокс – повышает проницаемость клеточных мембран паразитов для ионов кальция, что вызывает сокращение мускулатуры паразитов, переходящее в спастический паралич; назначали внутрь во время еды в дозе 60–75 мг/кг массы тела в 3 приема с интервалами 4–6 ч в течение суток) и попутрил (70%-й экстракт коры осины – семидневным курсом в дозе 0,75 мг на 1 кг массы тела в 3 приема). В 4-ю группу вошли пациенты с микст-патологией, которые отказались от антигельминтной терапии.

Эффективность комплексной терапии оценивали по следующей схеме: клиническое выздоровление, значительное улучшение, улучшение.

Биопсии кожи брали до лечения и через 1 мес. от начала курса терапии с обязательного согласия пациентов под местной анестезией раствором хлорэтила или новокаина. Образцы кожи фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, после проводки заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином в комбинации с реакцией Перлса, по ван Гизону, ставили PAS-реакцию. Исследование проводили в универсальном микроскопе Leica DM 4000B, фотографировали с помощью цифровой камеры Leica DFC320 с использованием компьютерной программы Leica QWinV3.

Количественные данные подвергнуты статистической обработке с вычислением среднего значения и ошибки среднего.

Результаты исследования и их обсуждение

У пациентов всех четырех групп высыпания при истинной экземе характеризовались значительной распространенностью (поражалась кожа конечностей, туловища), полиморфизмом, пестротой клинической картины, выраженными явлениями мокнутия и воспаления, беспокоил интенсивный зуд, у 5 пациентов высыпания сопровождались пиодермией. У больных микробной экземой очаги поражения располагались на коже стоп, голеней тыла кистей, характеризовались наличием резких границ с бахромой отслаивающегося рогового слоя, выраженной тенденцией к диссеминации, островоспалительной эритемой, присутствием экссудативных папул, микровезикул, пустул. Периодически беспокоил интенсивный зуд. Очаги себорейной экземы локализовались на коже волосистой части головы, лица, груди, межлопаточной области, голеней в виде желтовато-розовых пятен, покрытых жирными чешуйками, выражены явления везикуляции и мокнутия, наблюдался интенсивный зуд.

У всех больных положительная клиническая динамика дерматоза отмечена после 2 нед. лечения: значительно уменьшился

зуд, уменьшились явления острого воспаления, экссудации, уменьшилась инфильтрация в основании высыпаний, которые подсыхали в серозно-гнояно-геморрагические корки, обильно шелушились, микроэрозии эпителизировались.

К концу 2-й недели проявления общетоксического и диспепсического синдромов исчезли, что позволило начать лечение в трех группах одним из антигельминтных препаратов. У 3-х больных первой и 3-х второй групп были отмечены небольшие боли в эпигастрии, слабость, тошнота, головные боли, которые исчезли в течение суток и не потребовали отмены антигельминтного препарата.

В 1-ю группу (антигельминтик хлорксил) вошли 32 пациента с микст-патологией. У 20 из них диагностирована истинная экзема, у 5 – себорейная и у 7 – микробная. Продолжительность дерматозов составляла от 1 до 17 лет, у большинства пациентов заболевание начиналось в возрасте от 11 до 27 лет. Средняя площадь поражения вовлеченной в патологический процесс кожи составляла $15,1 \pm 0,5\%$ от общей поверхности тела. У 18 пациентов проявлялись симптомы средней степени тяжести, у 14 – заболевание протекало тяжело.

У больных аллергодерматозами со значительным улучшением очаги поражения уменьшились с $15,1 \pm 0,5$ до $2,2 \pm 0,2\%$, в которых сохранилась небольшая инфильтрация, эритема, шелушение. У пациентов с улучшением исчезли явления острого воспаления, уменьшились инфильтрация, общая площадь поражения достигала $6,2 \pm 0,1\%$.

Обострение наступило в ближайшие 3 мес. у 4 больных с улучшением, хотя интенсивность описторхозной инвазии была более низкой по сравнению с исходной. Эффективность дегельминтизации хлорксом составила 85,7%.

Вторую группу (анигельминтик бильтрицид) составили 38 пациентов. У 17 диагностирована истинная экзема, у 7 – себорейная, у 14 – микробная. Продолжительность аллергодерматозов составила от 2 до 15 лет, у большинства пациентов заболевание начиналось в возрасте от 12 до 26 лет. Средняя площадь поражения составила $14,6 \pm 0,7\%$ от общей поверхности тела. У 11 пациентов проявлялись симптомы средней степени тяжести, у 26 – заболевание протекало тяжело с обильными высыпаниями, яркой эритемой, торпидным течением, устойчивостью к традиционной терапии, частыми (3–5 раз в год) обострениями.

При значительном улучшении очаги поражения уменьшились с $14,6 \pm 0,7$ до $1,9 \pm 0,4\%$, сохранились небольшая ин-

фильтрация, эритема, шелушение. У пациентов с улучшением исчезли явления острого воспаления, уменьшились инфильтрация, общая площадь поражения достигала $7,1 \pm 0,1\%$.

У 2 пациенток примерно через 9 мес. вновь появились признаки обострения хронического заболевания кожи: у одной после оперативного вмешательства, у другой – после серьезной эмоционально-стрессовой ситуации. В этой подгруппе дегельминтизация была также эффективной. К концу 6-го месяца яйца гельминтов не обнаружены.

Третью группу (антигельминтик попурил) составили 28 пациентов (у 8 – истинная экзема, 6 – себорейная, 14 – микробная). Продолжительность дерматозов составила от 12 до 27 лет, у большинства пациентов заболевание начиналось в возрасте от 10 до 33 лет. Средняя площадь поражения составила $18,4 \pm 1,4\%$ от общей поверхности тела. У 11 пациентов проявлялись симптомы средней степени тяжести, у 17 – заболевание протекало тяжело с обильными высыпаниями, яркой эритемой, торпидным течением, устойчивостью к традиционной терапии, частыми (3–6 раз в год) обострениями.

При значительном улучшении очаги поражения уменьшились с $18,4 \pm 1,4$ до $1,2 \pm 0,6\%$, сохранились небольшая инфильтрация, эритема, шелушение. У пациентов с улучшением исчезли явления острого воспаления, уменьшилась инфильтрация, общая площадь поражения достигала $10,2 \pm 1,4\%$. У одной пациентки этой группы обострение наступило через 6,5 мес., которое она связывала с эмоционально-стрессовой ситуацией.

У пациентов четвертой группы (без антигельминтной терапии) из 26 больных аллергодерматозами у 14 диагностирована истинная экзема, у 3 – себорейная и у 9 – микробная. Средняя площадь поражения составила $15,8 \pm 0,4\%$ от общей поверхности тела. У 15 пациентов проявлялись симптомы средней степени тяжести, у 11 – заболевание протекало тяжело. При значительном улучшении очаги поражения уменьшились с $15,8 \pm 0,4$ до $1,8 \pm 0,6\%$, сохранилась небольшая инфильтрация, эритема, шелушение. В ближайшие 6 мес. у всех пациентов наступило обострение.

У пациентов с улучшением исчезли явления острого воспаления, уменьшилась инфильтрация, общая площадь поражения составляла $8,9 \pm 0,2\%$. У одного пациента с себорейной экземой новое обострение началось уже в стационаре по завершении основного курса лечения. У остальных больных обострение наступало в среднем через 4 мес.

В целом, сравнение показателей средней площади поражения кожи в динамике показало преимущество комплексного лечения, включающего антигельминтные препараты.

В биоптатах кожи пациентов с аллергодерматозами отмечался полиморфизм эпидермоцитов, обусловленный различными формами и фазой патологического процесса. Патоморфологические изменения кожи до лечения не отличались выраженной специфичностью. В большинстве случаев вне зависимости от вида экземы светооптически обнаруживали картину хронического дерматоза: выраженный акантоз с удлинением эпидермальных отростков и гиперкератоз, чередующийся с очагами паракератоза. Большая часть эпидермоцитов характеризовалась выраженными дистрофическими изменениями, нередко регистрирующимися на уровне базальных клеток, что обуславливало анизокариоцитоз в пределах одного слоя. В некоторых случаях отмечено исчезновение выраженной морфологической стратификации эпидермиса. В эпидермисе регистрировался умеренный межклеточный отек. В верхней части дермы формировались небольшие преимущественно периваскулярные инфильтраты, в которых преобладали лимфоциты, встречались также эозинофилы и макрофаги, нейтрофилы почти не обнаруживались. Количество капилляров поверхностной сети увеличено, стенки сосудов микроциркуляторного русла утолщены.

В наблюдениях с истинной экземой – картина хронического дерматита с чередованием зон акантоза и папилломатоза с участками сглаженных дермальных сосочков, но общая структура эпидермиса сохранялась; в большинстве биоптатов представлены были все клеточные слои. Отсутствие зернистого слоя отмечено в единичных случаях.

В роговом слое участки паракератоза и дискератоза чередовались с рыхло расположенными роговыми пластинками ячеистой структуры. Паракератотические клетки были интенсивно оксифильными, PAS-позитивными с пикнотичными палочковидными ядрами, мелкой базофильной цитоплазматической зернистостью. Зернистые кератиноциты значительно различались по величине ядер и содержанию гранул кератогиалина. В одних клетках ядра крупные, округлые, со светлой нуклеоплазмой и отчетливо определяемым ядрышком, гранулы кератогиалина мелкие, неравномерно распределенные в цитоплазме. В других – ядра пикнотичные, в цитоплазме – крупные кератогиалиновые гранулы. В большом числе клеток формировалось перинуклеарное «опустошение» цитоплазмы.

В шиповатом слое среди типичных кератиноцитов также обнаружено значительное число клеток с оптически пустой перинуклеарной зоной и пикнотичными ядрами. PAS-позитивное вещество накапливалось преимущественно в кератиноцитах шиповатого слоя. В половине биоптатов отмечался спонгиоз, особенно отчетливо выраженный в стенках волосяных фолликулов. Базальные кератиноциты содержали большое количество пигментных гранул, образующих надядерные скопления и перинуклеарные оптически пустые зоны цитоплазмы. В сосочковом слое дермы наблюдались очаги гиперемии, отека, нередко – периваскулярные, преимущественно мононуклеарные инфильтраты. Склеротические изменения наиболее выражены в глубоких слоях дермы. Коллагеновые и эластические волокна были частично фрагментированными.

В наблюдениях с микробной экземой в биоптатах кожи обращали на себя внимание внутриэпидермальные пузыри различного диаметра, спонгиоз, внутриклеточный отек эпидермоцитов. Наблюдался трансэпидермальный диапедез лейкоцитов, в роговом слое – отложения фибрина. В сосочковом слое дермы отмечались гиперемия, периваскулярный отек и в различной степени выраженная воспалительно-клеточная инфильтрация.

Себорейная экзема патоморфологически соответствовала подострой стадии дерматоза. Роговой слой вследствие тенденции к эксфолиации был развит очень слабо, большинство его клеток находилось в состоянии паракератоза. В эпидермисе развивался выраженный или умеренный акантоз с удлинением эпидермальных отростков, слабо выраженные внутриклеточный отек и спонгиоз; в дерме – умеренная периваскулярная мононуклеарная инфильтрация. На верхушках сосочков формировались очаги фибриноидных изменений соединительной ткани, в перифокальной зоне – гиперемия и мононуклеарная инфильтрация.

В биоптатах кожи больных микст-патологией после лечения вне зависимости от характера антигельминтной терапии уменьшились выраженность акантоза, папилломатоза и дистрофических изменений кератиноцитов. Более равномерным становился роговой слой, явления паракератоза практически отсутствовали. Кератиноциты зернистого слоя приобретали нормальную структуру. В шиповатом слое уменьшились межклеточные промежутки, практически отсутствовали клетки с пикнотическими ядрами, перинуклеарные оптически пустые зоны встречались в единичных клетках. Базальные кератиноциты восстанавливали нормальную структурную организацию. В дерме встречались единичные периваску-

лярные инфильтраты, состоящие из рыхло расположенных мононуклеарных клеток. Очаги фибриноидных изменений дермы замещались грануляционной тканью с последующим фиброзированием этих участков. Кроме того, отмечено уменьшение количества эластических волокон в сосочковом слое дермы (гипоэластоз) и фиброз сетчатого слоя за счет новообразования коллагеновых волокон и утолщения предсуществующих

Заключение

Аллергодерматозы, ассоциированные с описторхозной инвазией, протекают более тяжело, с частыми обострениями, короткими ремиссиями, часто непрерывно рецидивируя, поражая большую площадь кожи. Тяжелые, осложненные формы аллергодерматозов отмечены у 40% пациентов, у большинства болезней характеризовалась резистентностью к терапии. Через месяц комплексной терапии дерматоза и описторхоза клиническое выздоровление отмечено у 42% больных, значительное улучшение — у 47%, улучшение — у 11% пациентов. При отсутствии антигельминтной терапии эти показатели составили соответственно 28, 22 и 50%. Через 6–12 мес. обострение дерматоза наступало в 18% случаев при комплексном лечении дерматоза и описторхоза и у 94% больных — без антигельминтной терапии. Площадь пораженной кожи у больных аллергодерматозами через месяц комплексной терапии с использованием антигельминтных препаратов уменьшилась в 7 раз.

При различных формах аллергодерматозов в сочетании с описторхозом в биоптатах кожи до лечения наблюдались более выраженные структурные изменения эпидермиса и дермы — более значительные дистрофия и спонгиоз эпидермиса, а также острые нарушения гемодинамики (гиперемия, отек), диффузная клеточная инфильтрация и очаговый фибриноидный некроз дермы.

После комплексного лечения аллергодерматоза и описторхоза при светооптическом исследовании уменьшалась выраженность акантоза, папилломатоза, дистрофии кератиноцитов, появлялись признаки регенерации эпителиоцитов и восстановления присущей эпидермису морфологической стратификации. Уменьшалась выраженность лейкодиapedеза. В дерме исчезали признаки острых нарушений гемодинамики, встречались единичные периваскулярные скопления мононуклеарных клеток. Очаги фибриноидных изменений дермы замещались грануляционной тканью с последующим фиброзированием этих участков.

В целом, описторхозная инвазия отягощает и осложняет течение хронических дерматозов, в результате чего реализуется более тяжелая форма микст-болезни. В морфогенезе хронических аллергодерматозов,

ассоциированных с описторхозом, ведущую роль играет нарушение взаимодействия таких фундаментальных клеточных реакций эпидермиса, как пролиферация и дифференцировка, структурно-функциональных изменений компонентов соединительной ткани и сосудов дермы, в значительной степени связанных с дисфункцией эпидермально-дермального взаимодействия.

Список литературы

1. Айдагулова С.В., Мигускина Е.И., Непомнящих Д.Л. Хронический вирусный гепатит с описторхозом: Патоморфология и клинические особенности // Сиб. науч. вестник. — 2000. — Вып. IV. — С. 3–8.
2. Антоньев А.А., Прохоренков В.И. Об общепатологических закономерностях патогенеза аллергических дерматозов // Вестн. дерматол. — 1995. — № 2. — С. 20–22.
3. Хронический описторхоз и пищеварительная система / Э.И. Белобородова, М.И. Калюжина, Ю.А. Тиличенко и др. — Томск, 1996. — 118 с.
4. Ильинских Е.Н. Описторхозно-миторхозная инвазия у человека в Западной Сибири: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Томск, 2005. — 47 с.
5. Лавер У.Ф. Гистопатология кожи. — М.: Медгиз, 1958. — 750 с.
6. Милевская С.Г., Сенчукова С.Р. Клинико-лабораторные особенности дерматозов, протекающих на фоне описторхоза // Актуальные проблемы гастроэнтерологии. — Томск, 1994. — С. 197–199.
7. Непомнящих Г.И. Пограничные ткани (слизистые оболочки и кожа) в морфогенезе общепатологических процессов. — Новосибирск: НИИ РППМ СО РАМН, 1996. — 39 с.
8. Скрипкин Ю.К., Кубанова А.А., Акимов В.Г. Кожные и венерические болезни. — М.: ГЭОТАР — Медиа, 2009. — 544 с.

References

1. Aidagulova S.V., Miguskina E.I., Nepomnyashchikh D.L. *Sibirskii nauchny vestnik*. 2000. № 4. pp. 3–8.
2. Anton'ev A.A., Prokhorenkov V.I. *Vestnik dermatologii*. 1995. no. 2. pp. 20–22.
- 3/ Beloborodova E.I., Kalyuzhina M.I., Tilichenko Yu.A. *Khronicheskii opistorkhoz i pishchevaritel'naya sistema* [Chronic opisthorchiasis and digestive system]. Tomsk, 1996. 118 pp.
- 4/ Ilyinskikh E.N. *Opistorkhozno-mitorhozная invaziya u cheloveka v Zapadnoi Sibiri*. [Opisthorchiasis-mithorchosiasis invasion of a person in Western Siberia] Abstract of Doctor theses. Tomsk, 2005. 47 pp.
5. Lever W.F. *Gistopatologiya kozhi*. [Histopathology of the skin]. Moscow, Medgiz, 1958. 750 pp.
6. Milevskaya S.G., Senchukova S.R. *Aktualnye problemy gastroenterologii*. Tomsk, 1994. pp. 197–199.
7. Nepomnyashchikh G.I. *Pogranichnye tkani (slizistye obolochki i kozha) v morfogeneze obshchepatologicheskikh protsessov*. [The border tissue (the mucous membranes and skin) in morphogenesis of general pathologic processes]. Novosibirsk: Institute of RPPM SO RAMN, 1996. 39 pp.
8. Skripkin Yu.K., Kubanova A.A., Akimov V.G. *Kozhnye i venericheskie bolezni*. [Skin and venereal diseases]. Moscow: GEOTAR — Media, 2009. 544 p.

Рецензенты:

Лыкова С.Г., д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г. Новосибирск;

Ляхович В.В., д.б.н., профессор, заведующий отделом молекулярной биологии и директор ФГБУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики» Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 13.04.2012.

УДК 577.112.382.3:541.452:612.12:611.36.018.1:616.36-002

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И КОЛИЧЕСТВО ГЕПАТОЦИТОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЛАНИНАМИДА БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ

¹Толстикова Т.Г., ¹Жукова Н.А., ²Семенов Д.Е., ¹Бессергенева Е.П.,¹Сорокина И.В., ¹Баев Д.С., ²Глухов Б.М.¹ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова»

СО РАН, Новосибирск;

²ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии»

СО РАМН, Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru

Изучено влияние аланинамида бетулоновой кислоты на биохимические показатели крови, численность гепатоцитов и морфологию печени крыс при хроническом токсическом поражении четыреххлористым углеродом в сочетании с этанолом. Через 8 нед. токсического воздействия у животных в крови повысилась активность ферментов АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ соответственно на 94, 141, 83 и 134 %. Концентрация ядер гепатоцитов и их абсолютное число уменьшились на 70 %, двухъядерные гепатоциты составили 0,87 % популяции. К 6-й неделе происходило развитие фиброза с пролиферацией желчных капилляров с прогрессированием к 8-й неделе в цирроз. При введении животным аланинамида бетулоновой кислоты через 8 нед. уровень прямого билирубина, активности ЩФ, ЛДГ и АЛТ существенно не отличались от контроля; популяция двухъядерных гепатоцитов возрастала до 7,1 %, признаки фиброза, цирроза и перестройки печеночных балок не выявлялись. Аланинамид бетулоновой кислоты при энтеральном применении купирует признаки холестаза и цитолиза, увеличивает регенераторный потенциал, полностью предотвращает развитие фиброза и цирроза печени.

Ключевые слова: хронический гепатит, фиброз печени, аланинамид бетулоновой кислоты, биохимические показатели крови, щелочная диссоциация клеток печени

BIOCHEMICAL BLOOD INDICES AND THE NUMBER OF HEPATOCYTES IN RAT LIVER UNDER TOXIC HEPATITIS AND ACTION OF BETULONIC ACID ALANINAMID

¹Tolstikova T.G., ¹Zhukova N.A., ²Semenov D.E., ¹Bessergeneva E.P.,¹Sorokina I.V., ¹Baev D.S., ²Glukhov B.M.¹N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, Novosibirsk;²Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,

Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru

The effect of alaninamide of betulonic acid (ABA) on biochemical parameters of blood, population dynamics and morphology of the hepatocytes of the liver of rats with chronic toxic injury by carbon tetrachloride in combination with ethanol. Liver fibrosis in animals was modeled by intragastric administration of carbon tetrachloride and 5 % ethanol for 6 weeks. We determined the activity of ALT, AST, alkaline phosphatase, LDH, total protein, direct bilirubin and glucose. As a result of toxic effects in animals has increased the activity of enzymes ALT, AST, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase by 94, 141, 83 and 134 %. The concentration of the nuclei of hepatocytes and their absolute number decreased by 70 %, binuclear hepatocytes were 0,87 % of the population. By 6 week marks the development of fibrosis with proliferation of bile capillaries with progression to cirrhosis in 8 weeks. When administered to animals ABA, observed after 8 weeks of recovery to normal levels of direct bilirubin, alkaline phosphatase activity, LDH and ALT, double nuclear hepatocyte population grew to 7,1 %. Light microscopy signs of fibrosis, cirrhosis and liver reconstruction beams are not revealed. Betulonic acid alaninamide in enteral administration relieves symptoms of cholestasis and cytolysis, increases regenerative capacity, completely prevents the development of fibrosis and cirrhosis.

Keywords: chronic hepatitis, liver fibrosis, betulonic acid alaninamid, biochemical blood indices, alkaline liver dislocation

Проблема лечения гепатитов различной этиологии является чрезвычайно актуальной. Несмотря на большой арсенал гепатопротекторов, клиницистам не всегда удается добиться стабилизации течения гепатита, повышения регенераторной активности и предотвращения развития фиброза и цирроза печени [8]. В связи с этим продолжают поиски новых лекарственных агентов, в том числе и растительного происхождения, обладающих широким спектром

фармакологической активности и экономической доступностью. Объектом нашего внимания длительное время является производное бетулоновой кислоты – ее аланинамид (АБК). Ранее нами было показано, что этот агент обладает антиоксидантным, противоопухолевым, гемато-, кардио-, нефро- и гепатопротекторным действием в условиях цитостатического воздействия [1–6, 9]. Кроме того, на модели острого токсического гепатита было показано, что введение жи-

вотным АБК способствует нормализации биохимических показателей крови [10, 11]. Поэтому для дальнейшего расширения фармакологического спектра действия данного агента проведены исследования его влияния на процессы фиброгенеза и формирования цирроза печени в длительном эксперименте.

Цель работы – изучение влияния АБК на биохимические показатели крови, популяционную динамику гепатоцитов и морфологию печени крыс при хроническом токсическом поражении четыреххлористым углеродом в сочетании с этанолом.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на 45 белых лабораторных крысах-самках массой 178 г, полученных из виария Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), содержавшихся в стандартных условиях на обычном пищевом и водном рационе. Манипуляции с животными проводились согласно Женевской Конвенции 1986 г.

Токсические повреждения печени моделировали путем внутрижелудочного введения четыреххлористого углерода (CCl_4) в дозе 0,1 мл/кг в растворе растительного масла (0,3 мл/100 г) трижды в неделю, в сочетании с 5%-м раствором этанола в качестве питья в свободном доступе на протяжении 6 нед. Все животные были разделены на 3 группы по 15 особей в каждой. Животные I группы получали только CCl_4 и этанол; крысы II группы – те же токсические агенты и АБК в дозе 50 мг/кг в водно-твиновом растворе, который вводили ежедневно внутрижелудочно со 2-й по 6-ю неделю эксперимента включительно (две последние недели были восстановительным периодом); III группа – интактные животные. Из опыта крыс выводили декапитацией через 3, 6 и 8 нед. В сыворотке крови определяли активность АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ, уровень общего белка, прямого билирубина и глюкозы.

Для оценки популяции гепатоцитов была проведена щелочная диссоциация печени [3]. Клеточную суспензию окрашивали 30 мин 1%-м раствором орсеина на 70%-й уксусной кислоте, разводили дистиллированной водой до концентрации 5 мг/мл. Подсчет ядер гепатоцитов из одного образца ткани проводили в 6 последовательно заполняемых суспензией камерах Горяева. Рассчитывали число ядер гепатоцитов в 1 мг ткани (n), абсолютное число гепатоцитов (M), индекс двуядерных гепатоцитов ($M_2/M \cdot 100$).

Для гистологического исследования образцы печени заключали в парафин по общепринятой методике, изготавливали парафиновые срезы толщиной 4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином на гистологическом комплексе «MICROM» (Карл Цейс) и по методу Маллори. Исследование проводили с помощью микроскопа Axioskop 40.

Количественные данные обрабатывали методами параметрической статистики с использованием пакета программ «Microsoft Excel». Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Через 3 нед. воздействия CCl_4 и этанола у животных I группы повысилась активность ферментов АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ

соответственно на 94, 141, 83 и 134% по сравнению с интактным контролем (III группа) (табл. 1). Через 6 нед. эксперимента значительно возросли уровни ферментов АСТ, ЩФ по сравнению с 3-й неделей (соответственно на 27 и 89%), а с аналогичными показателями интактного контроля – до 200%. Активность ферментов АЛТ и ЛДГ через 6 нед. эксперимента оставалась на прежнем уровне. В течение восстановительного периода у животных I группы уровни АЛТ и ЛДГ оставались значительно повышенными по сравнению с аналогичными показателями интактного контроля (см. табл. 1). С помощью метода щелочной диссоциации у животных I группы выявлено уменьшение на 70% концентрации ядер гепатоцитов и их абсолютной численности. Двуядерные гепатоциты составили 0,87% от всей популяции клеток паренхимы (табл. 2), что свидетельствовало о низком уровне регенерации (в интактном контроле доля двуядерных гепатоцитов равнялась 14,5%) (см. табл. 2). Через 6 нед. концентрация ядер гепатоцитов, их абсолютное число и популяция двухядерных гепатоцитов оставались без существенной динамики. В течение восстановительного периода происходило увеличение концентрации ядер, абсолютного числа гепатоцитов и популяции двуядерных клеток (см. табл. 2), что, возможно, связано с включением естественных механизмов регенерации.

При светооптическом исследовании печени у животных I группы через 3 нед. эксперимента определялись следующие типы поражения гепатоцитов: диффузная мелко- и крупновезикулярная липидная инфильтрация, гидропическая дистрофия, являющиеся маркерами токсического и алкогольного воздействия [7]. Крупные капли липидов отесняли на периферию ядра клеток, которые принимают перстневидную форму. В части гепатоцитов отмечалось слияние капель жира, что сопровождалось некрозом клеток и формированием внеклеточных жировых кист. Мелкоочаговые некрозы гепатоцитов локализовались в перипортальных и центрлобулярных зонах, по их периферии регистрировалась лимфоцитарная инфильтрация; фиброз развивался по периферии печеночных балок. Синусоиды были заполнены фибрином и некротизированными гепатоцитами. Перипортально отмечалось большое количество сидерофагов. К 6-й неделе эксперимента у всех животных наблюдалось развитие портопортального и портоцентрального фиброза с пролиферацией желчных капилляров и прогрессированием к 8-й неделе в цирроз смешанного типа (крупно- и мелкоузловой).

На основании этого можно сделать вывод о развитии у всех животных тяжелого токсического поражения печени с исходом в цирроз смешанного типа.

При введении животным АБК (II группа) выявлена положительная динамика изменений активности ферментов. Через 3 нед. эксперимента уровни АЛТ и АСТ были снижены на 42% по сравнению с I группой. Уровни ЩФ и ЛДГ были существенно ниже, чем в I группе, но превышали эти значения соответственно на 11 и 103% по сравнению с интактным контролем (см. табл. 1). Через 6 нед. отмечалось дальнейшее снижение уровней ферментов АСТ, АЛТ, ЩФ по сравнению с I группой, лишь значения ЛДГ оставались повышенными (см. табл. 1). У животных, получавших АБК, через 8 нед.

наблюдалось восстановление до нормы уровня прямого билирубина, активности ЩФ, ЛДГ и АЛТ (см. табл. 1). Концентрация ядер гепатоцитов и их абсолютное число существенно увеличились лишь через 6 нед. (соответственно на 7 и 54%) (см. табл. 2). Доля двуядерных гепатоцитов через 3 и 6 нед. эксперимента достоверно не отличалась от таковой в I группе (см. табл. 2). Через 8 нед. отмечен рост популяции двуядерных гепатоцитов в данной группе до 7,1%, тогда как в I группе (воздействие CCl_4 и этанола) этот показатель составил всего 1,8% (см. табл. 2). Увеличение концентрации ядер и абсолютного числа гепатоцитов на фоне применения АБК свидетельствовало о стимуляции регенераторной способности печени.

Таблица 1

Влияние аланинамида бетулоновой кислоты на биохимические показатели крови крыс на фоне токсического гепатита ($M \pm m$)

Экспериментальная группа	Срок эксперимента (нед)	Общий белок, г/л	Билирубин прямой, мкмоль/л	Глюкоза, моль/л	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЩФ, Ед/л	ЛДГ, Ед/л
I группа – введение CCl_4	3	87,5±12,2*	21,3±10,9	5,6±0,3	216,6±41,3**	400,4±151,3*	719,8±232,7*	1460,3±184**
	6	97,02±5,9**	13,97±6,0	5,0±0,9*	202,35±41,0**	508,3±85,2**	1356,0±465,2**	1336,5±101,6**
	8	98,32±8,1**	2,75±1,2**	6,9±0,3*	221,97±22,6**	296,9±29,9**	940,2±105,3**	1845,3±259,7**
II группа – введение аланинамида бетулоновой кислоты	3	82,0±8,4	11,6±2,4	6,0±0,3	128,3±11,7##	233,8±27,4	435,0±49,3#	1266,1±57,4
	6	85,5±7,4#	20,7±1,5#	8,5±0,5##	78,9±5,5##	164,9±8,4##	317,6±26,7##	1414,0±68,4
	8	103,6±7,9	5,8±1,8##	5,2±0,4##	107,7±15,4##	217,7±20,7##	285,5±32,2##	583,3±113,3##
III группа – интактный контроль	8	64,8±2,2	8,9±3,04	6,2±0,4	111,4±11,7	165,9±27,2	393,2±83,0	623,5±230,9

Примечание.

*, ** – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – при сравнении с интактным контролем;

#, ## – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – при сравнении с введением CCl_4 .

Таблица 2

Влияние аланинамида бетулоновой кислоты на популяционную динамику гепатоцитов при токсическом гепатите ($M \pm m$)

Экспериментальная группа	Срок эксперимента (нед)	Число ядер гепатоцитов в 1 мг ткани ($\cdot 10^3$)	Абсолютное число ядер гепатоцитов ($\cdot 10^6$)	Абсолютное число гепатоцитов ($\cdot 10^6$)	Абсолютное число одноядерных гепатоцитов ($\cdot 10^6$)	Абсолютное число двуядерных гепатоцитов ($\cdot 10^6$)
I группа – введение CCl_4	3	35,1±0,7**	398,4±32,1**	394,9±33,5**	391,5±34,8	3,4±1,5
	6	64,7±3,6**	486,2±94,3**	466,1±89,8**	445,9±85,6	20,1±6,9
	8	44,8±7,6**	595,1±116,9**	584,0±115,9**	573±115,0	11,0±3,7
II группа – введение аланинамида бетулоновой кислоты	3	43,04±3,4##	404,7±38,1	400,4±38,89	396,0±39,7	4,3±1,8
	6	66,6±4,9	742,2±81,7##	719,1±77,4##	696,0±73,8	23,1±8,1
	8	81,34±6,4##	745,2±54,5#	695,5±49,2	645,7±44,7	49,8±8,0
III группа – интактный контроль	8	115,7±4,70	1252,8±49,3	1093,9±45,7	935,0±42,7	158,9±6,00

Примечание.

*, ** – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – при сравнении с интактным контролем;

#, ## – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – при сравнении с введением CCl_4 .

При световой микроскопии у животных на фоне введения АБК отмечалась положительная динамика морфологических изменений печени на всех этапах эксперимента (3, 6, 8 нед.). В гепатоцитах выявлялась очаговая гидропическая, клеточно-инволютивная дистрофия и лишь у отдельных животных – очаговая мелкоvesикулярная липидная инфильтрация. На 3-й неделе эксперимента фиброзная ткань локализовалась преимущественно перипортально и в виде тонких портопортальных тяжей. В просвете синусоидов выявлялись скопления купферовских клеток. Через 6 и 8 нед. эксперимента признаки фиброза, цирроза и перестройки печеночных балок не выявлены.

Заключение

При длительном энтеральном применении АБК купирует признаки как холестаза, так и цитолиза, увеличивает регенераторный потенциал гепатоцитов, полностью предотвращает развитие фиброза и цирроза печени при токсическом воздействии CCl_4 и этанола. Полученные результаты расширяют спектр фармакологической активности агента и позволяют рекомендовать АБК для дальнейшего исследования в качестве высокоактивного гепатопротектора.

Список литературы

1. Эффективность бетулоновой кислоты и ее аланина-мидных производных при восстановлении паренхимы печени крыс в постцитостатический период / О.Р. Грек, С.В. Позднякова, А.П. Надеев, В.С. Пронин, Н.А. Жукова, И.В. Сорокина, Е.Б. Волкова, Т.Г. Толстикова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, № 6. – С. 49–51.
2. Влияние бетулоновой кислоты и ее производного [3-оксо-20(29)-лупен-28-онил]-3-аминопропионовой кислоты на структуру печени мышей с лимфосаркомой RLS / Н.А. Жукова, Д.Е. Семенов, И.В. Сорокина, Т.Г. Толстикова, С.В. Позднякова, Грек О.Р. // Бюл. экспер. биол. – 2005. – Т. 140, № 9. – С. 348–350.
3. Влияние производных бетулина на структуру почки при лимфоме RLS / Н.А. Жукова, Д.Е. Семенов, И.В. Сорокина, Т.Г. Толстикова, С.В. Позднякова, О.Р. Грек // Сиб. науч. вестн. – 2006. – Вып. XI. – С. 49–51.
4. Морфологические изменения печени животных с перевитой карциномой легких Lewis при коррекции бетулоновой кислотой и ее производными / Н.А. Жукова, И.В. Сорокина, Т.Г. Толстикова, Д.Е. Семенов // Бюл. Сибирского отд. РАМН. – 2008. – № 6. – С. 113–118.
5. Влияние бетулоновой кислоты и ее производных на морфологию почек животных с перевитой карциномой легких Льюис на фоне полихимиотерапии и без ее воздействия / Н.А. Жукова, И.В. Сорокина, Т.Г. Толстикова, М.П. Долгих, Д.Е. Семенов // Химия в интересах устойчивого развития. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 483–488.
6. Структура печени мышей с перевитой карциномой легких Льюис при полихимиотерапии и коррекции бетулоновой кислотой и ее производными / Н.А. Жукова, И.В. Сорокина, Т.Г. Толстикова, Е.Л. Лушников, Л.М. Непомнящих, Д.Е. Семенов // Бюл. экспер. биол. – 2010. – Т. 150, № 7. – С. 108–112.
7. Непомнящих Д.Л., Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И. Биопсия печени: патоморфогенез хронического гепатита и цирроза. – М.: Изд-во РАМН, 2006. – 367 с.

8. Оковитый С.В. Клиническая фармакология гепатопротекторов // Фарминдекс Практик. Гепатология. – 2002. – Вып. 3. – С. 34–42.

9. Изучение влияния бетулоновой кислоты и ее амидных производных на рост и метастазирование перевиваемых опухолей у мышей / И.В. Сорокина, Н.А. Жукова, Т.Г. Толстикова, С.В. Позднякова, О.Р. Грек, Н.А. Попова, В.И. Каледин, В.П. Николин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2006. – № 1. – С. 29–31.

10. Терпеноиды ряда лупана как перспективные для медицины биологически активные агенты. Часть 1. Нативные производные лупана / Т.Г. Толстикова, И.В. Сорокина, Г.А. Толстиков, А.Г. Толстиков, О.Б. Флехтер // Биоорганическая химия. – 2006. – Т. 32, № 1. – С. 42–55.

11. Терпеноиды ряда лупана как перспективные для медицины биологически активные агенты. Часть 2. Полусинтетические производные лупана / Т.Г. Толстикова, И.В. Сорокина, Г.А. Толстиков, А.Г. Толстиков, О.Б. Флехтер // Биоорганическая химия. – 2006. – № 3. – С. 291–307.

References

1. Grek O.R., Pozdnyakova S.V., Nadeev A.P., Pronin V.S., Zhukova N.A., Sorokina I.V., Volkova E.B., Tolstikova T.G. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2005. no. 6. pp. 49–51.
2. Zhukova N.A., Semenov D.E., Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Pozdnyakova S.V., Grek O.R. *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny*. 2005. no. 9. pp. 348–350.
3. Zhukova N.A., Semenov D.E., Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Pozdnyakova S.V., Grek O.R. *Sibirskii nauchny vestnik*. 2006. Issue XI. pp. 49–51.
4. Zhukova N.A., Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Semenov D.E. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMS*. 2008. no. 6. pp. 113–118.
5. Zhukova N.A., Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Dolgikh M.P., Semenov D.E. *Khimia v interesakh ustoychivogo razvitiya*. 2010. no. 4. P. 483–488.
6. Zhukova N.A., Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Semenov D.E. *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny*. 2010. no. 7. pp. 108–112.
7. Nepomnyashchikh D.L., Aidagulova S.V., Nepomnyashchikh G.I. *Biopsiya pecheni: patomorfogenez khronicheskogo gepatita i tsirroza* [Liver biopsy: Pathomorphogenesis of chronic hepatitis and cirrhosis]. Moscow: Publishing House RAMS, 2006. 367 p.
8. Okovity S.V. *Farmindeks Praktik. Gepatologiya*. 2002. Issue 3. pp. 34–42.
9. Sorokina I.V., Zhukova N.A., Tolstikova T.G., Pozdnyakova S.V., Grek O.R., Popova N.A., Kaledin V.I., Nikolin V.P. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*. 2006. no 1. pp. 29–31.
10. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2006. no 1. pp. 42–55.
11. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2006. no. 3. pp. 291–307.

Рецензенты:

Поляков Л.М., д.м.н., профессор, зав. лабораторией медицинской биотехнологии и зам. директора по научной работе Научно-исследовательского института биохимии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Любарский М.С., д.м.н., зав. отделом клинической морфологии и заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 30.03.2012.

УДК 616-099:546.261.3-31:612.8-08

ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**¹Хафизов Н.Х., ²Идрисова Л.Т., ²Васильева Т.В., ²Еникеев Д.А.**¹Муниципальное учреждение «Городская клиническая больница №21» городского округа, Уфа, e-mail: gkb21@ufamail.ru;²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», Уфа

Целью исследования было выявление общих закономерностей повреждающего действия тяжелой острой алкогольной интоксикации (алкогольной комы и посткоматозного состояния) на головной мозг в клинике и разработка эффективных методов коррекции этих нарушений. В токсикологическом центре г. Уфы обследовано 158 больных с острой алкогольной интоксикацией с помощью электроэнцефалографии, нейромартирования, спектрально-корреляционного анализа электроэнцефалографии. Установлен выраженный неврологический дефицит у больных с алкогольной комой с преимущественным поражением стволовых структур, сопровождающийся отеком мозга, пирамидной недостаточностью и развитием судорожного синдрома. Выявлены изменения биоэлектрической активности головного мозга и межцентральных отношений ритмов, более выраженные в первые сутки с последующим неполным восстановлением нарушенных функций к концу срока наблюдения.

Ключевые слова: биоэлектрическая активность, головной мозг, картирование, острое алкогольное отравление**BRAIN BIOELECTRIC ACTIVITY BY SEVERE ALCOHOL INTOXICATION****¹Naphyzov N.H., ²Idrisova L.T., ²Vasileva T.V., ²Enikeev D.A.**¹Ufa city clinic №21, Ufa, e-mail: gkb21@ufamail.ru;²Bashkir State Medical University, Ufa

The aim of the study was to identify common damage patterns of severe acute alcohol poisoning (alcohol coma and postcoma state) in brain in and to develop effective therapeutic methods. In the Ufa toxicological center the 158 patients with acute alcohol intoxication were investigated with electroencephalography, neuromapping and spectral analysis of electroencephalography. The pronounced neurological deficits in patients with alcoholic coma, mainly affecting the brainstem structures, accompanied by brain edema, pyramidal failure and the development of seizures were found. Changes of brain activity and the relationship intercentral rhythms are more pronounced in the first day, followed by incomplete recovery of impaired functions by the end of the observation period.

Keywords: bioelectric activity, brain, neuromapping, acute alcohol poisoning

Наиболее распространёнными и лидирующими по абсолютному числу летальных исходов в нашей стране среди экзогенных интоксикаций являются острые алкогольные отравления, которые вызывают полиорганные изменения со стороны практически всех жизненно важных органов (центральная нервная система, сердце, печень, почки и т.д.), оказывая мембранотоксическое действие и нарушая метаболические процессы.

Одной из причин смерти больных на догоспитальном этапе и в первые часы поступления в стационар является избирательное действие этанола на стволовые структуры головного мозга, а изменения центральной нервной системы в более позднем периоде обусловлены поражением дисцифальной области и корково-мнестическими расстройствами. Такая избирательность поражения определённых структур головного мозга на фоне общетоксического действия этилового спирта вызывает интерес к исследованию функциональных изменений этих участков головного мозга.

Сотрудниками Всероссийского центра лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского разра-

батываются и внедряются методы физиотерапии (в том числе и лазеротерапии) в широкую клиническую практику лечения тяжёлых форм острых отравлений медикаментозными препаратами, фосфорорганическими соединениями и т.д. Антитоксическое действие лазерного излучения связывается авторами со стимуляцией эндогенных адаптивных механизмов самого организма, улучшением реологических свойств крови и с коррекцией гомеостаза.

Однако, несмотря на обилие разнообразной литературы по механизму действия внутривенного низкоинтенсивного лазерного излучения, нет данных о его влиянии на изменение функциональной активности жизненно важных органов, в первую очередь головного мозга, при алкогольной коме и посткоматозном состоянии.

Цель работы – выявление общих закономерностей повреждающего действия тяжёлой острой алкогольной интоксикации (алкогольной комы и посткоматозного состояния) на головной мозг в клинике и разработка эффективных методов коррекции этих нарушений с применением физиотерапии на фоне других традиционных методов лечения.

Материал и методы исследования

Исследования проведены у 128 больных в возрасте от 16 до 70 лет (мужчин – 109, женщин – 19), доставленных в экстренном порядке в токсикологический центр г. Уфы с диагнозом: острое отравление алкоголем тяжелой степени, осложненное алкогольной комой I–III степени.

Больные были разделены на две группы: в 1 группу входили пациенты (42 человека), которым на фоне дезинтоксикационной и симптоматической медикаментозной терапии проводили внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК), во 2 группе (86 пациентов) лечение ограничивалось общепринятыми лекарственными средствами.

Всем больным при поступлении проводилось клиническое обследование с детальным описанием неврологического статуса, оценивалась степень угнетения сознания по шкале Глазко, использовались общепринятые инструментальные и лабораторные методы исследования (общий анализ крови, мочи, биохимическое исследование крови, определение концентрации этанола в крови и моче, электрокардиография, рентгенография черепа, в некоторых случаях – компьютерная томография головного мозга и т.д.). Исследование биоэлектрической активности головного мозга проводилось у всех пациентов с интервалом в 24 часа в течение всего посткоматозного периода (3 суток). При этом были использованы методы классической электроэнцефалографии (ЭЭГ), нейрокартингирование и проведение спектрально-когерентного анализа электроэнцефалограммы.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования неврологического статуса и биоэлектрической активности головного мозга у больных с алкогольной комой выявили нарушения, которые не отличались от описанных ранее в научной литературе [1, 2].

Визуальный анализ классической ЭЭГ обнаружил выраженные изменения в первые сутки посткоматозного периода, которые несколько снижались ко вторым суткам и были умеренными на третьи сутки наблюдения. У большинства (75%) больных был дезорганизованный тип ЭЭГ с преобладанием немодулированного или слабomodулированного альфа-ритма, отсутствием или сглаженностью зональных различий у подавляющего большинства обследуемых и значительным числом очаговых изменений и медленноволновой активности (большинство на вторые сутки). В течение всего посткоматозного периода выявлялась дисфункция диэнцефально-стволовых образований, сопровождающаяся в ранние сроки изменениями медио-базальных структур.

Однако, по мнению ряда авторов [5], визуальная оценка биоэлектрической активности головного мозга при исследовании функциональных изменений и выявлении корреляции ЭЭГ и функций мозга являет-

ся недостаточно информативной. Изучение нейрофизиологических механизмов, обеспечивающих разные уровни функционирования мозга и особенности его адаптивно-компенсаторной деятельности, возможно лишь с помощью количественной оценки характера ЭЭГ разных отделов коры в норме и при патологии [1, 2]. Наиболее информативными являются показатели когерентности, позволяющие охарактеризовать тонус коры и межцентральные ассоциативные связи, а также характеристика спектра средней мощности, которая коррелирует со степенью выраженности морфо-биохимических признаков повреждения мозгового вещества [4, 2]. Высокую значимость продемонстрировало исследование функции когерентности и при оценке состояния сознания.

Количественный анализ средней мощности для каждого частотного диапазона в различных областях головного мозга больных с алкогольной комой выявил однонаправленные изменения показателей ЭЭГ в течение всего посткоматозного периода. Наиболее выраженные нарушения наблюдались в первые сутки и заключались в значительном повышении индекса патологической активности в большинстве зон головного мозга (за исключением затылочных отделов, где происходило угнетение средней мощности альфа-ритма). Параллельно выявлялись изменения межцентральных отношений, характеризующиеся значительным снижением среднего уровня межполушарной когерентности практически по всем спектрам в течение всего посткоматозного периода (табл. 1). Наиболее выраженное угнетение коэффициента когерентности отмечалось в лобных, центральных и затылочных областях в диапазоне альфа-ритма (табл. 2). Случаи повышения показателей когерентности были недостоверными. Изменения спектрально-количественной характеристики ЭЭГ сопровождалась значительными мnestическими расстройствами, выраженной дисфункцией вегетативных отделов надсегментарного уровня на протяжении всего периода наблюдения. Исходя из положения, что межполушарная когерентность позволяет оценивать не только корково-корковое, но и корково-подкорковое взаимодействие [2, 3] и, сопоставляя характер всех вышеперечисленных изменений, можно предположить значительное снижение тонуса коры и нарушение функционального состояния головного мозга, угнетение активирующего влияния ретикулярной формации стволовых структур мозга на кору больших полушарий, сопровождающееся дисфункцией

лимбико-ретикулярной формации у подавляющего большинства больных в течение длительного посткоматозного периода. Подобные изменения могли быть результатом

повреждений морфо-биохимических процессов мозгового вещества, наиболее выраженных в состоянии комы и в первые сутки посткоматозного периода.

Таблица 1

Показатели мощности ЭЭГ в посткоматозном периоде у больных с алкогольной комой, мкВ²

Спектры волн	1-е сутки							
	Fp1-Fp2	F3-F4	C3-C4	P3-P4	O1-O2	F7-F8	T3-T4	T5-T6
Дельта	334,1 ± 62,4©	227,3 ± 38,7©	209,7 ± 41,0	180,7 ± 26,4	204,7 ± 43,0	178,9 ± 28,1	179,2 ± 27,7	234,9 ± 37,7
Тета-1	144,8 ± 32,6 ©	156,2 ± 36,1©	123,4 ± 25,20	113,4 ± 19,4	110,7 ± 18,8	85,3 ± 17,6	126,8 ± 25,6©	178,9 ± 40,8©
Тета-2	265,6 ± 86,8©	275,2 ± 77,1©	88,7 ± 43,7 ©	220,0 ± 43,6 O	213,9 ± 43,1	125,3 ± 29,6©	200,8 ± 46,5©	339,7 ± 91,2©
Альфа	342,4 ± 76,1	373,5 ± 85,3	496,5 ± 113,90	79,4 ± 191,30	720,4 ± 165,6	226,0 ± 55,7	353,5 ± 91,7	545,7 ± 160,6
Бета-1	62,4 ± 12,4	85,4 ± 21,3	92,8 ± 18,6	85,2 ± 14,1	94,2 ± 14,8	74,1 ± 21,2	111,6 ± 35,5	86,7 ± 21,1
Бета-2	42,8 ± 4,5	57,3 ± 4,3 ©	75,9 ± 8,1 O	50,0 ± 4,9	41,3 ± 4,4	42,8 ± 6,2	47,3 ± 8,2 ©	29,2 ± 3,4
	2-е сутки							
	Fp1-Fp2	F3-F4	C3-C4	P3-P4	O1-O2	F7-F8	T3-T4	T5-T6
Дельта	279,5 ± 79,8	164,9 ± 40,2	164,4 ± 34,6	166,6 ± 46,8	303,0 ± 91,1	190,0 ± 42,2	194,1 ± 47,7	233,4 ± 57,1
Тета-1	93,0 ± 18,2 O	57,9 ± 10,4©	77,9 ± 15,8	89,1 ± 17,3	116,3 ± 22,0	64,2 ± 11,1	69,5 ± 13,50	78,2 ± 15,7©
Тета-2	81,5 ± 18,7 O	69,8 ± 14,2©	84,1 ± 13,1 ©	123,5 ± 26,3	165,9 ± 35,7	68,4 ± 13,9	78,3 ± 15,0®	122,2 ± 32,3©
Альфа	189,5 ± 29,2©	204,8 ± 31,80	254,8 ± 46,4 O	413,4 ± 66,0©	728,1 ± 173,4	185,2 ± 31,1	215,0 ± 33,2	287,7 ± 63,8
Бета-1	50,9 ± 4,8	71,2 ± 10,6©	100,7 ± 15,1	95,0 ± 16,5	134,2 ± 22,7	56,4 ± 9,5	60,3 ± 7,7	65,1 ± 10,8
Бета-2	35,5 ± 3,7	40,3 ± 4,2 ®	65,8 ± 7,9	48,0 ± 6,5	76,4 ± 19,9	47,2 ± 11,2	33,9 ± 4,3 O	22,2 ± 2,3
	3-и сутки							
	Fp1-Fp2	F3-F4	C3-C4	P3-P4	O1-O2	F7-F8	T3-T4	T5-T6
Дельта	140,2 ± 9,9 ®	109,3 ± 7,4®	166,1 ± 17,2	144,7 ± 19,5	126,9 ± 14,10	164,4 ± 27,4	160,6 ± 19,8	184,5 ± 34,5
Тета-1	40,2 ± 11,6® D	50,1 ± 14,1®	55,3 ± 13,9 ©	59,8 ± 17,80	52,3 ± 15,1®И	56,5 ± 21,3	52,1 ± 17,1®	66,6 ± 17,5®
Тета-2	63,0 ± 27,8	112,8 ± 56,5	148,5 ± 69,0	117,0 ± 53,8	124,6 ± 47,9	124,9 ± 75,0	134,7 ± 68,1	155,5 ± 63,2
Альфа	107,7 ± 13,4 ©■	157,5 ± 31,1 ©	243,6 ± 56,9 O	331,6 ± 66,4 O®	532,8 ± 90,1 ©	137,5 ± 42,9	182,5 ± 49,3	315,9 ± 86,2
Бета-1	37,7 ± 4,2	50,2 ± 8,4	80,7 ± 13,7	90,8 ± 13,0	127,9 ± 34,1	47,6 ± 13,4	59,6 ± 7,9	67,0 ± 11,0
Бета-2	44,8 ± 5,3	52,6 ± 6,9*	87,5 ± 9,8©	60,2 ± 5,6	52,2 ± 5,2	50,5 ± 18,6	36,0 ± 6,3	27,7 ± 3,9
	Контроль							
	Fp1-Fp2	F3-F4	C3-C4	P3-P4	O1-O2	F7-F8	T3-T4	T5-T6
Дельта	175,6 ± 18,7	127,2 ± 13,0	155,3 ± 21,0	123,9 ± 13,4	148,7 ± 24,4	191,5 ± 29,9	156,1 ± 15,4	186,0 ± 20,6
Тета-1	51,1 ± 5,1	62,2 ± 10,5	69,5 ± 10,4	71,3 ± 14,3	75,0 ± 18,2	51,1 ± 5,7	54,5 ± 6,3	69,0 ± 11,0
Тета-2	61,2 ± 10,3	76,7 ± 17,1	80,3 ± 15,6	75,8 ± 16,1	117,6 ± 26,8	50,6 ± 7,7	64,4 ± 14,2	105,9 ± 35,8
Альфа	316,1 ± 31,7	287,8 ± 26,9	265,3 ± 22,4	491,7 ± 43,0	1280,6 ± 294,8	230,8 ± 33,5	258,1 ± 27,5	325,5 ± 36,9
Бета-1	43,5 ± 4,6	47,4 ± 6,0	70,3 ± 8,3	83,4 ± 12,4	122,8 ± 25,5	43,1 ± 6,1	48,3 ± 4,6	49,9 ± 5,2
Бета-2	35,3 ± 4,1	36,5 ± 4,1	57,8 ± 4,9	47,2 ± 4,6	53,0 ± 8,3	36,5 ± 6,8	23,5 ± 2,4	20,6 ± 2,4

Примечания: условные обозначения: O – $p < 0,05$, © – $p < 0,02$, © – $p < 0,01$, O – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с контролем; G – $p < 0,05$, ■ – $p < 0,01$ – степень достоверности по сравнению с первыми сутками; O – $p < 0,05$, © – $p < 0,01$, ® – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению со вторыми сутками.

Применение ВЛОК у больных с алкогольной комой уменьшило степень выраженности нарушений, выявляемых при визуальной оценке ЭЭГ, особенно в первые и третьи сутки посткоматозного периода. Прежде всего положительное действие проявлялось в более раннем формировании умеренно-модулированного альфаритма, уменьшении очаговых изменений, снижении медленноволновой активности и уменьшении выраженности дисэнцефально-стволовой дисфункции. Количественный анализ ЭЭГ выявил, что в результате действия ВЛОК происходит усиление средней мощности в первые и максимально вторые сутки по всем частотным диапазонам, сменявшееся к третьим суткам резким спадом в диапазоне альфа- и бета-частот (табл. 3). Подобные изменения ЭЭГ могут

быть объяснены компенсаторным усилением метаболических процессов за счёт улучшения кровообращения во всех отделах головного мозга с последующим угнетением механизмов компенсации.

Спектрально-когерентная оценка ЭЭГ показала существенное повышение показателей когерентности в первые сутки после проведения физиотерапии в лобной и лобно-височной областях в диапазоне тета-волн с нормализацией показателей когерентности альфа-ритма в этой зоне, а также в центральной и в теменно-затылочных областях (табл.4). Значительное повышение коэффициента когерентности после ВЛОК выявлялось в диапазоне тета-ритма на третьи сутки посткоматозного периода в лобных, центральных и теменно-затылочных областях. Такое нарастание когерентности

в тета-диапазоне в посткоматозном периоде, наиболее выраженное в центрально-лобных областях коры, отражает активирующее влияние дизэнцефальных структур, являющихся центрами вегетативной регуляции, что может иметь важное компенсаторное значение. По данным спектрально-когерентного анализа выявлены однонаправленные изменения с нормализацией межполушарных отношений ритмов под влиянием ВЛОК во всех областях головного мозга в посткоматозном периоде. Данные изменения коррелируют и с клинической оценкой неврологического статуса больных, получивших ВЛОК в ком-

плексе детоксикационной терапии: наблюдалось достоверное уменьшение времени восстановления сознания, роговичных рефлексов, окулоцефалического рефлекса и т.д. Повышение когерентности электрических процессов в лобных и лобно-центральных областях коры свидетельствует о восстановлении передне-ассоциативных корковых связей при коматозном состоянии, которые, по мнению И.С. Добронравовой, 1990 [5], страдают в первую очередь при длительном нарушении сознания, что подчеркивает участие лобных долей в регуляции состояния сознания.

Таблица 2

Показатели коэффициента когерентности ЭЭГ у больных с алкогольной комой (мкВ²)

Отведения	Спектры волн					
	дельта	тета-1	тета-2	альфа	бета-1	бета-2
	<i>1-е сутки</i>					
Fp1-Fp2	0,44 ± 0,04	0,46 ± 0,04	0,60 ± 0,05	0,62 ± 0,04 О	0,43 ± 0,04 ©	0,29 ± 0,04
F4-F3	0,44 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,54 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,25 ± 0,02
C3-C4	0,34 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,18 ± 0,01
P3-P4	0,39 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,30 ± 0,03 О	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,02
O1-O2	0,46 ± 0,03	0,47 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,28 ± 0,02
T3-T4	0,27 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,16 ± 0,01
T5-T6	0,23 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,19 ± 0,02 ©	0,13 ± 0,01 О
<i>2-е сутки</i>						
	дельта	тета-1	тета-2	альфа	бета-1	бета-2
Fp1-Fp2	0,32 ± 0,05 ©П	0,35 ± 0,05 ©	0,50 ± 0,06	0,57 ± 0,03 О	0,44 ± 0,05 О	0,26 ± 0,06
F4-F3	0,38 ± 0,05	0,38 ± 0,05	0,49 ± 0,08	0,52 ± 0,04 О	0,41 ± 0,05	0,23 ± 0,03
C3-C4	0,32 ± 0,05	0,25 ± 0,03	0,31 ± 0,06	0,28 ± 0,04	0,21 ± 0,05	0,19 ± 0,03
P3-P4	0,42 ± 0,03	0,31 ± 0,05	0,30 ± 0,06	0,27 ± 0,04 О	0,19 ± 0,02©И	0,2 ± 0,03
O1-O2	0,40 ± 0,05 О	0,48 ± 0,06	0,49 ± 0,07	0,44 ± 0,04	0,38 ± 0,05	0,31 ± 0,06
T3-T4	0,32 ± 0,02	0,328 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,28 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,19 ± 0,03
T5-T6	0,23 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,22 ± 0,04	0,17 ± 0,03
<i>3-и сутки</i>						
	дельта	тета-1	тета-2	альфа	бета-1	бета-2
Fp1-Fp2	0,53 ± 0,03 ®	0,51 ± 0,03 ©	0,52 ± 0,03 О	0,70 ± 0,06	0,49 ± 0,07	0,29 ± 0,07
F4-F3	0,42 ± 0,05	0,37 ± 0,05	0,38 ± 0,05И	0,55 ± 0,08	0,35 ± 0,06	0,21 ± 0,03
C3-C4	0,37 ± 0,06	0,25 ± 0,05	0,26 ± 0,05	0,29 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,16 ± 0,02
P3-P4	0,40 ± 0,06	0,27 ± 0,06	0,24 ± 0,05 ©	0,23 ± 0,03©П	0,17 ± 0,02©»	0,17 ± 0,03 О
O1-O2	0,51 ± 0,05	0,40 ± 0,05	0,37 ± 0,04	0,36 ± 0,03 ©	0,28 ± 0,05	0,28 ± 0,05
T3-T4	0,28 ± 0,03	0,19 ± 0,02 ©	0,20 ± 0,03	0,21 ± 0,04	0,21 ± 0,04	0,13 ± 0,01 ©О
T5-T6	0,21 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,16 ± 0,01 О	0,11 ± 0,01 О
<i>Контроль</i>						
	дельта	тета-1	тета-2	альфа	бета-1	бета-2
Fp1-Fp2	0,53 ± 0,03	0,56 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,80 ± 0,02	0,56 ± 0,04	0,37 ± 0,03
F4-F3	0,44 ± 0,03	0,36 ± 0,05	0,44 ± 0,05	0,63 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,24 ± 0,03
C3-C4	0,41 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,36 ± 0,03	0,39 ± 0,06	0,23 ± 0,03	0,21 ± 0,02
P3-P4	0,45 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,37 ± 0,03	0,38 ± 0,03	0,26 ± 0,02	0,24 ± 0,02
O1-O2	0,53 ± 0,03	0,44 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,48 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,29 ± 0,02
T3-T4	0,3 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,19 ± 0,02
T5-T6	0,24 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,16 ± 0,01
T5-T6	0,24 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,16 ± 0,01

Пр и м е ч а н и я : условные обозначения: О – $p < 0,05$, © – $p < 0,02$, © – $p < 0,01$, О – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с контролем; □ – $p < 0,05$, Ш – $p < 0,01$ – степень достоверности по сравнению с первыми сутками; О – $p < 0,05$, © – $p < 0,01$, ® – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению со вторыми сутками.

Таблица 3

Показатели мощности ЭЭГ у больных с алкогольной комой после ВЛОК (мкВ²)

Отведения		Fp1-Fp2	F3-F4	C3-C4	P3-P4	O1-O2	T3-T4	T5-T6
1-е сутки	Дельта	330,3 ± 44,2 ®	211,8 ± 42,0 Ф	199,1 ± 30,6	263,1 ± 61,2 Ф	401,0 ± 104,4 ©	212,3 ± 29,6	280,6 ± 55,8
	Тета-1	85,7 ± 12,9 ®	79,5 ± 14,8	86,9 ± 14,6	102,4 ± 20,4	136,6 ± 28,9	68,7 ± 11,0	89,6 ± 14,1
	Тета-2	173,4 ± 37,8 ®	169,8 ± 36,2 ®	158,4 ± 31,7 Ф	226,3 ± 52,5 ©	332,1 ± 76,2 ©	92,1 ± 18,9	153,9 ± 32,0
	Альфа	237,3 ± 31,4	232,0 ± 32,2	254,3 ± 38,4	449,0 ± 59,4	736,7 ± 107,8	175,9 ± 21,8 ©	280,3 ± 40,0
	Бета-1	50,9 ± 6,7	49,0 ± 6,7	69,6 ± 8,1	90,4 ± 14,1	105,3 ± 17,6	49,3 ± 6,8	47,0 ± 6,0
	Бета-2	41,1 ± 6,4	30,9 ± 2,6	56,3 ± 7,4	41,0 ± 3,6	47,2 ± 7,3	31,0 ± 2,0 Ф	16,7 ± 1,8
2-е сутки	Дельта	629,6 ± 89,2 ®0	368,1 ± 95,4 ®	318,6 ± 54,5 ®0	342,8 ± 56,5 ©	447,3 ± 87,6 ©	276,7 ± 42,1 ©	363,6 ± 81,9 Ф
	Тета-1	130,3 ± 21,3	98,1 ± 17,7	130,9 ± 29,9 Ф	134,9 ± 25,0 ®	146,3 ± 26,3 Ф	87,9 ± 17,7	104,2 ± 22,0
	Тета-2	200,6 ± 40,2 ©	191,4 ± 38,4 ®	319,9 ± 121,9 Ф	374,7 ± 88,4 ®	462,6 ± 84,2 ©	170,5 ± 47,6 ®	240,6 ± 72,9
	Альфа	341,2 ± 79,8	343,4 ± 79,3	389,5 ± 93,3	642,3 ± 146,7	1376,0 ± 388,2	190,1 ± 21,3 ®	254,2 ± 28,7
	Бета-1	53,7 ± 6,3	52,3 ± 5,7	73,1 ± 7,9	91,1 ± 8,1	109,6 ± 14,7	59,2 ± 9,5	49,2 ± 6,1
	Бета-2	37,5 ± 5,1	33,5 ± 4,2	60,1 ± 7,9	43,2 ± 5,2	55,0 ± 11,9	32,2 ± 5,5	19,9 ± 2,6
3-и сутки	Дельта	383,5 ± 83,6 ©0	118,3 ± 11,7 О©	124,5 ± 6,2 0®	157,0 ± 19,6 ®	219,6 ± 37,8	167,4 ± 33,8 О	154,8 ± 13,5 О©
	Тета-1	83,4 ± 26,6	53,3 ± 13,1 О	65,2 ± 7,00	81,4 ± 18,7	103,4 ± 26,2	52,6 ± 6,5	64,7 ± 16,7
	Тета-2	240,2 ± 49,0 ©	201,2 ± 38,2 ®	158,1 ± 33,3 Ф	349,0 ± 53,8 Ф	734,4 ± 168,0 ©	86,9 ± 17,9	147,5 ± 34,8
	Альфа	84,5 ± 7,4 ©ОХ	71,5 ± 2,0 ©ОХ	68,9 ± 14,5 ©О®	168,8 ± 15,7 ©О®	275,7 ± 65,8 ©	48,6 ± 13,6 ©ОХ	65,1 ± 18,1 ©ОХ
	Бета-1	25,1 ± 2,7 ®©@	18,8 ± 3,6 ©ОХ	24,1 ± 2,9 ©ОХ	44,3 ± 12,7 Ф0®	74,5 ± 26,9	13,2 ± 5,1 ©ОХ	16,8 ± 2,3 ©ОХ
	Бета-2	18,5 ± 1,6 ©О®	11,6 ± 0,9 ©ОХ	19,9 ± 1,7 ©ОХ	16,6 ± 2,2 ©ОХ	15,1 ± 1,1 ©	8,5 ± 3,8 ©ОХ	7,1 ± 0,8 ©ОХ
Контроль	Дельта	175,6 ± 18,7	127,2 ± 13,0	155,3 ± 21,0	123,9 ± 13,4	148,7 ± 24,4	156,1 ± 15,4	186,0 ± 20,6
	Тета-1	51,1 ± 5,1	62,2 ± 10,5	69,5 ± 10,4	71,3 ± 14,3	75,0 ± 18,2	54,5 ± 6,3	69,0 ± 11,0
	Тета-2	61,2 ± 10,3	76,7 ± 17,1	80,3 ± 15,6	75,8 ± 16,1	117,6 ± 26,8	64,4 ± 14,2	105,9 ± 35,8
	Альфа	316,1 ± 31,7	287,8 ± 26,9	265,3 ± 22,4	491,7 ± 43,0	1280,6 ± 294,8	258,1 ± 27,5	325,5 ± 36,9
	Бета-1	43,5 ± 4,6	47,4 ± 6,0	70,3 ± 8,3	83,4 ± 12,4	122,8 ± 25,5	48,3 ± 4,6	49,9 ± 5,2
	Бета-2	35,3 ± 4,1	36,5 ± 4,1	57,8 ± 4,9	47,2 ± 4,6	53,0 ± 8,3	23,5 ± 2,4	20,6 ± 2,4

Примечания: О – $p < 0,05$, © – $p < 0,02$, © – $p < 0,01$, О – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с первыми сутками; О – $p < 0,05$, © – $p < 0,02$, ® – $p < 0,01$, Х – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению со вторыми сутками; Ф – $p < 0,05$, ® – $p < 0,02$, ® – $p < 0,01$, Ф – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с контрольной группой: – сравнение достоверности различий с группой больных без ВЛОК.

Таблица 4

Показатели когерентности ЭЭГ в посткоматозном периоде после ВЛОК

Отведения	Спектры волн					
	дельта	тета-1	тета-2	альфа	бета-1	бета-2
1	2	3	4	5	6	7
1-е сутки						
Fp1-Fp2	0,58 ± 0,07	0,66 ± 0,08	0,69 ± 0,09	0,68 ± 0,06 ф	0,55 ± 0,07	0,33 ± 0,04
F4-F3	0,52 ± 0,05	0,55 ± 0,07	0,57 ± 0,08	0,58 ± 0,05	0,42 ± 0,06	0,26 ± 0,02
C3-C4	0,37 ± 0,05	0,33 ± 0,07	0,33 ± 0,07	0,29 ± 0,04	0,24 ± 0,04	0,21 ± 0,02
P3-P4	0,44 ± 0,02	0,35 ± 0,05	0,38 ± 0,05	0,32 ± 0,04	0,27 ± 0,04	0,24 ± 0,02
O1-O2	0,49 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,48 ± 0,03	0,43 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,31 ± 0,01
T3-T4	0,35 ± 0,03	0,31 ± 0,05	0,32 ± 0,05	0,33 ± 0,05	0,32 ± 0,03	0,20 ± 0,03
T5-T6	0,24 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,26 ± 0,04	0,27 ± 0,02	0,16 ± 0,02
2-е сутки						
Fp1-Fp2	0,55 ± 0,06	0,56 ± 0,08	0,63 ± 0,08	0,75 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,32 ± 0,02
F4-F3	0,45 ± 0,06	0,39 ± 0,05	0,46 ± 0,08	0,60 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,22 ± 0,01
C3-C4	0,38 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,36 ± 0,08	0,33 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,17 ± 0,01
P3-P4	0,45 ± 0,05	0,32 ± 0,05	0,34 ± 0,07	0,37 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,01
O1-O2	0,49 ± 0,05	0,41 ± 0,05	0,45 ± 0,06	0,43 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,29 ± 0,02
T3-T4	0,32 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,32 ± 0,04	0,29 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,19 ± 0,01
T5-T6	0,24 ± 0,02	0,23 ± 0,02 ®	0,27 ± 0,04	0,27 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,17 ± 0,02
3-е сутки						
Fp1-Fp2	0,49 ± 0,02	0,62 ± 0,04	0,91 ± 0,03 ®0®	0,75 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,32 ± 0,02
F4-F3	0,39 ± 0,03 О	0,49 ± 0,04 ©	0,67 ± 0,04 ©О	0,60 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,22 ± 0,01
C3-C4	0,37 ± 0,02	0,30 ± 0,01	0,41 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,17 ± 0,01
P3-P4	0,43 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,46 ± 0,02 ©	0,37 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,01
O1-O2	0,65 ± 0,01 ©В©	0,50 ± 0,03	0,63 ± 0,02 ©В®	0,43 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,29 ± 0,02
T3-T4	0,28 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,29 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,19 ± 0,01

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6	7
T5-T6	0,20 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,17 ± 0,02
<i>Контроль</i>						
Fp1-Fp2	0,53 ± 0,03	0,56 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,80 ± 0,02	0,56 ± 0,04	0,37 ± 0,03
F4-F3	0,44 ± 0,03	0,36 ± 0,05	0,44 ± 0,05	0,63 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,24 ± 0,03
C3-C4	0,41 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,36 ± 0,03	0,39 ± 0,06	0,23 ± 0,03	0,21 ± 0,02
P3-P4	0,45 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,37 ± 0,03	0,38 ± 0,03	0,26 ± 0,02	0,24 ± 0,02
O1-O2	0,53 ± 0,03	0,44 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,48 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,29 ± 0,02
T3-T4	0,3 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,19 ± 0,02
T5-T6	0,24 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,16 ± 0,01

Примечания: ® – $p < 0,05$, @ – $p < 0,02$, ® – $p < 0,01$, © – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с контролем; О – $p < 0,05$, в – $p < 0,02$, © – $p < 0,001$ – степень достоверности по сравнению с первыми сутками; О – $p < 0,05$, © – $p < 0,02$, ® – $p < 0,01$ – степень достоверности по сравнению со вторыми сутками; – сравнение достоверности различий с группой больных без ВЛОК.

Нормализация межполушарной когерентности в посткоматозном периоде после квантовой гемотерапии сопровождалась значительным уменьшением эмоционально-мотивационных нарушений, снижением степени выраженности мнестических расстройств и дисфункции вегетативной нервной системы.

Аналогичную корреляцию степени изменения высших корковых функций с патологическими изменениями межцентральных отношений ЭЭГ и характера восстановления нарушенных нервно-психических функций с динамикой изменения межполушарной асимметрии когерентности ЭЭГ в процессе фармакологического лечения обнаруживали и другие исследователи [2, 4].

Выводы

1. Выявлены наиболее выраженные изменения биоэлектрической активности головного мозга у больных с алкогольной комой в первые сутки с последующим неполным восстановлением нарушений к концу срока наблюдения. Спектрально-когерентный анализ демонстрирует однонаправленные динамические изменения показателя средней мощности ЭЭГ в течение всего посткоматозного периода, наиболее выраженные в первые сутки, и изменения межцентральных отношений по показателю когерентности, более значимые в передних отделах головного мозга.

2. Внутривенное лазерное облучение крови, проведенное в комплексе детоксикационной терапии, оказывает положительное действие на измененную функцию высшей нервной деятельности, снижает выраженность неврологического дефицита, особенно в ранний посткоматозный период, способствует нормализации межполушарных отношений ритмов, сочетающейся с изменениями показателей мощности в первые и, максимально, во вторые сутки.

Список литературы

1. Биопотенциалы мозга человека. Математический анализ; под ред. В.С. Русинова; АМН СССР. – М.: Медицина, 1987.
2. Отражение адаптивных перестроек мозга человека при нарушении церебральных функций в параметрах меж-

полушарной асимметрии когерентности ЭЭГ / Г.Н. Болдырева, И.С. Добронравова, Е.В. Шарова, Л.А. Жаворонкова // Журнал высшей нервной деятельности. – 1993. – Т. 43, Вып. 2. – С. 247–255.

3. Бородин С.М., Гриндель О.М., Болдырева Г.Н. и соавт. Динамика спектрально-когерентных характеристик ЭЭГ человека в норме и при патологии мозга // Журнал высшей нервной деятельности. – 1987. – Т. 37, №1. – С. 22–29.

4. Гриндель О.М. Межцентральные отношения в коре большого мозга по показателю когерентности ЭЭГ при восстановлении сознания и речи после длительной комы. // Журнал высшей нервной деятельности. – 1985. – Т. 35, №1. – С. 60–67.

5. Добронравова И.С., Соколов А.Ф. Отражение процессов компенсации в структуре пространственно-временных отношений ЭЭГ больных при нарушении регуляторных механизмов мозга // Журнал высшей нервной деятельности. – 1992. – Т. 42, №3. – С. 450–461.

References

1. Rusinov V.S. Biopotenziali golovnogogo mozga. Matematicheskiy analiz [Human brain biopotentials. Mathematical analysis]. Moscow, Medicine, 1987, 221 p.
2. Boldireva G.N., Dobronravova I.S., Sharova E.V., Zhavoronkova L.A. Otrazhenie adaptivnykh perestroek mozga cheloveka pri narushenii zerebralnykh funktsiy v parametrah mezhpolutsharnoy assimetrii kogerentnosti EEG [Reflections of adaptive changes of human brain by cerebral functions dysfunction in parameters of hemisphere asymmetry between of EEG coherence. Zhurnal vissyey nervnoy deyatel'nosti, 1993, no 43, Suppl. 2, pp. 247–255.
3. Borodkin S.M., Grindel O.M., Boldireva G.N. et al. Dinamika spektralno-kogerentnykh harakteristik EEG cheloveka v norme i pri patologii mozga [Dynamics of spectral-coherent characteristics of human EEG in norm and brain pathology]. Zhurnal vissyey nervnoy deyatel'nosti, 1987, 37, no. 1, pp. 22–29.
4. Grindel O.M. Mezhtsentralnye otnosheniya v kore bolshogo mozga po pokazatel'nu EEGkogerentnosti pri vostanovlenii soznaniya i rechi posle dlitel'noy komi [Intercentral relations in the brain cortex in EEG coherence by recovery of conscious and speech after long coma. Zhurnal vissyey nervnoy deyatel'nosti, 1985, 35, no. 1, pp. 60–67.
5. Dobronravova I.S., Sokolov A.F. Otrazhenie processov kompensatsii v strukture prostranstvenno-vremennnykh otnosheniy EEG bol'nykh pri narushenii regulatornykh mekhanizmov mozga [Compensation reflections in structure of space-time relations of EEG of patients by regulatory brain mechanisms]. Zhurnal vissyey nervnoy deyatel'nosti, 1992, 42, no. 3, pp. 450–461.

Рецензенты:

Гайнетдинов Ф.М., д.м.н., профессор, профессор кафедры факультетской хирургии Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа;

Зулкарнеев Р.Х., д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 13.04.2012.

УДК 612-008.9-074

ОСОБЕННОСТИ АКТИВАЦИИ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО АППАРАТА И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА

¹Хидирова Л.Д., ²Маянская Н.Н.¹ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ,
Новосибирск, e-mail: h_ludmila73@mail.ru;²ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»,
Казань, e-mail: nmayansk@mail.ru

Биохимические исследования гомогената из ткани миокарда и сыворотки крови показали, что развитие некротических изменений в миокарде крыс Вистар сопровождалось значительным повышением активности лизосомальных ферментов в сердечной мышце с максимумом на 1–3 сутки и в сыворотке крови. Как показали результаты, экспериментальный инфаркт миокарда (ЭИМ) у крыс сопровождался значительными, закономерными фазовыми изменениями активности лизосомальных кислых гидролаз в сердечной мышце и в сыворотке крови. В динамике ЭИМ у крыс в 1–3 сутки наблюдается повышение концентрации железа в сыворотке: на 3 сутки данный показатель вырастает в 2 раза в сравнении с контролем. Однако самое выраженное повышение отмечается к концу исследования. Обращает на себя внимание относительное постоянство уровня цинка в миокарде животных с ЭИМ. В динамике не зарегистрировано достоверных изменений данного показателя. Динамика концентрации микроэлементов в сыворотке крови при экспериментальном инфаркте миокарда имела отрицательную корреляцию с активностью лизосомальных ферментов.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, лизосомальные ферменты, железо, цинк

PECULIARITIES OF ACTIVATION LYSOSOMAL APPARATUS AND THE EXCHANGE OF TRACE ELEMENTS IN THE EXPERIMENTAL DAMAGED MYOCARDIUM

¹Hiidirova L.D., ²Mayanskaya N.N.¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, e-mail: h_ludmila73@mail.ru;² Kazan State Medical University, Kazan, e-mail: nmayansk@mail.ru

Biochemical investigations of homogenate from the myocardium and blood serum showed that the development of necrotic changes in the myocardium of rats Vistar are followed significant increase in the activity of the lysosomal enzymes in the heart muscle (maximum at 1-e-3-day) and in the serum. The results showed that the experimental myocardial infarction (EMI) in rats was accompanied by significant, regular variations in activity of lysosomal acid hydrolases in cardiac muscle and in the serum. In the dynamics of EMI in 1-e-3-day was an increase in the concentration of iron in the serum: on the 3rd day this figure grows up in 2 times in comparison with the control. However, the most pronounced increase was observed to the end of the study. Draws the attention of the relative constancy of the level of zinc concentration in animals with EMI. No significant changes of this indicator were registered. Dynamics of concentrations of microelements in blood serum at an experimental myocardial infarction, had a negative correlation with the activity of lysosomal enzymes.

Keywords: myocardial infarction, lysosomal enzymes, iron, zinc

Особую роль в развитии повреждения миокарда при различных гормональных нарушениях играют полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ) и их лизосомы. Нейтрофилы, благодаря своей высокой чувствительности и лабильности, способны быстро и точно отражать не только разнообразные нарушения в организме, но также и процессы восстановления.

Важным компонентом кислород независимой биоксидности нейтрофильных гранулоцитов является лизосомальный аппарат клеток. Отсюда представлялось интересным и важным оценить активность лизосомального аппарата не только в миокарде, но, учитывая лейкоцитарную инфильтрацию сердечной мышцы, также и в лейкоцитах.

Цель – изучить особенности активации лизосомального аппарата и обмена микро-

элементов у крыс при экспериментальном повреждении миокарда.

Материалы и методы исследования

Экспериментальный окклюзионный инфаркт миокарда (ЭИМ) воспроизводился у крыс-самцов Вистар, массой 180–230 г. В опытах с ЭИМ использовано 36 животных. Контролем служили ложнопериоперированные (ЛО) – (15 крыс) и интактные (8 крыс) животные. Операция проводилась по методу Г. Селье с доступом по А.Х. Когану с соблюдением правил асептики и антисептики, под эфирным наркозом. Выживаемость животных после операции на протяжении всего исследования (14 суток) составила 50–60%.

Ложная операция повторяла все этапы создания ЭИМ за исключением перевязки левой коронарной артерии, вместо чего делали укол миокарда в области проекции данного сосуда. Выживаемость животных после ЛО составила 100%.

Сердечную мышцу подвергали гомогенизации. Для приготовления гомогената из ткани сердца по-

следняя предварительно измельчалась ножницами, растиралась в ступке с истолченным стеклом и суспендировалась в 9 объемах 0,25 М раствора сахарозы с 0,001 М ЭДТА, pH 7,4. Стекло и оставшиеся неразрушенными соединительно-тканые элементы удаляли центрифугированием при охлаждении на центрифуге ЦЛР-31 (2000 об/мин×5 мин). Затем в супернатанте и в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом активности лизосомальных ферментов (ЛзФ: кислая фосфатаза, ДНК-аза, катепсин D, β-галактозидаза).

Определение микроэлементов проводилось атомно-абсорбционным методом, который обладает рядом преимуществ (незначительное влияние солевого состава, почти полное отсутствие взаимных aberrаций определяемых элементов). Как правило, заметные искажения вызывают только 100–1000-кратные превышения концентраций, образующие трудно диссоциируемые окислы, что делает этот метод предпочтительным для определения ряда элементов, в том числе микроэлементов.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась по общепринятым методикам пакетом прикладных программ Statistica 6.0, Microsoft Excel 7.0 на ПК PC Pentium (III)-650 МГц MMX.

Результаты исследования и их обсуждение

Лизосомы, рано и эффективно включающиеся в реализацию адаптивных реакций организма, при окклюзионной гипоксии, равно, как и при полеме гормональной регуляции могут освобождать активные кислые гидролазы в цитозоль и далее во внеклеточное пространство и циркулирующую кровь и тем самым инициировать процессы клеточного повреждения [1]. Действительно, биохимические исследования гомогената из ткани миокарда и сыворотки крови показали, что развитие некротических изменений в миокарде сопровождалось значительным

повышением активности лизосомальных ферментов в органесмаксимумна 1–3-и сутки и в сыворотке крови. Как показали результаты, экспериментальный инфаркт миокарда (ЭИМ) у крыс сопровождался значительными, закономерными фазовыми изменениями активности лизосомальных кислых гидролаз в сердечной мышце и в сыворотке крови. Так, оказалось, что ЭИМ сопровождался умеренным увеличением активности кислой фосфатазы (КФ) и β-галактозидазы в сердечной мышце в 1–3-и сутки после операции. Эти величины мало отличались от активности соответствующих ферментов в гомогенате сердечной мышцы у ложнооперированных (ЛО) крыс. Однако в противоположность ЛО у животных с ЭИМ отмечалось резкое увеличение активности кислой ДНК-азы (более, чем в 5 раз) и катепсина D (более, чем в 18 раз в 1-е и почти в 8 раз на 3-и сутки), по сравнению с контролем. К 14 суткам ЭИМ активность всех измеряемых ферментов возвращалась к норме (табл. 1).

Развитие ЭИМ сопровождалось также закономерными изменениями активности лизосомальных ферментов в сыворотке крови. Так, через 1–3-и сутки после операции активность КФ более, чем в 10 раз превышала уровень активности у ЛО крыс, активность кислой ДНК-азы – более чем в 6 раз, β-галактозидазы – почти в 3 раза. Выявлялась высокая активность катепсина D ($10,86 \pm 1,01$ мкмоль тирозина/л сыворотки за 1 мин). На 14 сутки ЭИМ все еще оставалась повышенной активность кислой ДНК-азы и катепсина D, уровень активности остальных ферментов не отличался от величин, измеряемых у ЛО животных (см. табл. 1).

Таблица 1

Активность Лз ферментов в гомогенате сердечной мышцы у животных с ЭИМ (мкмоль/г белка/мин; $n = 10$; $M \pm m$)

Ферменты	Контроль	1-е сут. после операции	3-и сут. после операции	14-е сут. после операции
В β-галактозидаза	$3,3 \pm 0,09$	$8,6 \pm 0,89^*$	$5,5 \pm 0,43^*$	$2,2 \pm 0,03$
кДНКза	$3,9,0 \pm 0,07$	$3,0 \pm 0,02$	$2,8 \pm 0,05$	$3,6 \pm 0,07$
КФ	$7,7 \pm 0,26$	$1,3 \pm 1,91^*$	$9,7 \pm 1,37^*$	$3,0 \pm 0,32$
Кат.D	$0,64 \pm 0,03$	$0,5 \pm 0,03$	$0,4 \pm 0,07$	$0,9 \pm 0,11$

Примечание. * достоверные отличия от уровня активности у ЛО животных ($P < 0,05$).

Микроэлементы являются коферментами самых различных ферментных систем, включая гидролазы, а также про- и антиоксидантные ферменты и, более того, активность данных ферментов напрямую зависит от содержания микроэлементов [2].

В динамике ЭИМ у крыс в 1–3-и сутки наблюдается повышение концентрации железа в сыворотке: на 3-и сутки данный показатель вырастает в 2 раза в сравнении с контролем. Однако самое выраженное повышение отмечается на 14-е сутки – практически в 5 раз! (табл. 2).

Таблица 2

Содержание железа и цинка в сыворотке крови у крыс с ЭИМ † (М ± m)

Сроки исследования	Fe	Zn
Контроль	0,42 ± 0,01	1,91 ± 0,01
1-е сутки	0,80 ± 0,01*#	1,0 ± 0,01*#
3-и сутки	0,91 ± 0,01#	0,80 ± 0,04*#
14-е сутки	1,90 ± 0,05*#	0,21 ± 0,02*#
	$p_{3-1} < 0,05$ $p_{14-1} < 0,01$ $p_{14-3} < 0,05$	$p_{3-1} < 0,05$ $p_{14-1} < 0,05$ $p_{14-3} < 0,05$

Примечания: † – содержание МЭ в плазме выражается в мг/л; * – достоверность различий между группами; # – достоверность различий с контролем ($p < 0,05$).

Нарушения обмена микроэлементов при повреждении сердца (табл. 3) коррелируют с активацией лизосомального аппарата.

Таблица 3

Корреляционная зависимость содержания МЭ и лизосомальных ферментов в сердечной мышце и в сыворотке крови при ЭИМ

	β-галактозидаза	кДНКза	КФ	Кат.D
Fe A	-0,5	-0,6	-0,7	-0,7
B	-0,6	-0,7	-0,8	+0,4
Zn A	+0,2	+0,3	+0,2	+0,3
B	+0,5	+0,5	-0,6	+0,5

Примечания: (+) положительная корреляция микроэлемента и лизосомального фермента в миокарде, ($r = 0,42$, $p < 0,05$). А – содержание МЭ в сердечной мышце; В – содержание МЭ в сыворотке крови.

Известны многочисленные клинические и экспериментальные данные о повышенном содержании железа как факторе риска развития ИБС. Установлено, что существует прямая связь между высоким уровнем сывороточного железа и риском фатального исхода инфаркта миокарда [4]. Этот отрицательный эффект ионов железа связывается с его активным влиянием на процессы ПОЛ. Так, при повышении концентрации железа в плазме резко интенсифицируются процессы ПОЛ в самых различных тканях: сердце, печени, селезенке, самой плазме и т.д., что может приводить к повреждению лизосомальных мембран и утечке ЛзФ в плазму. Показано, что присутствие Fe^{2+} обязательно во всех системах образования активных радикалов кислорода из O_2 (митохондриальной, микросомальной, ксантиноксидазной и др).

Обращает на себя внимание относительное постоянство уровня цинка в миокарде у животных с ЭИМ. В динамике не зарегистрировано достоверных изменений данного показателя. По-видимому, этот факт связан с исключительной значимостью данного микроэлемента в защите кардиомиоцитов от повреждения. Значимость цинка связана с тем,

что он является активным центром цитозольного фермента супероксиддисмутаза, цинк принимает участие в реакции дисмутации O_2^- в H_2O_2 , выступая, таким образом, в качестве мощного антиоксиданта [5, 6]. Цинк улучшает восстановление функций миокарда после его искусственной остановки. Кроме этого, цинк, тормозя инактивацию оксида азота продуктами ПОЛ, косвенно выступает в качестве вазодилатора. [8, 9]. Цинк индуцирует экспрессию в клетках белков-металлотионеинов и белков-иммуофилинов (класса hsp – 70 (heat stress protein). Последние являются частью универсального механизма защиты клетки от стрессорных повреждений [7].

Список литературы

1. Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. – Новосибирск: Наука, 1991. – С. 198.
2. Маянский Д.Н. Лекции по клинической патологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
3. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение ишемических повреждений сердца. – М.: Медицина, 1994.
4. Антонов А.Р., Маянская Н.Н. Системные микроэлементозы. – Новосибирск: ЭКОР-КНИГА, 2006. – 72 с.
5. Белялов Ф.И. Инфаркт миокарда. – Иркутск, 2009. – 28 с.
6. Ольбинская Л.И., Литвицкий П.Ф. Коронарная и миокардиальная недостаточность. – М.: Медицина, 1986.
7. Куимов А.Д., Якобсон Г.С. Инфаркт миокарда. Клинические и патофизиологические аспекты. – Новосибирск, 1992.
8. Лабораторные методы исследования в клинике; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1997.
9. Melatonin protects against heart ischemia-reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening / G. Petrosillo, G. Colantuono, N. Moro, F.M. Ruggiero, E. Tiravanti, N. Di Venosa, T. Fiore, G. Paradies // J Physiol Heart Circ Physiol. – 2009 Oct; 297(4):H1487–93. Epub 2009 Aug 14.

References

1. Panin L.E., Mayanskaya N.N., *Lizosomy: rol' v adaptatsii i vosstanovlenii*. Novosibirsk: Nauka 1991. pp. 198.
2. Majanskij D.N. *Lekcii po klinicheskoi patologii*. M.: GJeOTAR-Media: 2008
3. Meerson F.Z. *Patogenez i preduprezhdenie ishemicheskikh povrezhdenij serdca*. Medicina: 1994
4. Antonov A.R., Majanskaja N.N., *Sistemnye mikroelementozy*. Novosibirsk: «JeKOR-KNIGA», 2006. 72 p.
5. Beljalov F.I. *Infarakt miokarda*. Irkutsk; 2009. 28 p.
6. Ol'binskaja L.I., Litvickij P.F. *Koronarnaja i miokardial'naja nedostatochnost'*. M.: Medicina; 1986
7. Kuimov A.D., Jakobson G.S. *Infarakt miokarda. Klinicheskie i patofiziologicheskie aspekty*. Novosibirsk; 1992.
8. *Laboratornye metody issledovaniya v klinike* (pod red. V.V. Men'shikova). M.: Medicina: 1997.
9. Petrosillo G., Colantuono G., Moro N., Ruggiero F.M., Tiravanti E., Di Venosa N., Fiore T., Paradies G. *J Physiol Heart Circ Physiol. Melatonin protects against heart ischemia-reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening*. 2009 Oct; 297(4):H1487–93. Epub 2009 Aug 14.

Рецензенты:

Чурляев Ю.А., д.м.н., профессор, директор филиала, который сотрудничает с ГОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Росздрава», ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия», с Кузбасским научным центром СО РАМН (г. Кемерово), ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск.

Ломиворотов В.Н., д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФГУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Росмедтехнологий, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 11.04.2012.

УДК 504.5:574.2

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ Г. САРАТОВА ПО ДАННЫМ ХИМИЧЕСКОГО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Быкова М.А., Абросимова О.В., Тихомирова Е.И., Макарова А.А.

*Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина,
Саратов, e-mail: ecology@sstu.ru*

Проведен анализ экологического состояния окружающей среды в г. Саратове на основе загрязнения снегового покрова химическими и биологическими загрязнителями. Оценена токсичность талых вод по отношению к биологическим тест-объектам: *Chlorella vulgaris* Beijer, *Daphnia magna* Straus, *Lemna minor* L. Высокие уровни загрязнения химическими загрязнителями характерны и для площадок, расположенных вблизи мощных промышленных предприятий, и для центральных районов города, в которых последние отсутствуют. На всей территории города зафиксирован повышенный уровень минерализации снегового покрова. Эффект подщелачивания отмечен в снеговом покрове вблизи промышленных зон предприятий. Численность микроорганизмов в снеговом покрове г. Саратова во много раз превышает фоновые значения. Среди микромикотов преобладают темноокрашенные формы. Максимальное количество микроорганизмов находится в верхнем слое снегового покрова. По отношению к биологическим тест-объектам показана высокая токсичность снегового покрова города.

Ключевые слова: экологический мониторинг, снеговой покров, химическое и микробиологическое загрязнение, биотестирование

INTEGRATED ASSESSMENT OF THE STATE OF THE ENVIRONMENT IN THE CITY OF SARATOV BASED ON CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION

Bykova M.A., Abrosimova O.V., Tikhomirova E.I., Makarova A.A.

Saratov State Technical University n.a. Y.A. Gagarin, Saratov, e-mail: ecology@sstu.ru

We conducted an analysis of the state of the environment in the city of Saratov based on chemical and biological contamination of the snow cover. We assessed toxicity of the melting snow runoff using the following biological test-subjects: *Chlorella vulgaris* Beijer, *Daphnia magna* Straus, and *Lemna minor* L. Although central parts of the city lack significant industrial impact, we found same high levels of chemical pollution there just as in the areas near large industrial enterprises. An increased mineralization of the snow cover was typical throughout the city whereas alkalization of the snow cover was detected mostly near industrial zones. Abundance of microorganisms in the snow cover in Saratov significantly exceeds the control values values. Micromycetes were dominated by dark-colored forms. Maximum densities of microorganisms were observed in the top layer of snow cover. Snow cover in the city was found to be highly toxic for all biological test-subjects.

Keywords: environmental monitoring, snow cover, chemical and microbiological pollution, bioassay

Промышленные зоны городов являются мощными источниками техногенных веществ, которые формируют городские потоки и внедряются в пригородные и региональные потоки. Интенсивная техногенная нагрузка в крупных городах обусловлена чрезмерной концентрацией промышленных производств, быстрым ростом численности транспортных средств, низким уровнем внедрения энергосберегающих и малоотходных технологий и рядом других экономических и социальных причин, негативно влияющих не только на городскую среду, но и на здоровье населения. Экологическая опасность загрязнения окружающей среды крупных промышленных городов и мегаполисов мира стала одной из актуальных проблем современности. Для оценки экологического состояния городов необходимо определение уровня и особенности распространения загрязняющих веществ во всех компонентах городского ландшафта (атмосферном воз-

духе, снеге, почвах, растениях, животных, водах), а также накопления этих веществ в организме людей [6].

Город Саратов является крупным развитым промышленным центром с высоким уровнем техногенного воздействия на окружающую среду. В Саратове сосредоточены предприятия химии, нефтехимии, нефтепереработки, стройиндустрии, машиностроения, энергетики, имеющие федеральное значение. Мозаичная картина размещения разных функциональных зон создает в городе комплексный характер загрязнений. Сложный ландшафтный узор города, наличие мощных и часто повторяющихся инверсий обуславливают низкий потенциал самоочищения атмосферы.

Целью данной работы является оценка экологического состояния окружающей среды на основе микробиологического и химического состава снегового покрова территории г. Саратова, определения токсичности талой воды методами биотестирования.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись пробы снегового покрова, отобранные на территории г. Саратова в феврале-марте 2010–2011 гг. в Заводском, Волжском и Фрунзенском районах со строгой картографической привязкой к местности (рис. 1). Были выбраны территории с разной степенью антропогенной нагрузки (территории вблизи промышленных предприятий, вдоль железных дорог, автомагистралей, социальных объектов, парка культуры и отдыха и т.д.). В качестве фоновой территории выбрана условно чистая пригородная зона в районе летнего оздоровительного лагеря «Ударник», находящегося в лесопарковой зоне.

Для микробиологического анализа пробы снега собирали по общепринятой методике в стерильную посуду. Посевы осуществляли в день отбора образцов по 0,1 мл талой воды поверхностным способом на

твердые питательные среды. Для выделения и количественного учета гетеротрофных микроорганизмов использовали ГРМ-агар, а для выделения микромицетов – среду Сабуро. Учет численности микроорганизмов производили на 3–7-е сутки и выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) в 1 мл талой воды [7]. Отбор проб для химико-аналитического исследования и биотестирования осуществляли методом конверта при помощи весового снегомера ВС-43. В талой снеговой воде определяли содержание тяжелых металлов (Cu, Fe, Zn, Ni, Cd, Pb, Co) методом пламенной атомно-абсорбционной спектрофотометрии в соответствии с ПНД Ф 14.1:2.214-06. Исследование выполняли на атомно-абсорбционном спектрофотометре марки WFX-120. Для оценки накопления тяжелых металлов и уровня их содержания использовали геохимические показатели: коэффициент концентрации (K_c) и суммарный показатель загрязнения (Z_c) в соответствии с МУ 2.1.7.730–99.

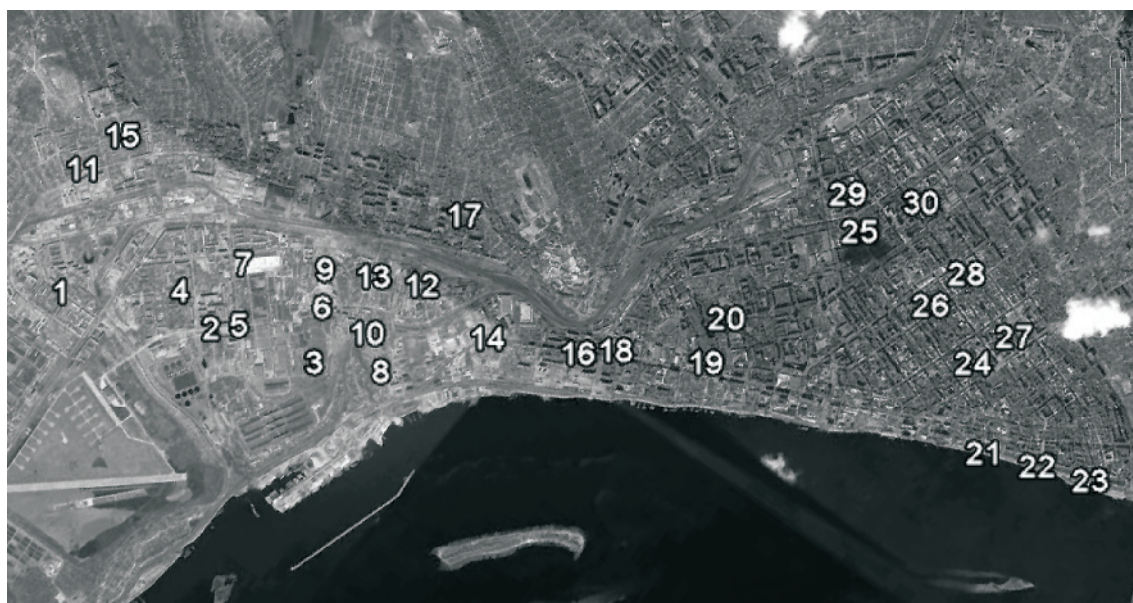


Рис. 1. Места отбора снеговых проб на территории г. Саратова

Макрокомпонентный состав (содержание хлорид-, сульфат- и нитрит-ионов) и водородный потенциал талой снеговой воды определяли в соответствии с руководством «Унифицированные методы анализа воды» [5]. Биотестирование снеговых проб осуществляли с помощью тест-объектов, принадлежащих к разным систематическим группам: *Chlorella vulgaris* Beijer, *Daphnia magna* Straus, *Lemna minor* L. по стандартным методикам [1, 2, 3]. Для получения сопоставимых результатов по итогам биотестирования рассчитывали индекс токсичности оцениваемого фактора (ИТФ) [4]. Обработку полученных данных проводили по общепринятым методикам с использованием t-критерия Стьюдента. Также использовали приложение Exel, Word из пакета Microsoft Office 2007, Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование снегового покрова на содержание тяжелых металлов, а именно меди, железа, цинка, никеля, кадмия, свинца, кобальта проводилось по всей толще

снегового покрова. В пробах снегового покрова, отобранных на выбранной пригородной фоновой территории, содержание меди составило 0,01 мг/дм³, железа – 0,02 мг/дм³, цинка – 0,02 мг/дм³, никеля, кадмия, свинца и кобальта обнаружено не было. В среднем для снега, отобранного в пределах г. Саратова, характерно повышение концентраций тяжелых металлов по сравнению с фоновой территорией. Во всех отобранных пробах на территории г. Саратова кобальта обнаружено не было. Превышения тяжелых металлов относительно фоновой территории составляют: Cu (0,7–1,6), Fe (0,5–2), Zn (0,5–2,5), Ni (38–150), Cd (1–10), Pb (1–2). Максимальные превышения характерны для никеля. Уровень загрязнения на всей территории города выше фоновых. Картина распределения загрязнения по никелю носит монотонный характер с выделением локальных пятен с высоким уровнем за-

грязнения. Характер загрязнения по свинцу и кадмию имеет ярко выраженный пятнистый рисунок. Максимальные концентрации Cd и Pb обнаружены в Заводском районе. В целом для меди и железа характерно наличие нескольких ядер повышенного загрязнения в центре города с превышением в 160 раз. Сложный орнамент зафиксирован в распределении уровня загрязнения по цинку. С одной стороны, содержание цинка практически во всех пробах снега, собранных на территории города, было выше контроля. Исключением являются многочисленные площадки, расположенные в зонах отдыха города. По суммарному показателю загрязнения территории города тяжелыми металлами в снеговом покрове лидируют площадки в Детском парке и на Театральной площади. Вероятнее всего, это обусловлено эффектом «острова тепла» и формированием специфической циркуляции воздуха в городах. Многократные выбросы оксидов в воздушный бассейн обусловили необходимость исследования снеговой (талой) воды на показатель pH, содержание хлорид-, сульфат- и нитрит-ионов. Значения pH в пробах талого снега изменялись в диапазоне слабокислых и умеренно-щелочных значений от 5,6 до 7,2 единиц. Значение pH снежного покрова условно чистой зоны составило 6,1 единиц. Эффект подщелачивания (pH = 7,19–7,20) отмечен в пробах талых вод, отобранных вблизи Саратовского авиационного завода, на территории Детского парка. Содержание анионов в снеговом покрове фоновой территории составило: Cl^- – 8,1 мг/л, SO_4^{2-} – 5,14 мг/л, NO_2^- – 0,03 мг/л. Концентрация хлоридов в исследуемых пробах снега изменялась в пределах от 3,55 до 68,16 мг/л. Максимальное превышение контрольных значений составило 8,5 раза, и было зафиксиро-

вано в пробах, собранных вблизи крупных автомагистралей. Концентрация сульфатов в исследуемых пробах составила от 2,8 до 95 мг/л. Максимальные значения обнаружены в пробах, собранных в районе Набережной города и вблизи автомагистралей. Нитриты в исследуемых пробах измерялись в диапазоне от 0,4 до 2 мг/л. Наибольшие концентрации нитритов зарегистрированы в пробах, отобранных в Заводском районе города. Максимальные значения содержания всех исследуемых анионов зафиксированы в пробах, отобранных на территории Заводского района.

Оценку численности гетеротрофных микроорганизмов и микромицетов в снеговом покрове г. Саратова осуществляли по всей глубине снегового покрова. Количество гетеротрофных микроорганизмов в снеговом покрове фоновой территории составило 1210 КОЕ/мл, микромицетов – 125 КОЕ/мл. При сравнительном количественном анализе гетеротрофных микроорганизмов (рис. 2) наибольшее число КОЕ зафиксировано в пробах, собранных вблизи промышленных зон предприятий в Заводском районе, на территории Детского парка и Театральной площади г. Саратова. Интересен характер распространения микроорганизмов по глубине снежного покрова: практически во всех отобранных пробах максимальные значения были зафиксированы в верхних слоях снегостава. Превышение по отношению к фону в верхнем 10-сантиметровом слое снега составило в Детском парке и на Театральной площади в 12 раз, в промзоне Заводского района в 9 раз. Следует отметить, что в этих же точках зафиксированы максимальные значения по всей глубине снегостава. Во всех пробах доминировали бактерии рода *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*.

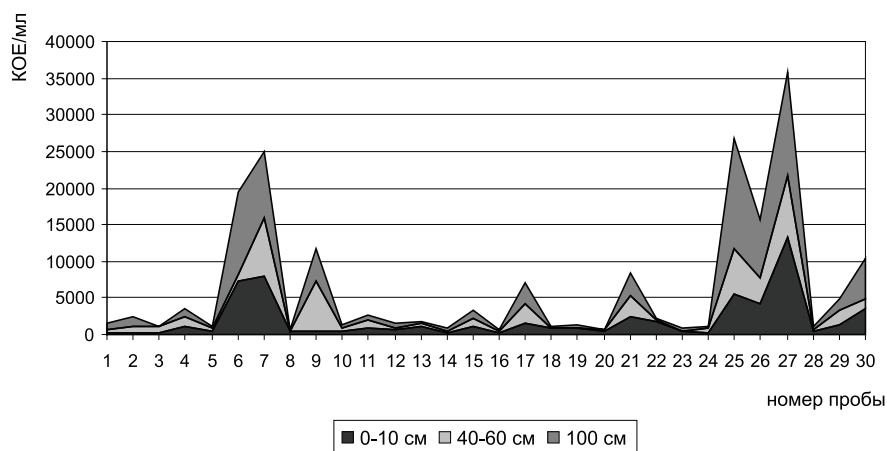


Рис. 2 Содержание микроорганизмов по глубине в снеговых пробах

Анализ содержания микромицетов выявил сходное с гетеротрофными микроорганизмами распределение обилия по глубине снегового покрова, их количество варьировалось в интервале от 50 до 7000 КОЕ/мл, что было ниже показателей, полученных для бактерий. Наибольшая степень микологического загрязнения – превышение составило в 55 раз – установлена на тех же территориях, что и для гетеротрофных микроорганизмов. Во всех пробах доминировали дрожжеподобные грибы, в том числе рода *Candida*. В промышленных районах и вблизи крупных автомагистралей преобладали микромицеты с темным цветом пигмента, что можно объяснить их резистентностью к ультрафиолетовому излучению и тяжелым металлам.

Следующим этапом работы стало проведение биотестирования с целью определения токсичности снеговых проб. По результатам биотестирования снеговых проб с помощью термофильного штамма одноклеточной зеленой водоросли *C. vulgaris* была установлена гипертоксичность проб, собранных в Заводском районе г. Саратова, в частности вблизи Авиационного завода, а также некоторых проб, отобранных в центре города вблизи автомобильных дорог. Токсичными оказались пробы снегового по-

крова, отобранные на Набережной Космонавтов. Нетоксичными и слаботоксичными были пробы, отобранные в пешеходных зонах улиц и в жилой зоне города. При оценке токсичности проб снега при помощи тест-объекта *L. minor* практически во всех исследуемых пробах были отмечены морфологические отклонения биотеста уже на вторые сутки: окраска листочков менялась до светло-зеленой, желтой и белой. Зеленый цвет листочков сохранился в пробах, собранных в жилых зонах Заводского района. В этих же пробах было зафиксировано удвоение листочков.

При исследовании проб снегового покрова с помощью тест-объекта *D. magna* Straus установлено, что все пробы оказывали неблагоприятное или губительное действие на организм: снижение численности или гибель тест-объекта. Для получения сопоставимых результатов по итогам биотестирования определили ИТФ, данные представлены на рис. 3. Все пробы, собранные на территории города, оказывали острое токсичное воздействие на тест-организмы. По итогам тестирования, самой неблагоприятной оказалась территория вблизи промышленной зоны Саратовского авиационного завода (наблюдалась гибель всех тест-объектов).

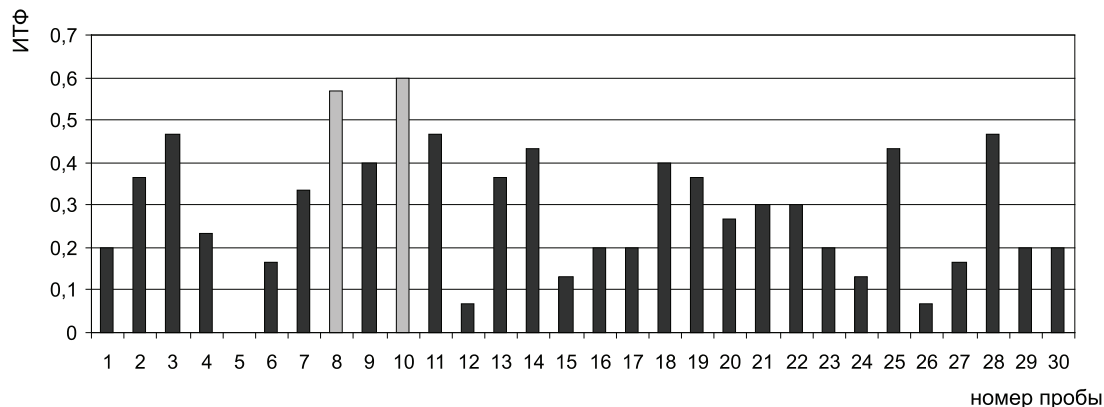


Рис. 3. Значения ИТФ проб снега, собранных на территории г. Саратова (менее 0,5 – высокая токсичность; 0,5–0,7 – средняя токсичность)

Заключение

Проведенные нами исследования показали, что для территории г. Саратова характерно не только химическое, но и микробиологическое загрязнение. Рисунок распределения химических загрязнителей в городе очень сложный, что обусловлено как архитектурно-планировочной композицией города, так и географическими условиями, особенностями параметров источников выбросов и т.п. Высокие уровни загрязнения характерны и для площадок, расположенных вблизи мощных промыш-

ленных предприятий, и для центральных районов города, в которых последние отсутствуют. На всей территории города зафиксирован повышенный уровень минерализации снегового покрова. Участки с высоким уровнем минерализации линейно вытянуты и приурочены к мощным транспортным магистралям. Изменение химического состава снеговой воды приводит к увеличению токсичности проб снега по отношению к биологическим тест-объектам. Снеговая вода оказалась токсичной для всех групп тест-объектов.

Одновременное присутствие в снеге целого ряда тяжелых металлов, изменение кислотности талой воды, увеличение минерализации снеговой воды способствовали изменению микробных сообществ по разнообразию и численности. Максимальное количество микроорганизмов находится в верхнем слое снегового покрова. Среди микромицетов преобладают темноокрашенные виды. Проведенный нами комплексный анализ состояния воздушной среды в городе, по данным снеговых съемок, показал высокий уровень изменения окружающей среды, что, несомненно, оказывает влияние как на здоровье населения г. Саратова, так и на качество воды р. Волги.

Список литературы

1. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие / О.П. Мелехова, Е.И. Сарапульцева, Т.И. Евсеева и др.; под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Сарапульцевой. – М.: Академия, 2008. – 288 с.
2. Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности водных вытяжек из почв, осадков, сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. – Красноярск: КрaсГУ 2006. – 46 с.
3. Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer). – Красноярск: КрaсГУ 2004. – 19 с.
4. Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. – 1997. – № 6. – С. 408–411.
5. Лурье Ю.Ю. Унифицированные методы анализа вод. – М.: Химия, 1973. – 376 с.
6. Макаров В.З. Ландшафтно-экологический анализ крупного промышленного города / под ред. Ю.П. Селиверстова. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2001. – 176 с.
7. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.

References

1. *Biologicheskij kontrol' okruzhajuwej sredy: bioindikacija i biotestirovanie* [Manual on biological control of the environment: bioindication and bioassay] / O.P. Melekhova, E.I. Sarapul'ceva, T.I. Evseeva and other; edited by O.P. Melekhova, E.I. Sarapul'ceva, M., Akademia, 2008. 288 p.
2. Grigor'ev J.S. *Metodika opredelenija toksichnosti vodnyh vytjazhek iz pochv, osadkov, stochnyh vod i othodov, pitevoj, stochnoj i prirodnoj vody po smertnosti test-obekta Daphnia magna* Straus [Methods of assessment of toxicity of soil water, rainwater, sewage water, and drinking water based on mortality of the test subject, *Daphnia magna* Straus]. Krasnojarsk, KrasGU 2006. 46 p.
3. Grigor'ev J.S. *Metodika opredelenija toksichnosti prob poverhnostnyh presnyh, gruntovyh, pit'evyh, stochnyh vod, vodnyh vytjazhek iz pochvy, osadkov stochnyh vod i othodov po izmeneniju opticheskoy plotnosti kul'tury vodorosli hlorella (Chlorella vulgaris* Beijer) [Methods of assessment of toxicity of surface freshwater, groundwater, drinking water, sewage, soil water, and rainwater based on changes in optical density of *Chlorella* algae (*Chlorella vulgaris* Beijer)]. Krasnojarsk, KrasGU 2004. 19 p.
4. Kabirov P.P., Sagitova A.R., Sukhanova N.V. *The development and use of multi-component test system to assess the toxicity of soil cover of the urban area*. Ecology. 1997, no 6, pp. 408-411.
5. JJ Lurie, *Unificirovannye metody analiza vod* [Standardized methods of water analysis]. M.: Himija, 1973. 376 p.
6. Makarov V.Z. *Landshaftno-jekologicheskij analiz крупного промышленного города* [An analysis of landscapes and ecological condition of a major industrial city] / edited by J.P. Seliverstov. Saratov, 2001. 176 p.
7. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on microbiology] / A.I. Netrusov, M.A. Egorova, L.M. Zakharchuk and other edited by A.I. Netrusov, M.: Akademia, 2005. 608 p.

Рецензенты:

Сергеева И.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой ботаники и экологии Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, г. Саратов;

Макаров В.З., д.г.н., профессор, зав. кафедрой физической географии и ландшафтной экологии, декан географического факультета НИУ СГУ им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 09.04.2012.

УДК 636.92.082 (571.13)

ИНТЕРЬЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ КРОЛЬЧАТ РАЗНОГО ВОЗРАСТА**Ефремов А.П., Мартынов П.Н.***ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»,
Омск, e-mail: nnniko@mail.ru*

В статье подвергнуты анализу и обсуждению гематологические показатели, как один из методов изучения интерьера животных. Показатели, характеризующие интерьер, дают возможность установить относительное развитие в онтогенезе органов, тканей и систем и на основе этого познать внутреннюю структуру организма; конституциональные особенности на основании изучения физиологических и биохимических свойств организма; течение формообразовательных процессов на различных этапах индивидуального развития и факторы, воздействующие на них. Методы исследования в современной биологической науке значительно усложнились и стали более глубокими. В связи с внедрением прогрессивных технологий производства продуктов животноводства большое значение приобретает изучение интерьера в новых условиях кормления содержания и эксплуатации животных, подверженных многим стрессам. Проведённые исследования по изучению различий в биохимическом и морфологическом составе крови показали, что по морфологическим показателям крови выгодно отличался молодняк породы Советская шиншилла, тогда как сверстники пород Белый великан, Серебристый и Калифорнийский, хотя и имели показатели крови в пределах физиологической нормы, несколько им уступали.

Ключевые слова: кролики, Советская шиншилла, Белый великан, Серебристый, Калифорнийский, кровь, морфология, биохимия, эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, белок, фракции белковые, альбумин, глобулин, белковый коэффициент, резервная щёлочность, резистентность

INTERIOR OF DIFFERENT AGE DIFFERENCES RABBITS**Efremov A.P., Martynov P.N.***FGBOU VPO «Omsk State Agrarian University, PA Stolypin», Omsk, e-mail: nnniko@mail.ru*

This article subject to analysis and discussion of haematological parameters, as one of the methods for studying the interior of the animals. Indicators characterizing the interior, provide an opportunity to establish the relative development in the ontogeny of organs, tissues and systems, and on this basis to know the internal structure of the body; constitutional features based on the study of physiological and biochemical properties of the organism during the formative processes at different stages of individual development and the factors affecting them. Methods of research in modern biology is much more complex and become more profound. In connection with the introduction of progressive technologies of livestock products of great importance to study interior design in the new maintenance and operation of feeding the animals exposed to many stresses. Conducted a study on the differences in the biochemical and morphological composition of the blood showed that the morphological parameters of blood compared favorably Soviet Chinchilla breed of young, whereas the giant white rock peers, Silver, and California, though, showed blood within the physiological norm, they conceded a few.

Keywords: rabbits, Soviet Chinchilla, Giant White, Silver, California, the blood, morphology, biochemistry, erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, protein, protein fractions, albumin, globulin, a protein factor, hemoglobin, reserve alkalinity resistance

Изучение интерьера даёт возможность установить относительное развитие в онтогенезе органов, тканей и систем и на основе этого познать внутреннюю структуру организма; конституциональные особенности на основании изучения физиологических и биохимических свойств организма; течение формообразовательных процессов на различных этапах индивидуального развития и факторы, воздействующие на них.

В настоящее время для изучения интерьера используют физиологический, химический, цитомолекулярный, биохимический, генетический, рентгенологический и иммуногенетический методы.

Методы изучения интерьера и клинической диагностики во многом совпадают. Различия состоят в целях исследования. Интерьерные показатели в зоотехнии необходимы для более глубокого познания конституции, для уточнения племенной

оценки, отбора, подбора и рационального использования животных. При этом исследуют морфо-биологические свойства крови.

Методы исследования в современной биологической науке значительно усложнились и стали более глубокими. В связи с внедрением прогрессивных технологий производства продуктов животноводства большое значение приобретает изучение интерьера в новых условиях кормления, содержания и эксплуатации животных, подверженных многим стрессам.

Кровь включает две части жидкой среды – плазму и взвешенные в ней ферментные элементы, которые в основном состоят из эритроцитов и, по данным Коржуева П.А., [3] последние составляют 95% общего числа кровяных клеток.

Количество эритроцитов согласно исследованиям многочисленных авторов (Карпуть Н.М. [2], Гольдберг Д.И., Гольд-

берг Е.Д. [1], Кудрявцева А.А. и др. [4, 5] и др.) с возрастом меняется. В среднем у кроликов считается нормой содержание эритроцитов в 1 мм³ крови в пределах 5,0–5,8%. Однако в первый месяц жизни этот показатель значительно ниже, а с увеличением возраста также повышается и к 4–5-месячному возрасту приходит в норму.

Для сравнения показателей крови животных изучаемых пород мы использовали биохимический и морфологический методы исследования крови для кроликов, рекомендованные профессором Карпутъ И.М. [2]. По этому методу для полного морфологического исследования крови достаточно получить её несколько капель. Необходимо соблюдать только одно условие: кровь

должна быть свежей. Кровь у животных брали из кровеносных сосудов уха.

В первый месяц жизни количество эритроцитов в крови крольчат значительно ниже нормы, но с увеличением возраста повышается и к 4-месячному возрасту приходит в соответствие с нормой. Так, в месячном возрасте количество эритроцитов в 1 мм³ во всех группах было ниже физиологической нормы на 35,0–37,8%. К четырёхмесячному возрасту в группах молодняка пород Белый великан и Серебристый количество эритроцитов в единице объёма уже соответствовало физиологической норме и составило 5,52 и 5,47 млн/мм³, тогда как во второй и четвёртой группах этот показатель был выше нормы на 9,83 и 9,21% соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Морфологические показатели крови крольчат

Порода	Показатели	Возраст, дн.			
		30	60	90	120
Белый великан	Эритроциты, млн/мм ³	3,1 ± 0,11	3,2 ± 0,10	4,2 ± 0,10	5,5 ± 0,25
	Лейкоциты, тыс. шт.	6,8 ± 0,16	5,0 ± 0,18	6,6 ± 0,14	7,5 ± 0,12
	Гемоглобин, г%	12,1 ± 0,021	9,9 ± 0,17	9,3 ± 0,12	9,7 ± 0,24
Советская шиншилла	Эритроциты, млн/мм ³	4,3 ± 0,30	6,0 ± 0,97	5,5 ± 0,24	6,4 ± 0,29
	Лейкоциты, тыс. шт.	6,7 ± 0,29	6,6 ± 0,74	6,3 ± 0,19	7,6 ± 0,12
	Гемоглобин, г%	10,9 ± 0,26	12,6 ± 0,46	4,9 ± 0,26	15,1 ± 0,17
Серебристый	Эритроциты, млн/мм ³	4,2 ± 0,13	4,9 ± 0,14	5,1 ± 0,14	5,5 ± 0,09
	Лейкоциты, тыс. шт.	7,4 ± 0,16	7,9 ± 0,10	5,5 ± 0,14	5,6 ± 0,10
	Гемоглобин, г%	10,2 ± 0,32	10,1 ± 0,26	13,4 ± 0,22	12,4 ± 0,14
Калифорнийский	Эритроциты, млн/мм ³	4,8 ± 0,24	4,3 ± 0,16	5,4 ± 0,17	5,5 ± 0,27
	Лейкоциты, тыс. шт.	7,0 ± 0,12	6,7 ± 0,11	6,2 ± 0,17	5,9 ± 0,10
	Гемоглобин, г%	10,4 ± 0,30	10,7 ± 0,16	12,4 ± 0,23	12,7 ± 0,13

В крови взрослых животных варьирование лейкоцитов считается нормальным в пределах от 6 до 12 тыс. в 1 мм³. Средние показатели лейкоцитов в крови опытных животных во все возрастные периоды в основном находились в пределах физиологической нормы.

Молекула гемоглобина состоит из двух частей: белка – глобина и гемма – небелковой части (простатической группы). Глобин составляет 98% молекулы. Содержание гемоглобина в крови взрослых животных в среднем составляет 11,7 г/л. у молодняка кроликов всех пород этот показатель несколько повышен и его колебания составили от 9,30 до 15,13 г/л. однако, достоверные различия ($P \leq 0,05$) обнаружены по исследуемому показателю только между сверстниками пород Советская шиншилла и Серебристый.

В плазме крови кроликов белков содержится от 6 до 8% (табл. 2). Белки плазмы выполняют самые разнообразные функции. При интенсивном росте, сухости, лак-

тации, а также при заболеваниях животных соотношение белковых фракций меняется. С возрастом животных сыворотка крови обогащается глобулинами и параллельно с этим снижается содержание альбуминов. Изменение белкового спектра может быть спровоцировано переменой кормления животных. По количеству общего белка в сыворотке крови кроликов всех возрастов наблюдалось соответствие физиологическим нормам. Варьирование данного показателя у молодых животных составило от 6,00 до 7,49%. Физиологической нормой содержания альбуминов в сыворотке крови кроликов считается их варьирование от 3,79 до 5,06%, а глобулинов от 2,21 до 2,94%. У подопытных животных всех групп в разные возрастные периоды содержание белковых исследуемых фракций соответствовало в основном физиологическим нормам, за исключением молодняка пород Белый великан и Советская шиншилла в отдельные возрастные периоды. Немаловажным показателем физиологического состояния

организма является белковый коэффициент (А/Г), то есть отношение содержания в сыворотке крови альбуминов к глобулинам. Незначительное повышение этого показателя отмечено в трёхмесячном возрасте во всех группах, вероятнее всего, такое увеличение значения белкового коэффициента связано с повышением уровня иммунной резистентности животных. Это объясняется прекращением поступления иммунных тел с молоком матери и начинает работать своя иммунная система. Одновременно с повышением значения А/Г у животных всех групп в указанном возрасте за исключением крольчат пород Серебристый и Калифорнийский отмечено падение интенсивности

роста в абсолютных показателях. Исследование биохимических и морфологических показателей крови проводилось в клинической лаборатории. В сыворотке крови из всех веществ сухого остатка больше всего содержится белка, который состоит из альбуминов и глобулинов. Белки плазмы крови кроликов выполняют разнообразные функции. При интенсивном росте, беременности, лактации, а также при группировании животных соотношение белковых фракций меняется. С возрастом животных сыворотка крови обогащается глобулинами и параллельно с этим снижается содержание альбуминов. Изменение белкового спектра вызывается переменной кормления животных.

Таблица 2

Содержание белков в сыворотке крови, г %

Порода	Показатель	Возраст, дн.			
		30	60	90	120
Белый великан	Общий белок	6,01 ± 0,02	6,00 ± 0,07	7,35 ± 0,19	7,26 ± 0,13
	Альбумины	3,56 ± 0,14	3,5 ± 0,08	5,32 ± 0,23	5,16 ± 0,07
	Глобулины	2,45 ± 0,13	2,45 ± 0,09	2,03 ± 0,03	2,10 ± 0,06
	А/Г	1,45 ± 0,06	1,45 ± 0,02	2,62 ± 0,08	2,46 ± 0,08
Советская шиншилла	Общий белок	6,06 ± 0,12	6,28 ± 0,10	7,49 ± 0,20	6,74 ± 0,11
	Альбумины	3,62 ± 0,08	3,89 ± 0,07	5,53 ± 0,07	4,48 ± 0,11
	Глобулины	2,44 ± 0,09	2,39 ± 0,12	2,96 ± 0,08	2,26 ± 0,15
	А/Г	1,48 ± 0,04	1,63 ± 0,02	2,82 ± 0,05	1,98 ± 0,03
Серебристый	Общий белок	6,00 ± 0,19	6,04 ± 0,07	6,57 ± 0,08	6,48 ± 0,14
	Альбумины	3,55 ± 0,05	3,60 ± 0,10	4,26 ± 0,07	4,13 ± 0,09
	Глобулины	2,45 ± 0,05	2,44 ± 0,16	2,31 ± 0,06	2,35 ± 0,11
	А/Г	1,45 ± 0,07	1,48 ± 0,06	1,95 ± 0,07	1,76 ± 0,04
Калифорнийский	Общий белок	5,98 ± 0,12	6,11 ± 0,18	6,97 ± 0,11	6,50 ± 0,18
	Альбумины	3,48 ± 0,07	3,52 ± 0,09	4,31 ± 0,15	3,97 ± 0,09
	Глобулины	2,50 ± 0,11	2,59 ± 0,08	2,66 ± 0,10	2,53 ± 0,10
	А/Г	1,37 ± 0,07	1,29 ± 0,10	1,62 ± 0,08	1,53 ± 0,08

Количество общего белка в сыворотке крови кроликов 30-дневного возраста была чуть ниже нормы, однако с возрастом этот показатель выравнился и составил к 120-дневному возрасту – 67,3%, что соответствует физиологической норме здорового взрослого кролика.

Статистически достоверные различия по содержанию общего белка в сыворотке крови крольчат обнаружены в возрасте 120 дней между группами Белый великан и Калифорнийский, Белый великан и Серебристый ($P < 0,05$).

Физиологической нормой содержания альбуминов в крови кроликов считается их колебание 55–65%, а глобулинов соответственно 8–12%. Содержание глобулинов у кроликов всех пород с возрастом приближается к норме, а содержание альбуминов соответствует физиологической норме.

По содержанию альбуминов достоверные различия между изучаемыми породами обнаружены в возрасте 60 и 90 дн. ($P < 0,05...0,001$).

По содержанию глобулинов достоверные различия обнаружены в эти же возрастные периоды, разница статистически достоверна ($P < 0,01...0,001$).

Немаловажным показателем физиологического состояния организма является белковый коэффициент (А/Г), т.е. отношение содержания альбуминов и глобулинов.

Некоторое повышение этого показателя во всех группах в трехмесячном возрасте, вероятнее всего, связано с повышением иммунной резистентности животных, когда прекращается поступление иммунных тел с молоком матери и начинает работать своя иммунная система.

Углеводы играют важную роль в энергетическом балансе организма. Из углеводов основным источником энергии в организме является глюкоза (виноградный сахар). Физиологическая норма 4,16–5,27 ммоль/л. С возрастом эти показатели приближаются к норме. Количество сахара у 30-дневных кроликов чуть ниже нормы, однако с увеличением их возраста и способностью поедать корм, содержащий углеводы, его содержание увеличивается. Достоверные различия ($P < 0,05$) по содержанию сахара в крови животных обнаружены только в 3-х месячном возрасте между группами Белый великан и Серебристый.

Гемоглобин – сложное химическое соединение, находящееся в эритроцитах. Его содержание в крови кроликов составляет 10,5–12,5 г/мл.

Достоверные различия по содержанию гемоглобина в крови крольчат изучаемых пород обнаружены во все возрастные периоды, причем в возрасте 90 и 120 дней достоверные различия были по данным по-

казателям между группами пород Калифорнийский и Серебристый ($P < 0,01...0,001$).

Основное физиологическое значение кальция в организме заключается в том, что он входит в состав минеральной части костей, участвует в процессе свертывания крови; повышает защитные функции организма. Физиологической нормой содержания кальция является 2,12–26,8 ммоль/л. У кроликов месячного возраста этот показатель чуть ниже, но с возрастом содержание кальция приближается к физиологической норме.

Фосфор относится к числу наиболее физиологически активных и необходимых элементов для жизнедеятельности организма животных. Значение фосфора в организме обусловлено тем, что он в большом количестве содержится в костной ткани, где служит вместе с кальцием пластическим материалом костей. Физиологической нормой является 0,81–1,13 ммоль/л. Содержание фосфора в крови у кроликов соответствует физиологической норме.

Таблица 3

Динамика биохимических показателей крови кроликов породы Белый великан, Калифорнийский и Серебристый

Показатели крови	Возраст, дн.			
	30	60	90	120
<i>Белый великан</i>				
1. Общий белок, г/л	57,5 ± 0,11	58,2 ± 0,08	59,9 ± 0,08	67,3 ± 2,21
2. Альбумины, %	45,2 ± 0,08	46,2 ± 0,16	47,9 ± 0,22	47,9 ± 2,62
3. Глобулины, %	9,5 ± 0,08	9,6 ± 0,12	10,8 ± 0,17	12,7 ± 0,23
4. Сахар, ммоль /л	3,1 ± 0,08	3,3 ± 0,08	4,0 ± 0,09	4,7 ± 0,13
5. Гемоглобин, г/100 мл	11,8 ± 0,06	9,6 ± 0,14	9,2 ± 0,09	10,9 ± 0,08
6. Кальций, ммоль /л	1,6 ± 0,07	1,6 ± 0,07	2,1 ± 0,06	2,5 ± 0,03
7. Фосфор, ммоль / л	0,7 ± 0,01	0,8 ± 0,008	0,9 ± 0,004	1,0 ± 0,03
<i>Калифорнийский</i>				
1. Общий белок, г/л	57,3 ± 0,13	58,2 ± 0,13	59,3 ± 0,13	61,4 ± 0,31
2. Альбумины, %	45,3 ± 0,21	45,7 ± 0,07	46,5 ± 0,18	48,1 ± 0,13
3. Глобулины, %	9,5 ± 0,09	9,6 ± 0,08	9,9 ± 0,06	11,6 ± 0,14
4. Сахар, ммоль /л	3,2 ± 0,08	3,6 ± 0,08	4,4 ± 0,13	4,8 ± 0,09
5. Гемоглобин, г/100 мл	10,2 ± 0,08	10,9 ± 0,09	11,8 ± 0,13	13,1 ± 0,09
6. Кальций, ммоль /л	1,6 ± 0,08	1,8 ± 0,04	2,2 ± 0,07	2,3 ± 0,07
7. Фосфор, ммоль / л	0,7 ± 0,004	0,8 ± 0,008	0,9 ± 0,008	1,0 ± 0,02
<i>Серебристый</i>				
1. Общий белок, г/л	57,5 ± 0,15	58,2 ± 0,27	59,2 ± 0,16	61,0 ± 0,39
2. Альбумины, %	45,4 ± 0,13	46,2 ± 0,12	47,6 ± 0,13	48,2 ± 0,14
3. Глобулины, %	9,5 ± 0,1	9,5 ± 0,13	10,2 ± 0,15	11,4 ± 0,19
4. Сахар, ммоль /л	3,2 ± 0,08	3,6 ± 0,11	4,5 ± 0,14	4,9 ± 0,08
5. Гемоглобин, г/100 мл	10,3 ± 0,13	10,9 ± 0,23	13,1 ± 0,11	12,6 ± 0,13
6. Кальций, ммоль /л	1,5 ± 0,08	1,6 ± 0,12	2,3 ± 0,14	2,4 ± 0,08
7. Фосфор, ммоль / л	0,7 ± 0,008	0,8 ± 0,004	0,9 ± 0,008	1,1 ± 0,05

Таким образом, проведённые исследования по изучению различий в биохимическом и морфологическом составе крови показали, что по морфологическим показателям крови выгодно отличался молодняк породы Советская шиншилла, тогда как сверстники пород Белый великан, Серебристый и Калифорнийский, хотя и имели показатели крови в пределах физиологической нормы, несколько им уступали.

По общему содержанию белков в крови, преимущество отмечено у молодняка породы Белый великан, у них же отмечено и наибольшее значение белкового коэффициента, что свидетельствует об их повышенной устойчивости против отрицательных воздействий внешней среды.

Список литературы

1. Гольдберг, Д.И. Гематология животных / Д.И. Гольдберг, Е.Д. Гольдберг, Н.Т. Шубин. – Томск: Изд-во ТГУ, 1973. – 182 с.
2. Карпут И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Минск: Ураджай, 1986. – 183 с., ил.
3. Коржув П.А. Гемоглобин. – М.: Наука, 1964. – 207 с.
4. Кудрявцева А.А. Гематология животных и рыб / А.А. Кудрявцева, Л.А. Кудрявцева, Т.И. Привольнов. – М.: Колос, 1964. – 320 с.
5. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Кирилов, А.Г. Малахов и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.

References

1. A. Goldberg D. Hematology animals / D.I. Goldberg, E.D. Goldberg, N.T. Shubin. Tomsk: Publishing House of Tomsk State University, 1973. 182 p.
2. Two. Karput, I. Hematology Atlas of Farm Animals / I.M. Karput. Minsk: Uradzhay, 1986. 183 p., Ill.
3. Three. Korzhuyev, PA Hemoglobin. / PA Korzhuyev. Moscow: Nauka, 1964. 207 p.
4. Kudryavtsev AA Hematology animals and fish / A.A. Kudryavtseva, L.A. Kudryavtseva, T.I. Freely. M.: Kolos, 1964. 320 p.
5. Clinical laboratory diagnostics in veterinary medicine: Reference book / I.P. Kondrakhin, NV Kirilov, G.A. Malakhov, and others M.: Agropromizdat, 1985. 287 p.

Рецензенты:

Погребняк М.П., д.с.-х.н., профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов животноводства и гигиены с.-х. животных Института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина», г. Омск;

Калиненко Н.А., д.с.-х.н., профессор кафедры социально-экономической географии и туризма ФГБОУ ВПО «Омский государственный педагогический университет».

Работа поступила в редакцию 09.04.2012.

УДК 581.192

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛЫНЕЙ В КУЛЬТУРЕ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМ. ПРОФ. Б.М. КОЗО-ПОЛЯНСКОГО ВОРОНЕЖСКОГО ГОСУНИВЕРСИТЕТА

¹Землянухина О.А., ²Калаев В.Н., ²Лепешкина Л.А., ¹Карпеченко К.А.,
¹Вепринцев В.Н., ²Серикова В.И.

¹ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции»,
Воронеж, e-mail: victoria.semenova@gmail.com;

²Ботанический сад им. проф. Б.М. Козо-Полянского ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Проведен анализ результатов физиолого-биохимического исследования представителей рода полынь: полынь широколистная (*Artemisia litifolia* Ledeb.), полынь армянская (*Artemisia armeniaca* Lam.), полынь беловойлочная (*Artemisia hololeuca* Bieb. ex Bess.), полынь эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.) и полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris* L.), культивируемых в ботаническом саду им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета. Активность пероксидазы определяли в реакции окисления бензидина, рассчитывали удельную активность фермента, изоферментный анализ проводили по методу Девиса, количественное содержание белка определяли по методу Бредфорда. Выявлены закономерности распределения активности ферментов у видов полыни, определена активность пероксидазы, получены результаты изоферментного анализа. Установлены возможности использования пероксидазы в качестве маркера стрессового состояния энергетического метаболизма. Создана 5-балльная шкала устойчивости видов полыни в условиях культуры. Наиболее приспособленной к условиям культивирования является полынь обыкновенная, наименее – полынь беловойлочная.

Ключевые слова: распределение активности ферментов, изоферментный спектр, пероксидаза, адаптация

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME SPECIES OF ARTEMISIA IN THE CULTURE OF BOTANICAL GARDEN OF VORONEZH STATE UNIVERSITY

¹Zemlyanuhina O.A., ²Kalaev V.N., ²Lepeshkina L.A., ¹Karpechenko K.A.,
¹Vepintsev V.N., ²Serikova V.I.

¹Research Institute of Forest Genetics and Plant Breeding, Voronezh,
e-mail: victoria.semenova@gmail.com;

²Botanical garden of Voronezh state university by the name of professor
B.M. Kozo-Polyansky, Voronezh, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

The results of physiological and biochemical study of the genus *Artemisia* is analyzed. Some species are cultivated in the Botanical garden of the Voronezh state university. Among them *Artemisia latifolia* Ledeb., *Artemisia armeniaca* Lam., *Artemisia hololeuca* Bieb. ex Bess., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L. Peroxidase activity in the oxidation of benzidine is defined. The specific activity of enzyme is calculated. The isofermental analysis was performed by the method of Devis. Quantify the protein content is determined by the method of Bredford. The features of the distribution of enzyme activity in different species of *Artemisia* are founded. The results of the isofermental analysis are obtained. The possibilities of using of peroxidase as a stress marker in energy metabolism are established. The five-point scale of stability of the cultivated species of *Artemisia* is created. According to research the most sustainable species of cultivated *Artemisia* is *Artemisia vulgaris* L. and the least one is *Artemisia hololeuca* Bieb. ex Bess.

Keywords: distribution of enzyme activity, isozyme range, peroxidase, adaptation

Виды рода полынь (*Artemisia*) широко распространены в умеренных широтах Голарктики и давно используются как лекарственные, пищевые, пряно-ароматические, эфиромасличные и инсектицидные растения.

Во флоре Центрального Черноземья насчитывается 13 видов полыней, в том числе 8 видов, охраняемых на региональном и государственном уровне. Популяции их сокращаются из-за нарушения типичных местообитаний в результате выпаса скота, промышленной добычи мела и известня-

ка, отчуждения земель под строительство транспортных объектов и т.д.

В условиях ботанического сада на коллекциях и экспозициях природной флоры и растительности региона культивируются многочисленные виды рода полынь (*Artemisia*). Среди них особый интерес представляют редкие и хозяйственно значимые: полынь широколистная (*Artemisia litifolia* Ledeb.), полынь армянская (*Artemisia armeniaca* Lam.), полынь беловойлочная (*Artemisia hololeuca* Bieb. ex Bess.), полынь

эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.) и полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris* L.).

Целью работы являлся сравнительный анализ метаболических процессов видов полыней региональной флоры в условиях культуры ботанического сада.

Материалы и методы исследования

В работе изучались физиолого-биохимические особенности пяти видов полыней, культивируемых в ботаническом саду Воронежского госуниверситета:

1. Полынь беловойлочная (*Artemisia hololeuca*) – стелющийся полукустарничек, занесен в Красную книгу России, статус – 2 [7]. Эндемик бассейна Дона и Северского Донца. В Черноземье растет на меловых обнажениях юго-восточной части Белгородской области и юге Воронежской области. Посадочный материал растений мобилизован из природных местообитаний Богучарского района Воронежской области в 2006 году. Ранее культивируемые растения полыни беловойлочной выпали из коллекции. В культуре сохраняется около 5 лет. Цветет, но не дает всхожих семян.

2. Полынь армянская (*Artemisia armeniaca*). Редкий охраняемый в регионе вид [3]. Встречается по степным склонам, на опушках дубрав с карбонатной подпочвой. В культуре ботанического сада с 1962 года (посадочный материал репродукции заповедника «Галичья гора» Липецкой области). В коллекции сохраняется более 10 лет, но в отдельные годы жизненные показатели значительно снижены.

3. Полынь широколистная (*Artemisia latifolia*). Уязвимый вид – занесен в региональные Красные книги [3]. Растет по разнотравным степям, опушкам степных дубрав, среди кустарников. В культуре ботанического сада с 1962 года (посадочный материал репродукции заповедника Галичья гора Липецкой области). На коллекционном участке хорошо разрастается вегетативно, ежегодно цветет и плодоносит.

В качестве контроля изучали физиолого-биохимические показатели растений наиболее эвритопных и устойчивых видов – полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris*) и полыни эстрагон (*Artemisia dracunculus*).

4. Полынь эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.) растет в прибрежных экотопах и по солонцеватым лугам [8]. В культуре ботанического сада с 1970 года. Посадочный материал выращен из семян, собранных в пойме реки Дон. В условиях коллекции устойчива, хорошо разрастается вегетативно, так как формирует длинное корневище.

5. Полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris* L.) – обычное широко распространенное сорно-луговое растение [8]. В культуре и на нарушенных местах ведет себя агрессивно, отмечается обильный самосев.

Активность пероксидазы определяли в гомогенатах тканей растений в реакции окисления бензидина [4]. Ферментативный препарат получали с помощью центрифугирования в течение 7 мин при 7000 об/мин, растертых со стеклом листьев в 0,1 М трис-HCl буфере, pH 7,5, при комнатной температуре. Об активности пероксидазы судили по увеличению оптической плотности при 520 нм.

Расчет относительной общей активности проводили путем отнесения изменения оптической плотности на единицу времени (мин) в мл ферментативного препарата без учета коэффициента молярной экстинкции (именуется в дальнейшем «общая актив-

ность», ФЕ/мл). Удельную активность рассчитывали, относя общую активность к содержанию белка в 1 мл ферментативной жидкости (ФЕ/мг).

Изоферментный анализ пероксидазы проводили электрофоретически по стандартному методу Дэвиса в вертикальных пластинах ПААГ в окрашивающей смеси [9, 11] в нашей модификации [5] с использованием 50% спиртового раствора 0,1% бензидина, содержащего 6% ацетата натрия (pH 7,0) и 1% раствора перекиси водорода. Окраска в виде коричневых зон пероксидазы проявлялась в течение 30–60 мин, после чего гели высушивали на стеклянных пластинах, в целлофане, в растворе спирт: глицерин (1:1), а затем сканировали.

Количественное содержание белка выполнено по методу Брэдфорда [10].

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что все виды полыни в надземной части содержат каротин, алкалоиды, эфирное масло, флавоноиды, кумарины; в корнях – следы алкалоидов. Содержание эфирного масла в зелёной массе достигает 0,1–0,4% на сырую массу, или 0,25–0,8% на абсолютно сухую массу. В эфирном масле обнаружены сабинен (до 65%), мирцен (10%), сесквитерпеновая фракция (5%), *p*-метаоксикоричный альдегид (0,5%) и смола (15%), метилхавикол, оцимен, фелландрен. В настоящее время полыни привлекают внимание исследователей как каротинсодержащие растения.

Тем не менее до сих пор не изучалось распределение активности ферментов, в частности, пероксидазы у полыней разных видов, произрастающих в условиях культуры ботанического сада. Применение физиолого-биохимических методов имеет особое значение. Эпигенетика рассматривает не просто зависимость функционирования генов от последовательности нуклеотидов, но главным образом от химического окружения и взаимодействия его с хромосомами, от метилирования ДНК и др. [2]. В этой связи возникает вопрос о необходимости изучения не только белковых маркеров или изоферментов, важность которых очевидна, но и активности ферментов как одного из проявлений эпигенетики. Фермент, используемый в качестве генетического маркера, должен отвечать ряду требований: он должен быть полиморфным, должны быть изучены его генетический контроль, тканевая специфичность и др. Основной задачей работы был анализ активности пероксидазы (ПО; КФ 1.11.1.7), а также изоферментного спектра фермента с целью уточнения шкалы приспособленности вышеперечисленных видов полыни в культуре ботанического сада Воронежского госуниверситета.

Пероксидаза – один из наиболее распространенных ферментов растений, принимающий участие в ряде важных физиологических процессов, таких как адаптация к стрессовым факторам внешней среды, каталитическое окисление ряда органических соединений, дыхание, синтез лигнина. Выявлены широкие возможности использования данного фермента в качестве диагностического или маркерного реагента в иммуноферментном анализе [1].

Фермент широко используется при изучении генетического полиморфизма различных видов растений. Существование большого числа его изоформ определяет широкую специфичность к окисляемому субстрату и разнообразие выполняемых им функций.

Результаты измерения активности пероксидазы и определения количества растворимого общего белка представлены на рис. 1 и в табл. 1.

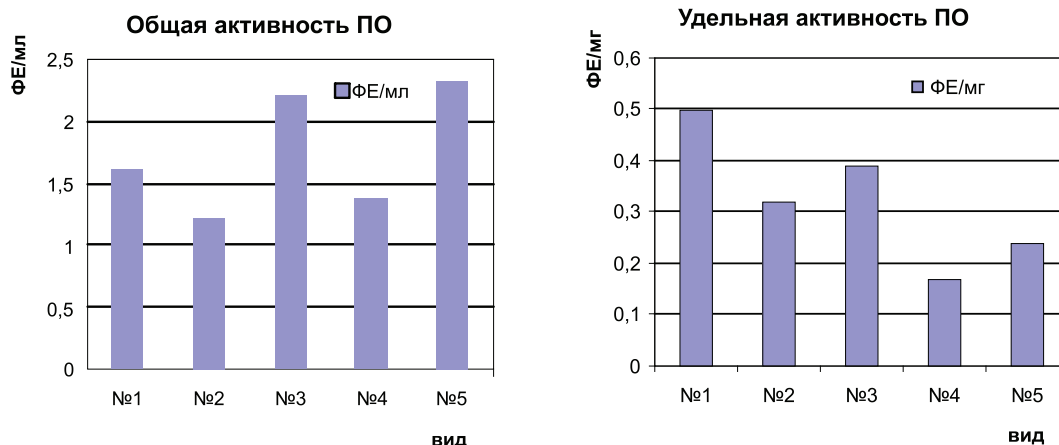


Рис. 1. Распределение общей и удельной активности пероксидазы (ПО) у пяти видов полыней. Обозначения по оси абсцисс: 1 – полынь беловойлочная; 2 – полынь армянская; 3 – полынь широколистная; 4 – полынь обыкновенная; 5 – полынь эстрагон

Таблица 1

Количество общего растворимого белка у пяти видов полыней (по методу Брэдфорда)

№ п/п	Вид полыни	Белок, мг/мл
1	Полынь беловойлочная	3,23
2	Полынь армянская	3,82
3	Полынь широколистная	5,71
4	Полынь обыкновенная	8,21
5	Полынь эстрагон	9,80

Приведенные данные по общей активности фермента демонстрируют достаточно хаотичное ее распределение между видами полыней. Однако отнесение величин активности к содержанию белка (мг/мл) приводит результаты к более четкой картине. В результате степень приспособления видов полыней в культуре ботанического сада можно выразить такой последовательностью (по мере улучшения адаптации): полынь беловойлочная < полынь широколистная < полынь армянская < полынь эстрагон < полынь обыкновенная. Электрофоретические данные представлены на рис. 2 и в табл. 2.

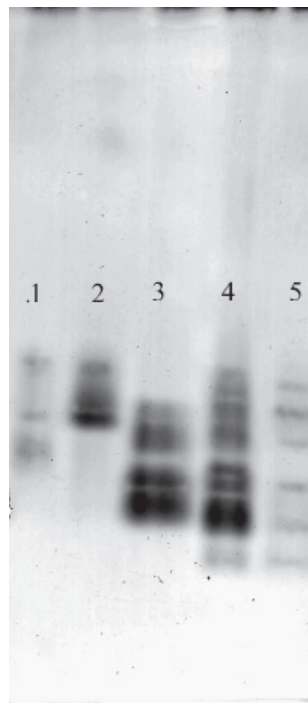


Рис. 2. Изоферментный спектр пероксидазы пяти видов полыней. Обозначения: 1 – полынь беловойлочная; 2 – полынь армянская; 3 – полынь широколистная; 4 – полынь обыкновенная; 5 – полынь эстрагон

Таблица 2

Распределение изоформ пероксидазной активности у пяти видов полыней в пластинах ПААГ-геля по электрофоретической подвижности (R_f)

R_f	Полынь беловойлочная	Полынь армянская	Полынь широколистная	Полынь обыкновенная	Полынь эстрагон
0.53					+
0.54	+	+		+	
0.56				+	+
0.57		+	+	+	+
0.61	+	+			
0.62			+	+	
0.64	+				
0.67				+	+
0.69			+	+	
0.73			+	+	+
0.82				+	+

Результаты электрофоретических исследований указывают скорее на видоспецифичность пероксидазной активности, чем на степень приспособления к почвам ботанического сада. Можно отметить близкое родство (сходство) изоферментных спектров полыни обыкновенной и полыни эстрагон: оба вида имеют по 5 общих изоформ, тогда как остальные три вида – по 1–2 изоформ фермента.

На основании полученных результатов нами выявлена пятибалльная шкала приспособленности видов полыней к условиям культуры ботанического сада Воронежского госуниверситета (табл. 3).

Таблица 3

Пятибалльная шкала приспособленности пяти видов полыней

Виды полыней	Балл	Характеристика приспособленности растений
Полынь беловойлочная	1	Находятся в условиях сильного стресса
Полынь армянская	2	Находятся в условиях слабого стресса
Полынь широколистная	3	Приспособленные
Полынь эстрагон	4	Хорошо приспособленные
Полынь обыкновенная	5	Максимально приспособленные

Таким образом, у пяти видов полыней активность фермента пероксидазы и количество общего растворимого белка в определенной степени коррелируют с их устойчивостью в условиях культуры ботанического сада. В соответствии с этим пяти видам полыней был присвоен балл приспособленности к условиям интродукционного эксперимента: 5 баллов – полынь обыкновенная, 4 балла – полынь эстрагон; 3 балла – полынь широколистная, 2 балла – полынь армянская, 1 балл – полынь беловойлочная.

Отмечено, чем ниже активность фермента, в данном случае – пероксидазы, отвечающего за адаптацию к стрессовым условиям, тем лучше растение чувствует себя на данном типе почвы, в данных условиях произрастания. Следует отметить, что удельная активность фермента пероксидазы у полыни армянской и полыни широколистной имеет близкие значения, 0,39 и 0,32 ФЕ/мг соответственно. Для полыни обыкновенной и полыни эстрагон также выявлены близкие значения пероксидазы, 0,24 и 0,17 ФЕ/мг соответственно.

Заключение

Одним из ранних ответов организма на стрессирующие факторы является накопление перекиси водорода и других активных форм кислорода, при этом происходит активация генов активности пероксидазы, выражающаяся в изменении активности фермента и количестве его изоформ в ту или иную сторону [5]. Наши исследования подтвердили регуляторную функцию пероксидазы в адаптивных процессах видов полыней. Из результатов работы следует, что фермент пероксидаза наряду с другими может служить биохимическим маркером стрессового состояния энергетического метаболизма. Достоинством пероксидазного маркера является простота анализа и возможность его широкого применения.

Работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских

и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099.

Список литературы

1. Использование пероксидазы и глутаматдегидрогеназы в качестве биохимических маркеров в биотехнологических исследованиях на картофеле / И.С. Витал, О.С. Мелик Саркисов, В.А. Аветисов, И.Г. Дубровский // Докл. ВАСХНИЛ. – 1989. – Т. 10. – С. 14–15.
2. Гиббс У. «Теневая» часть генома: сокровища на свалке // В мире науки. – 2004. – №2. – С. 21–27.
3. Голицын С.В., Доронин Ю.А. Реликтовая флора и растительность // Памятники природы Воронежской области. – Воронеж, 1970. – С. 107–118.
4. Землянухин А.А., Землянухин Л.А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений: учеб. пособие для вузов. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1996. – 186 с.
5. Активность и изотимный спектр пероксидазы клонов карельской березы, размноженных *in vitro* / О.А. Землянухина, О.С. Машкина, И.В. Саблина, Ю.Н. Исаков, А.Т. Епринцев // Межрегион. сб. науч. работ. Вып. 5. ВГУ. – Воронеж, 2003. – С. 46–52.
6. Землянухина О.А., Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П. Адаптация сахарной свеклы *in vitro* к условиям засоления // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: материалы IX Междунар. науч. конф. (Звенигород, 8–12 сент. 2008 г.). – Звенигород, 2008. – С. 132.
7. Красная книга Российской Федерации (растения, грибы). – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
8. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. – 10-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 600 с.
9. Маурер Г. Диск-электрофорез. – М.: Мир, 1971. – 248 с.
10. Bradford V.V. A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72, №4. – P. 417–422.
11. Davis B.J. Disc Electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1964. – Vol. 121. – P. 404–427.

References

1. Vital I.S., Melik Sarkisov O.S., Avetisov V.A., Dubrovskij I.G. *Doklady VASHNIL – Reports of Agricultural Sciences*, 1989, Vol. 10, pp. 14–15.

2. Gibbs U. «Tenevaja» chast' genoma: sokroviwa na svalke – «Shadow» part of genome: treasures on a dump. In the world of science, 2004. no 2, pp. 21–27.

3. Golitsyn S.V., Doronin Ju.A. Reliktovaja flora i rastitel'nost' (Relict flora and vegetation: Monuments of nature of the Voronezh area), Voronezh, 1970.

4. Zemljanuhin A.A., Zemljanuhin L.A. *Bol'shoj praktikum po fiziologii i biohimii rastenij* [Large practical work on physiology and biochemistry of plants]. Voronezh, VSU Publ., 1996. 186 p.

5. Zemljanuhina O.A., Mashkina O.S., Sablina I.V., Isakov Ju.N., Eprincev A.T. *Mezhrregional'nyj sbornik nauchnyh rabot «Aktivnost' i izotimnyj spektr peroksidazy klonov karel'skoj berezy, razmnozhenykh in vitro» (Inter-regional collection of scientific works «Activity and spectrum of peroxidase izotimny Karelian birch clones, propagated in vitro»)*. Voronezh, 2003, pp. 46–52.

6. Zemljanuhina O.A., Cherkasova N.N., Zhuzhzhhalova T.P. *Adaptacija saharnoj svekly in vitro k uslovijam zasolenija* [Adaptation of sugar beet in vitro to conditions of salinity: Biology of plant cells in vitro and Biotechnology: Proceedings of the Fourth International Conference of Scientists]. Zvenigorod, 2008. p. 132.

7. *Krasnaja kniga Rossijskoj Federacii (rastenija, griby)* [The Red Book of Russian Federation (plants and fungi)]. Moscow, KMK Publ., 2008. 855 p.

8. Maevskij P.F. *Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii* [The flora of central European part of Russia]. Moscow, 2006. 600 p.

9. Maurer G. *Disk-jelektroforez* [Disc electrophoresis]. Moscow, Mir Publ., 1971. 222 p.

10. Bradford V.V. A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. no., 4. pp. 417–422.

11. Davis B.J. Disc Electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964. Vol. 121. pp. 404–427.

Рецензенты:

Ершова А.Н., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии растений и животных естественно-географического факультета ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж;

Корнеева О.С., д.б.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и биохимии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», г. Воронеж.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 577.21:582.912.42

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА СУММАРНОЙ ДНК
ВЫСОКОГО КАЧЕСТВА ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА RHODODENDRON****¹Калаев В.Н., ²Землянухина О.А., ²Карпеченко И.Ю., ²Карпеченко К.А.,
¹Кондратьева А.М., ¹Вепринцев В.Н., ¹Карпеченко Н.А., ¹Карпова С.С.**¹*Воронежский государственный университет, Воронеж, e-mail: dr_huixs@mail.ru;*²*Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции,
Воронеж, e-mail: nikitakarpechenko@rambler.ru*

Проведено исследование по изучению эффективности применения стандартной методики выделения ДНК из растений рода *Rhododendron*. Оценку методики выделения проводили на основе трех параметров: возможной деградации ДНК в ходе электрофоретического разделения полученных препаратов в агарозном геле, концентрация и чистота полученных образцов, анализируемых по спектрофотометрическим характеристикам препаратов, и воспроизводимость результатов ПЦР. Показано, что стандартный метод выделения нуклеиновых кислот не является пригодным по отношению к растениям данного рода и дальнейшие исследования не возможны по причине сильной деградации образцов и содержания большого количества примесей, препятствующих проведению реакций рестрикции и ПЦР. Для получения качественного препарата ДНК были изменены некоторые этапы и подобраны оптимальные температурные, временные и концентрационные параметры методики, что, в свою очередь, позволило получить образец дезоксирибонуклеиновой кислоты без признаков деградации и примесей.

Ключевые слова: выделение, цетилтриметиламмоний бромид, рододендрон, ДНК, деградация, ПЦР**DEVELOPMENT OF METHOD FOR OBTAINING OF TOTAL
HIGH QUALITY DNA-PREPARATIONS FROM PLANTS OF RHODODENDRON****¹Kalaev V.N., ²Zemlyanukhina O.A., ²Karpechenko I.Y., ²Karpechenko K.A.,
¹Kondratyeva A.M., ¹Veprintsev V.N., ¹Karpechenko N.A., ¹Karpova S.S.**¹*Voronezh State University, Voronezh, e-mail: dr_huixs@mail.ru;*²*Research Institute of Forest Genetics and Breeding, Voronezh, e-mail: nikitakarpechenko@rambler.ru*

The research was conducted on the effectiveness of the standard methods of DNA extraction from plants of the genus of *Rhododendron*. The assessment of the methodologies was made on the basis of three parameters: the possible degradation of DNA in the preparations obtained by agarose gel electrophoresis, the concentration and purity of the samples, analyzed by spectrophotometric characteristics of DNA preparations, and reproducible PCR results. It was shown that the standard method of nucleic acid extraction is unsuitable for the plants of this genus, and further studies are not possible due to severe degradation of the samples and high level of admixture, which prevents the restriction reaction and the PCR. In order to obtain a DNA preparation of good quality, some steps of the method were modified; the optimal temperature, time and concentration parameters were found, making possible to get a DNA sample free from signs of degradation and admixture.

Keywords: extraction, CTAB, rhododendron, DNA, degradation, PCR

В настоящее время наряду с традиционными методами изучения растений в селекционных, генетических и таксономических исследованиях всё большее значение приобретают методы, основанные на выяснении изменчивости ДНК и ее структуры. Данные методы позволяют с высокой точностью определить характер изменчивости генетического материала, что даёт возможность уже на ранних стадиях развития растения выявить особи с наиболее ярко выраженными полезными качествами [4]. Однако для проведения молекулярно-генетических исследований, связанных с изучением структуры генов, на первом этапе необходимо получить чистый препарат ДНК без признаков деградации и примесей.

Было экспериментально установлено, что лучшие результаты получаются при выделении ДНК из почек и молодых листьев растения [5], в то время как во всех мертвых клетках (например, в ксилеме покрытосе-

мянных) наблюдается деградация ДНК, что делает невозможным проведение дальнейшего анализа. Особое внимание необходимо уделять и видовой принадлежности изучаемого образца, так как растения разных видов характеризуются различными физиологическими и биохимическими особенностями как, например, присутствием различных веществ (полисахаридов, танинов, полифенолов и их хинонокисленных продуктов), создающих значительные примеси в препаратах нуклеиновых. Физико-химические свойства подобных веществ в определенной степени совпадают со свойствами нуклеиновых кислот, что затрудняет их полное отделение от ДНК и обуславливает низкое качество препаратов, что делает непригодным их дальнейшее использование.

Объектом наших исследований стали растения рода рододендрон (*Rhododendron L.*). Это многочисленный род растений семейства Вересковые (*Ericaceae*), включа-

ющий около тысячи видов вечнозеленых, полулистопадных и листопадных кустарников и деревьев. Рододендроны лишь сравнительно недавно стали у нас по-настоящему популярны. Есть несколько причин этому: во-первых, некоторые из них – единственные вечнозеленые лиственные растения, зимующие в нашем климате. Во-вторых, цветение рододендронов – удивительное зрелище, с которым мало что может сравниться [7]. Известно также, что рододендроны содержат большое количество дубильных веществ, что необходимо принимать во внимание при проведении молекулярно-генетических исследований растений данного рода, требующих выделения ДНК.

Целью настоящей работы явилось исследование возможности применения стандартной методики выделения ДНК из растений на представителях рода *Rhododendron* и оптимизации данной методики для конкретного объекта.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили листья растений рододендрона.

Процесс выделения ДНК включает несколько этапов.

Первый этап связан с разрушением клеточных структур. Для разрушения мембран используется механическое воздействие путем растирания ткани в специальных гомогенизаторах или вручную с помощью пестика. Однако следует отметить, что при выборе разрушающего агента и метода разрушения клеточных структур важно учитывать возможность повреждения молекул ДНК самими агентами или условиями выделения [1].

На следующем этапе выделения ДНК проводится ее очистка от разрушенных клеточных структур, высоко- и низкомолекулярных соединений. Удаление белков осуществляют путем их денатурации с помощью фенола, хлороформа, ацетона и некоторых солей.

Важным этапом при выделении ДНК является ее осаждение. Наиболее часто используемый метод концентрирования – осаждение ее изопропанолом или этанолом [5].

В ряде случаев требуется очистка препаратов от содержания РНК. Это достигается применением фермента РНК-азы [2].

Задачей данного исследования явилось изучение возможности применения стандартной методики выделения ДНК из растений [10] на представителях рода *Rhododendron*. Основным способом получения ДНК является метод, основанный на использовании ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромид)-буфера. Данная методика основана на том, что при высоких концентрациях солей нуклеиновые кислоты образуют стабильные и растворимые соединения с цетилтриэтил-аммоний бромидом. При снижении концентрации соли NaCl ниже 0,4 М комплекс ЦТАБ – нуклеиновая кислота выпадает в осадок. После разрушения клеток белки денатурируют и экстрагируют смесью хлороформа с изоамиловым спиртом. ЦТАБ удаляют путем осаждения этанолом (ЦТАБ растворим в этаноле, а ДНК нет). В данной методике предполагается ис-

пользование четырех буферных растворов (2х ЦТАБ буфер, 5х ЦТАБ буфер, буфер для преципитации и HS-TE буфер) следующего состава:

1. 2х ЦТАБ буфер (2 % ЦТАБ, 1,4 М NaCl, 0,1 М Tris-HCl, pH 8,0, 20 мМ ЭДТА).
2. 5х ЦТАБ буфер (5 % ЦТАБ, 350 мМ ЭДТА).
3. Буфер для преципитации (1 % ЦТАБ, 50 мМ Tris-HCl, pH 8,0, 10 мМ ЭДТА).
4. HS-TE буфер (1 М NaCl, 10 мМ Tris-HCl, pH 8,0, 1 мМ ЭДТА).

В общем виде схема выделения выглядит следующим образом:

- 1) ткань растереть в ступке с жидким азотом до светло-зеленой пудры;
- 2) подготовить прогретую до 65°C пробирку с 2х ЦТАБ (из расчета 25 мл 2х ЦТАБ на 2–5 г ткани);
- 3) перенести пудру шпателем в пробирку, очень хорошо и быстро перемешать;
- 4) инкубировать при 65 °С минимум 20 мин (лучше 1 ч, но можно и больше (2–3 ч));
- 5) охладить до нормальной температуры (22–24 °С), добавить равный объем смеси хлороформа и изоамилового спирта (в соотношении 24:1), перемешивать примерно 20 мин при нормальной температуре;
- 6) центрифугировать 11000g при нормальной температуре 30 с;
- 7) снять водную фазу, добавить к ней 0,2 объема 5х ЦТАБ;
- 8) перемешать, инкубировать при 65 °С 10 минут;
- 9) добавить равный объем смеси хлороформа и изоамилового спирта (в соотношении 24:1), перемешивать примерно 10 мин при нормальной температуре;
- 10) центрифугировать 11000g при нормальной температуре 10 мин;
- 11) если раствор мутный или большая интерфаза – повторить экстракцию хлороформом и изоамиловым спиртом (пункты 9–10);
- 12) добавить равный объем буфера для преципитации (можно и 2–3 объема), перемешать и оставить на 1 ч (или на ночь) при нормальной температуре;
- 13) центрифугировать 5000–8000 g при нормальной температуре 20 мин (если ДНК не выпадает, добавить больше буфера для преципитации, оставить при комнатной температуре на 1 ч, отцентрифугировать);
- 14) растворить осадок в 1–2 мл HS-TE (иногда необходим нагрев до 65 °С);
- 15) добавить 2 объема абсолютного этанола, инкубировать 1–2 ч при –20 °С или 30 мин при –70 °С;
- 16) центрифугировать 8000 g при 4 °С, 10 мин;
- 17) к осадку добавить 200 мкл дистиллированной воды и 100 мкл 7,5 М ацетата аммония (pH 7,5), инкубировать 20 мин при 0 °С;
- 18) центрифугировать 13000 g при 4 °С 10 мин;
- 19) добавить к супернатанту 2 объема абсолютного этанола и инкубировать 20 мин при –70 °С;
- 21) центрифугировать 13000 g при 4 °С 10 мин;
- 22) сполоснуть 80%-м этанолом;
- 23) растворить в TE буфере или воде, хранить при –20 °С.

Оценку эффективности выделения ДНК из листьев рододендрона проводили, используя электрофоретическое разделение полученных препаратов в агарозном геле, спектрофотометрическое определение концентрации и чистоты образцов, а также ПЦР [8].

Поскольку концентрация и чистота препарата ДНК являются важными факторами, влияющими на ход дальнейшего анализа, необходимо установление

значений этих показателей с помощью спектрофотометра (в наших исследованиях был использован спектрофотометр СФ-102). Для определения количества ДНК измеряли поглощение раствора в областях с длинами волн 260 и 280 нм. Измерение при 260 нм позволяет рассчитать концентрацию нуклеиновой кислоты в пробе. Оптическая плотность $D = 1$ А соответствует приблизительно 50 мкг/мл двухцепочечной ДНК. Соотношение экстинкции 260 нм/280 нм позволяет судить о чистоте нуклеиновой кислоты. Чистые препараты ДНК имеют соотношение не менее 1,67 [3].

Наличие деградации в образцах может привести к неправильной спектрофотометрической оценке концентрации ДНК, к ее завышению вследствие явления гиперхромизма. Кроме того, данные препараты в дальнейшем малоприспособлены для работы по изучению и манипуляции с крупными фрагментами ДНК, поэтому для определения степени деградации молекул в полученных препаратах нами проводился электрофорез в 2%-м агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Реакцию ПЦР проводили с использованием RAPD-праймера Oligo 29 в амплификаторе «Терцик» в течение 2 часов. Для ПЦР была использована реакционная смесь следующего состава: 2,5 мкл 10-ПЦР буфера (100 мМ Трис-НСl; pH 8,8; 500 мМ KCl), 25 мМ MgCl₂, смесь 10 мМ нуклеотидтрифосфатов, 10 мМ праймера, 1 ед. Taq ДНК-полимераза и 1 мкл ДНК (20 нг/мкл).

Параметром оценки эффективности ПЦР являлась воспроизводимость результатов с использованием данного способа экстракции ДНК, а также наличие или отсутствие фоновой амплификации, приводящей к появлению шмеров на электрофореграмме.

Результаты исследования и их обсуждение

Использование стандартной методики для выделения ДНК ЦТАБ-методом из растений на рододендроне (весь процесс

выделения занимает в среднем 7–8 часов) позволило нам получить препараты суммарной ДНК. Спектрофотометрическое исследование чистоты полученных образцов показало, что соотношение поглощения при 260 нм/280 нм было равно в среднем, 1,15. Это свидетельствует о том, что полученные образцы ДНК содержат примеси в больших количествах. Анализ электрофореграмм образцов ДНК рододендрона (рис. 1) позволяет говорить о деградации препарата.

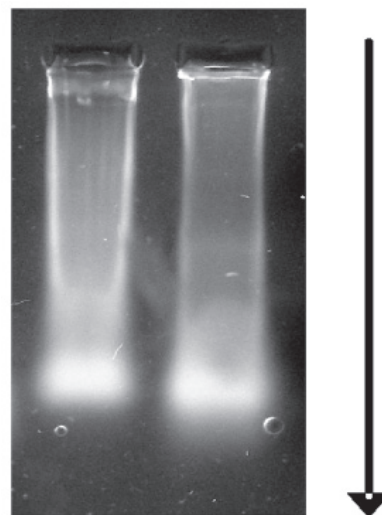


Рис. 1. Электрофореграмма образцов ДНК рододендрона, выделенных ЦТАБ-методом по стандартной методике

Оценку эффективности ПЦР проводили с использованием RAPD-праймера Oligo 29 (рис. 2).

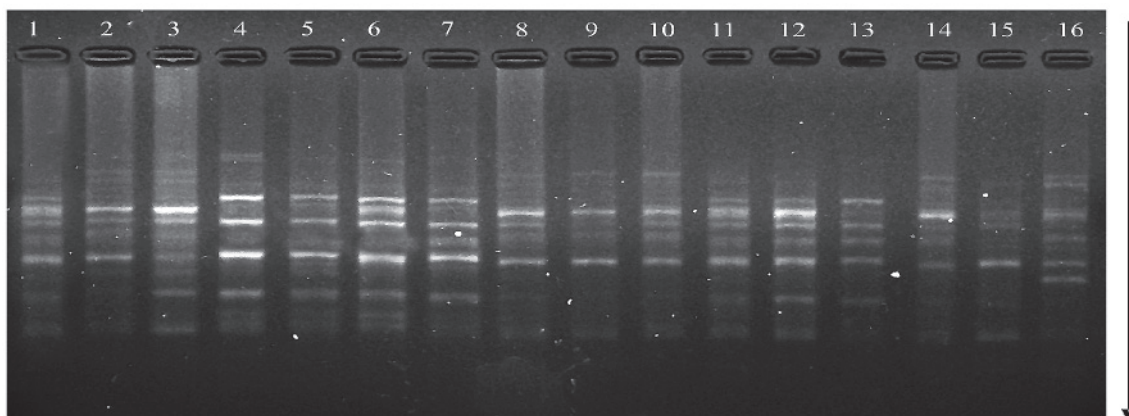


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР рододендрона с использованием RAPD-праймера Oligo 29, где в качестве матрицы использовалась ДНК, полученная по стандартной методике: 1...16 – номера повторностей

В результате проведения ПЦР с праймером Oligo 29, где в качестве матрицы использовалась ДНК, выделенная по стандартной методике, оказалось, что в боль-

шинстве случаев на электрофореграмме наблюдалось наличие шмера, в некоторых пробах вообще отсутствовали продукты амплификации, что свидетельствует о непол-

ном удалении ингибиторов. Воспроизводимость результатов ПЦР равнялась 76 %, что является весьма плохим результатом.

Обобщив полученные данные, можно заключить, что данный метод экстракции ДНК не является эффективным для растений рода *Rhododendron*.

Нами были изменены некоторые этапы стандартной методики и подобраны оптимальные температурные, временные и концентрационные условия, которые позволили получить препарат ДНК высокой концентрации с отсутствием деградации и примесей, что подтверждается спектрофотометрически и электрофореграммой в агарозном геле (рис. 3). Полученные образцы имели соотношение поглощения при 260 нм/280 нм равное, в среднем, 1,75, что свидетельствует о чистоте полученных препаратов ДНК.

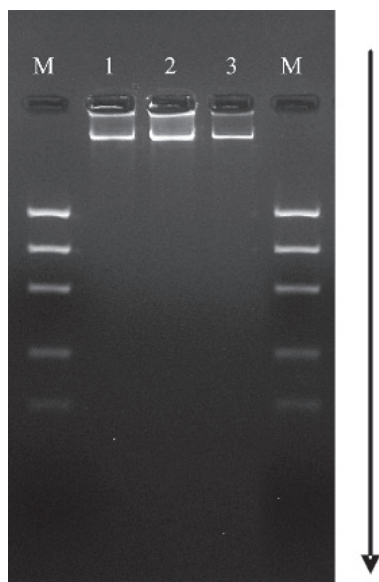


Рис. 3. Электрофореграмма образцов ДНК рододендрона, выделенных ЦТАБ-методом по изменённой методике:

М – маркеры, 1, 2, 3 – номера повторностей

Адаптированная для растений рода рододендрон методика отличается сравнительной быстротой (4 ч вместо 7–8 ч) и простотой (используется всего один буфер).

Для выделения суммарной клеточной ДНК использовали ЦТАБ-буфер следующего состава: 3 % ЦТАБ, 1,4 М NaCl, 0,2 % 2-меркаптоэтанол, 20 мМ ЭДТА, 100 мМ Tris-HCl (pH 8,0).

В общем виде усовершенствованная нами схема проведения выделения выглядит следующим образом:

1) образец ткани тщательно растирают пестиком в течение 5 минут в 1000 мкл, предварительно прогретого до 65 °С ЦТАБ-буфера;

2) инкубируют в термостате при 65 °С в течение 30 мин, периодически перемешивая раствор вращением пробирки (трясти пробирку не рекомендуется, т.к. буфер пенится, ДНК разрушается);

3) остудив пробирку до комнатной температуры, добавляют равный объём смеси хлороформ – изоамиловый спирт (24:1) и перемешивают медленным покачиванием в течение 20 мин;

4) разделяют фазы центрифугированием 15 мин (12000 g); супернатант переносят в чистую пробирку объёмом 2 мл;

5) добавляют 2/3 объёма изопропанола;

6) оставляют на 1 час при –20 °С для осаждения ДНК;

7) центрифугируют 15 мин (13000 g), отбирают изопропанол;

8) добавляют два объёма 80 %-го этанола, инкубируют 15 мин, центрифугируют 15 мин (13000 g), тщательно удаляют спирт, подсушивают пробирку на воздухе для удаления паров спирта;

9) осадок ДНК растворяют в воде или ТЕ-буфере (0,01 М трис-HCl, pH 7,4, 0,1 мМ ЭДТА) до полного исчезновения осадка.

Проведенный ПЦР анализ с полученными по модифицированной методике образцами ДНК (рис. 4) позволяет говорить об отсутствии шмера и хорошей воспроизводимости результатов ПЦР, что, в свою очередь, свидетельствует о высоком качестве образцов ДНК и подтверждает эффективность усовершенствованной методики выделения.

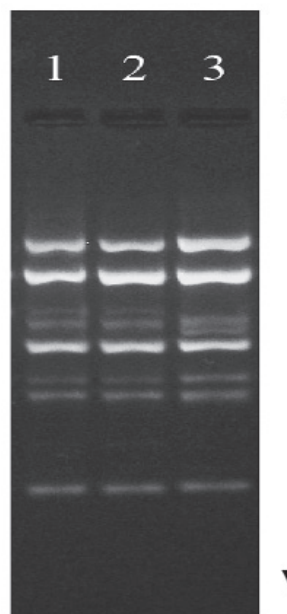


Рис. 4. Электрофореграмма ПЦР рододендрона с использованием RAPD-праймера Oligo 29, где в качестве матрицы использовалась ДНК, полученная по модифицированной методике:

1, 2, 3 – номера повторностей

Заключение

Применение стандартной методики для выделения ДНК из растений представителей рода *Rhododendron* показало присутствие в полученных препаратах значительного количества примесей, а также деградацию ДНК, что было подтверждено результатами электрофореза и спектрофотометрически. Неполное удаление ингибиторов, полисахаридов и полифенолов приводит к угнетению последующих ферментативных реакций в процессе ПЦР и вызывает деградацию ДНК после длительного хранения. Для дальнейшего анализа данные препараты были непригодны.

С целью получения качественного препарата суммарной ДНК в стандартную методику выделения были внесены изменения и подобраны оптимальные временные, температурные и концентрационные условия, изменены некоторые этапы, что позволило в полной мере достичь поставленной цели.

Данная работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099 «Оценка состояния растительных ресурсов при интродукции в Центрально-Черноземном регионе и разработка мероприятий по их сохранению на базе ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Поланского Воронежского государственного университета».

Список литературы

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. – М.: Мир, 1994. – С. 1558.
2. Баранов О.Ю., Каган Д.И. Микросателлитный анализ берёзы повислой // Молекулярная и прикладная генетика. – 2005. – Т. 1. – С. 157.
3. Боронникова С.В., Тихомирова Н.Н. Анализ генетической изменчивости популяций двух редких лекарственных видов рода *Adonis* с использованием ISSR-маркеров // Известия ТСХА. – 2008. – №1. – С. 86–94.
4. Остроумов Л.А., Просяков А.Ю., Архипов А.Н., Мудрикова О.В. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12, №4 (3). – С. 722–724.
5. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Воропаев Е.В. Методы молекулярно-генетического анализа. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.
6. Пташине М. Переключение генов. Регуляция генной активности и факт лямбда. – М.: Мир, 1989. – 160 с.
7. Фирсов Г., Холопова А. Рододендроны Северной столицы. // Цветоводство. – 2007. – № 4. – С. 26–29.
8. Edwards K., Johnstone C., Thomson C.A. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis // *Nucleic Acids Res.* – 1991. – Vol. 19. – P. 1349.

9. Lee H.C., Wei Y.H. Mitochondrial alterations, cellular response to oxidative stress and defective degradation of proteins in aging // *Biogerontology*. – 2001. – Vol. 2. – P. 231–244.

10. Poms R.E., Glossl J., Foissy H. Increased sensitivity for detection of specific target DNA in milk by concentration in milk fat // *European Food Research and Technology*. – 2001. – Vol. 213. – P. 361–365.

References

1. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. Moscow: Mir, 1994. Vol. ??, pp. 1558.
2. Baranov O.Yu., Kagan D. I. *Mikrosatelitnyy analiz berezy povisloy* [Microsatellite analysis of weeping birch]. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika – Molecular and Applied Genetics*. 2005, Vol. 1, pp. 157.
3. Boronnikova S.V., Tikhomirova N.N. *Analiz geneticheskoy izmenchivosti populyatsiy dvukh redkikh lekarstvennykh vidov roda Adonis s ispolzovaniem ISSR-markerov* [Analysis of genetic variability in populations of two rare species of medicinal *Adonis* using ISSR-markers]. *Izvestiya TSHA – Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy*, 2008, no.1, pp. 86–94.
4. Ostroumov L.A., Prosekov A.Yu., Arkhipov A.N., Mudrikova O.V. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk – Proceedings of Samara Scientific Center, Russian Academy of Sciences*, 2010, Vol. 12, no. 4(3), pp. 722–724.
5. Padutov V.E., Baranov O.Yu., Voropaev E.V. *Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza* [Methods of molecular genetic analysis]. Minsk: Yunipol, 2007. 176 p.
6. Ptashne M. *Pereklyucheniye genov. Regulatsiya gennoy aktivnosti i fakt lymbda* [A genetic switch. Gene control and phage λ]. Moscow: Mir, 1989. 160 p.
7. Firsov G., Kholopova A. *Rhododendrony Severnoy stolitsy* [Rhododendrons of the Northern Capital]. *Tsvetovodstvo – Floriculture*, 2007, no. 4, pp. 26–29.
8. Edwards K., Johnstone S., Thomson S.A. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Res.*, 1991, Vol. 19, p. 1349.
9. Lee H.C., Wei Y.H. Mitochondrial alterations, cellular response to oxidative stress and defective degradation of proteins in aging. *Biogerontology*, 2001, Vol. 2, pp. 231–244.
10. Poms R.E., Glossl J., Foissy H. Increased sensitivity for detection of specific target DNA in milk by concentration in milk fat. *European Food Research and Technology*, 2001, Vol. 213, pp. 361–365.

Рецензенты:

Дурнова Н.А., д.б.н., доцент, зав. кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Саратов;

Полуконова Н.В., д.б.н., профессор кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 574; 579.84

МИКРОБИОЦЕНОЗЫ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ РАСТВОРОВ ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ УРАНОВОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ «КАРАМУРУН»

¹Канаева З.К., ²Канаев А.Т.

¹*«Казахский национальный технический университет им. К.И. Сатпаева
Министерство образования и науки Республики Казахстан»;*

²*«Казахский национальный педагогический университет им. Абая,
Алматы, e-mail: kanaeva1992@mail.ru*

Изучение экологии микроорганизмов в месторождениях полезных ископаемых и оценка интенсивности вызываемых ими процессов показывает, что в определенных условиях, особенно при разработке рудных тел, микробиологические процессы, протекающие с огромной скоростью, вызывают значительное выщелачивание металлов из руд. В основе этого лежат процессы вскрытия и перевода металлов в раствор, которые осуществляются либо бактериями, либо химическим окислением сульфидных минералов. В нашей республике имеется ряд месторождений, где целесообразно получение металлов способом бактериально-химического выщелачивания. При этом большое значение имеют изучение экологии микроорганизмов и влияние различных факторов на скорость биокислений субстратов для создания биотехнологии извлечения цветных и благородных металлов из руд и продуктов их флотации. Казахстан является крупнейшей сырьевой базой цветной металлургии, поэтому изучение экологии микроорганизмов, осуществляющих окисление сульфидных минералов в экосистемах, представляется весьма актуальным. В данной работе представлен материал о качественном и количественном составе микроорганизмов выщелачивающего сернокислотного раствора, отобранных из УГП-1, состоящего из эксплуатационных блоков залежи № 8 и № 25 месторождения «Южный Карамурун». В результате эксперимента была выявлена основная роль *A. ferrooxidans* в окислении закисного железа до окисного. Была доказана роль *A. ferrooxidans* и *A. thiooxidans* в создании агрессивной среды на глубине подземного выщелачивания урана. Исходя из предположения, что основным фактором, способствующим активному размножению тионовых бактерий в геологических отложениях, является повышенная аэрация.

Ключевые слова: окисление сульфидных минералов, микробиоценозы, подземное выщелачивание урана

MICROBIOCENOSIS OF CHEMOLITHOTROPHIC MICROBIAL BACTERIA OF IN SITU LEACHING SOLUTIONS OF «KARAMURAN» URANIUM DEPOSITS

¹Kanayeva Z.K., ²Kanayev A.T.

¹*K.I. Satpayev Kazakh National Technical University;*

²*Abai Kazakh National Pedagogical University (Abai KazNPU), Almaty, e-mail: kanaeva1992@mail.ru*

The study of ecology of microorganisms in mineral deposits and evaluation of the intensity caused by the processes shows that in certain conditions, particularly in the development of ore bodies, microbiological processes occurring with high speed, causing significant leaching of metals from ores. Subsequent to this are the processes of opening and transfer of metals into solution which are carried out either by bacteria or chemical oxidation of sulfide minerals. In our republic there are a number of deposits where are rational obtaining metals by bacterial chemical leaching method. At the same time is very important to study microbial ecology and the influence of various factors on the rate of biooxidation of substrates for creation a biotechnology extraction of non-ferrous and precious metals from ores and products of their flotation. Kazakhstan is the largest non-ferrous raw material base that is why the study of microorganism ecology which is carrying out the oxidation of sulfide minerals in ecosystems is very important. This work presents material on qualitative and quantitative composition of microorganisms of leaching sulfuric acid solution, selected from the UGP-1 consists of operational deposits units № 8 and № 25 deposit «South Karamurun». As a result of experiment has been found the main role of *A. ferrooxidans* in oxidation of ferrous iron to ferric. The role of *A. ferrooxidans* and *A. thiooxidans* was proved in creating hostile environment at a depth of underground leaching of uranium. Based on statement that the main factor contributing to the active reproduction of thiobacillus in geological deposits is the increased aeration.

Keywords: oxidation of sulfide minerals, microbiocenosis, leaching solutions of uranium

На территории Кызылординской области уран добывается в Шиелийском и Жанакорганском районах. В Шиелийском это месторождения Южный Карамурун, Северный Карамурун и Ирколь, а в Жанакорганском – Хорасан-1 и Хорасан-2. Здесь свою производственную деятельность ведут предприятия «РУ-6», «Семизбай-У», «Кызылкум» и «Байкен-У». Добыча ведется методом подземного выщелачивания, где по технологии применяется серная кислота. Логистический центр имеет возможность за год принимать

и отправлять 150 тыс. т серной кислоты, 20 тыс. т аммиачной селитры и 10 тыс. т других грузов. Общая площадь терминала составляет 7 га.

Нами был изучен микробиоценоз сернокислотного раствора после подземного выщелачивания урана месторождения «Карамурун».

Изучение экологии микроорганизмов в месторождениях полезных ископаемых и оценка интенсивности вызываемых ими процессов показывает, что в определенных

условиях, особенно при разработке рудных тел, микробиологические процессы, протекающие с огромной скоростью, вызывают значительное выщелачивание металлов из руд. В основе этого лежат процессы вскрытия и перевода металлов в раствор, которые осуществляются либо бактериями, либо химическим окислением сульфидных минералов. В нашей республике имеется ряд месторождений, где целесообразно получение металлов способом бактериально-химического выщелачивания. При этом большое значение имеют изучения экологии микроорганизмов и влияние различных факторов на скорость биоокислений субстратов для создания биотехнологии извлечения цветных и благородных металлов из руд [1].

Казахстан является крупнейшей сырьевой базой цветной металлургии, поэтому изучение экологии микроорганизмов, осуществляющих окисление сульфидных минералов в экосистемах, представляется весьма актуальным. В данной работе представлен материал о качественном и количественном составе бактерий уранового месторождения Карамурун [2].

Материалы и методы исследований

Объектом исследования служили микробные сообщества сернокислотного раствора после подземного выщелачивания урана на месторождении «Карамурун» рудоуправления №6. В структуре ТОО «РУ-6» функционирует объединенный цех «Карамурун». Объединенный цех «Карамурун» осуществляет добычу природного урана на месторождениях «Северный Карамурун» и «Южный Карамурун», расположенных в Шиелийском и Жанакорганском районах Кызылординской области.

Изучение качественного и количественного состава микрофлоры месторождения проводили путем посева соответствующих проб руды или растворов на питательные среды. Пробы воды и руды отбирали стерильно, в соответствии с имеющимися руководствами [3]; pH и температуру измеряли во время отбора проб. Микробиологические посева и анализы отдельных компонентов осуществляли в лабораторных условиях. Количественный учет жизнеспособных клеток проводили методом предельных десятикратных разведений.

Определение железоокислительной способности Fe^{2+} и Fe^{3+} в среде. Способность бактерий окислять Fe^{2+} определяли по изменению в среде количества Fe^{2+} и Fe^{3+} . Количество Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли комплексонометрическим методом [4], с использованием в качестве титранта ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль). Метод основан на реакции образования комплексных соединений ионов металлов с органическими соединениями.

Методы выделения, учета и изучения микроорганизмов. В колбы Эрленмейра на 100 мл вносили 30 мл стерильной среды Сильвермана и Лундгрена 9К следующего состава (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; $MgSO_4$ – 0,5; $NaCl$ – 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 5,0; pH среды доводили до 2,0 с H_2SO_4 . О развитии бактерий *A. ferrooxidans* судили по появлению бурой

окраски среды, вызванной образованием трехвалентного железа в бактериальном растворе.

В работе для определения анаэробного сульфатредуцирующего микроорганизма использовались метод Постгейта и Кембелла. Сульфатвосстанавливающие бактерии культивировали в пробирках, которые доверху заполняли средой Старки следующего состава (г/л): водопроводная вода – 650 мл; пептон – 2,0; дрожжевой экстракт 2,0; K_2HPO_4 – 0,3; $MgSO_4$ – 0,3; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0; $Fe(NH_4)_2SO_4$ – 0,15; Na_2S_3 – 0,6; лактат кальция – 3,0; аскорбиновая кислота – 0,15. Для денитрифицирующих микробов использовали среду Гильея следующего состава – лимоннокислые натрий – 2 г, KNO_3 – 1 г, KH_2PO_4 – 1 г, K_2HPO_4 – 1 г, $MgSO_4$ – 1,0 г, $CaCl_2$ – 0,2 г. Fe^{2+} -следы, дистиллированная вода – 1,0 л.; pH 7,6 и закрывали стерильными резиновыми пробками так, чтобы под пробкой не оставалось пузырьков воздуха, pH и окислительно-восстановительный потенциал среды измеряли на pH-метре ЭВ-74.

Результаты исследований и их обсуждение

Добыча урана на объединенном цехе «Карамурун» осуществляется через системы технологических скважин, расположенных по поверхности по рядной или ячеистой схемам, с глубиной скважин: 450...530 м (УГП-1 – геотехнологическое поле, объединяющее эксплуатационные участки и блоки месторождения «Северный Карамурун») и 600...680 м (УГП-2 – геотехнологическое поле, состоящее из эксплуатационных блоков залежи №8 и №25 месторождения «Южный Карамурун»).

Технологические скважины обсаживаются полиэтиленовыми и ПВХ трубами, а в продуктивной части разреза – стандартными дисковыми или щелевыми фильтрами. Выщелачивающий реагент – слабый сернокислый раствор с концентрацией H_2SO_4 5...25 г/л. Серная кислота поставляется по централизованному заявкам в железнодорожных цистернах, а в цеха специальным автотранспортом. Выщелачивающие растворы приготавливаются на основе артезианских подземных вод продуктивного горизонта (маастрихтский водоносный подгоризонт).

Оборот растворов происходит в замкнутом цикле и в балансе откачка – закачка. Продуктивный горизонт изолирован региональными водоупорами от грунтовых вод в плиоцен – четвертичных отложениях и от нижележащих гидрогеологических структур.

Подача выщелачивающих растворов в недра производится нагнетанием в закачные скважины, а отбор продуктивных растворов из откачных скважин погружными насосами или сжатым воздухом по схеме «Эрлифт».

Отбираемые продуктивные растворы транспортируются в напорных и самотеч-

ных трубопроводах и подаются на сорбционные колонны, где освобождаются от металла на ионообменных смолах и возвращаются в недра, доукрепленные серной кислотой.

Насыщенная ионообменная смола направляется в цикл регенерации, где после

взаимодействия с раствором аммиачной селитры уран переходит в состав концентрированного раствора – товарного регенерата (десорбата). Из товарного десорбата при действии осадителя – раствора каустической соды – уран выпадает в осадок в виде ураната натрия.



Полученная пульпа фильтруется на фильтр-прессе, осадок промывается и подвергается сушке воздухом, в результате формируется конечный продукт производст-

ва – урановый концентрат (желтый кек), содержащий не менее 35 % природного урана.

Дальнейшая переработка концентрата осуществляется на ГМЗ (горно-металлургический завод) отрасли. Основные переработчики – АО «УМЗ», ТОО Степногорский горно-химический комбинат («СГХК»). Доставка готовой продукции (ГП) на заводы осуществляется по железной дороге в специальных контейнерах (ТУК-118). Добыче урана из недр предшествуют горно-подготовительные работы, включающие эксплуатационную разведку, сооружение скважин, обвязку скважин в эксплуатационные блоки, закисление продуктивного пласта до параметров (рН, С_{Ме} и пр.), отвечающих режиму добычи. Для вновь сооружаемых блоков предусматривается строительство наружных коммуникаций (ТУЗы, УППР (участок переработки продуктивных растворов), КТПН, ЛЭП, дороги) или расширение уже действующих.

Для перекачки растворов используются стационарные насосы. В цехе «Карамурун» полный цикл переработки растворов осуществляется на УППР-1. На УППР-2 технологический цикл завершается насыщением

смолы, доставляемой автотранспортом для десорбции на УГПР-1.

Руководство всеми структурными подразделениями предприятия, определение технической политики и перспективы ТОО. Обеспечение выполнения производственного плана, роста производительности труда. Организация производственно-хозяйственной деятельности. Осуществление контроля за соблюдением технологической дисциплины, правил и норм по ОТ и ТБ. Обеспечение комплексного изучения месторождений. Организация и проведение постоянного геологического и геотехнологического обслуживания разведочных, горно-подготовительных и эксплуатационных работ.

Формирование и определение экономической стратегии развития ТОО «РУ-6» с целью адаптации его хозяйственной деятельности и системы управления к изменяющимся в условиях рынка внешним и внутренним экономическим условиям.

Микробоценозы хемолитотрофных бактерий уранового месторождения «Карамурун» (РУ-6).

Объектом для исследования явились бактерии сернокислотного раствора, отобранные из УГП-1 – геотехнологическое поле, объединяющее эксплуатационные участки и блоки месторождения «Северный

Карамурун», и УГП-2 – геотехнологическое поле, состоящее из эксплуатационных блоков залежи №8 и №25 месторождения «Южный Карамурун»

Хемосинтезирующие организмы могут жить в растворах подземного выщелачивания урана месторождения «Канжуган». Для этого есть все предпосылки – pH кислой среды, содержание железа в выщелачивающих растворах. Выщелачивание урана осуществляется специфической физиологической группой бактерий: мезоацидофильными, хемолитотрофными бактериями *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* и *Leptospirillum ferrooxidans*. Бактерии *A.ferrooxidans* окисляют восстановленные соединения серы до сульфатов, а ионы двухвалентного железа до ионов трехвалентного. Микроорганизмы, окисляющие сульфиды металлов, растут при pH 1,0–3,5 (*A.thiooxidans* до pH 0,65). Для *A.ferrooxidans* оптимальный pH 2,0 [5].

Изучая производственные растворы данного месторождения, отметим, что в технологическом растворе данного месторождения выявлено бактерий *A.ferrooxidans* и *A. thiooxidans*. Количество *A. ferrooxidans* в растворах УГП-1 составляет всего 10^2 кл/мл, в растворах УГП-2 достигает до 10^3 кл/мл (таблица).

Бактерии в сернокислотных растворах подземного выщелачивания месторождения «Карамурун»

Место отбора проб	Количество клеток в 1 мл раствора				
	<i>A.ferrooxidans</i>	<i>A.thiooxidans</i>	<i>L.ferrooxidans</i>	Сульфатредуцирующие	Денитрифицирующие
УГП-1	10^2	10^1	10^3	Не обнаружено	Не обнаружено
УГП-2	10^3	10^2	10^1	Не обнаружено	Не обнаружено

Бактерии *A.thiooxidans* способны окислять только восстановленные соединения серы. Вместе с тем встречаются в небольшом количестве представители *A.thiooxidans*. Их количество в производственных растворах УГП-1 составляет всего 10^1 кл/мл, а в УГП-2 доходит до 10^2 кл/мл *A.thiooxidans*.

Leptospirillum ferrooxidans – окисляет только ионы Fe^{2+} . Количество бактериальной клетки *L.ferrooxidans* в выщелачивающих растворах УГП-1 составляет в пределах 10^3 кл/мл, тогда как в растворах УГП-2 достигает всего 10^1 кл/мл.

Представители нейтрофильных групп сульфатредуцирующих и денитрифицирующих бактерий не были замечены. Это, по-видимому, связано с уровнем кислотности исследуемой среды, которая составляет pH 1,5–2,0.

Наиболее широко для бактериального выщелачивания урана применяют тионовые

бактерии *A.ferrooxidans*. Поэтому нами была изучена окислительная активность *A.ferrooxidans* в техническом растворе УГП-2. Для этого 200 мл среду 9К Сильвермана и Люндгрена набрали в качалочную колбу, в качестве инокулята добавляли 40 мл производственного раствора УГП-2 и ежедневно определяли изменения концентрации двух- и трехвалентного железа

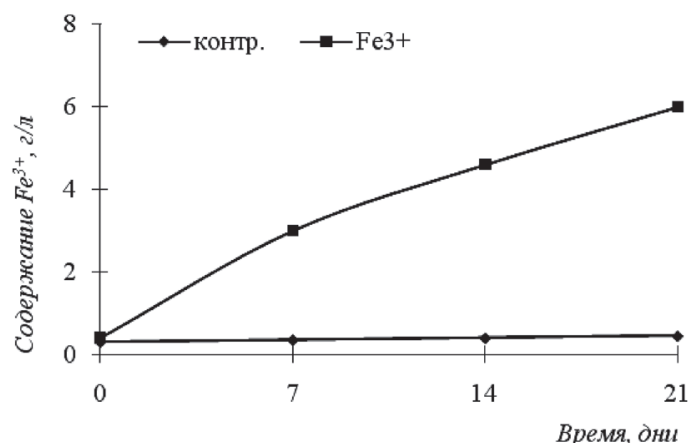
Как видно из рисунка, аборигенная культура *A.ferrooxidans* за 21 сут способна окислять всего 6,0 г/л закиси железа.

В этой смеси до проведения опыта были определены показатели pH, содержания закисного и окисного железа и титр ацидофильных тионовых бактерий. Для установления роли биологического фактора в создании агрессивной среды проводили опыт в нестерильных и стерильных условиях путем сравнения скорости окисления закисного сернокислого железа микробио-

логическим и химическим путём. В период продолжения опыта титр тионовых бактерий увеличивается в 10 раз, а показатель кислотности среды снизился с pH 3,05 до 2,2.

В стерильных условиях величина pH и окисления закисного сернокислого железа практически не происходило. Таким образом, в результате опыта была выявлена основная роль *A. ferrooxidans* в окислении закисного железа до окисного.

Итак, в серии лабораторных модельных и натуральных экспериментов была доказана роль *A. ferrooxidans* и *A. thiooxidans* в создании агрессивной среды на глубине подземного выщелачивания урана, исходя из предположения, что основным фактором, способствующим активному размножению тионовых бактерий в геологических отложениях, является повышенная аэрация.



Динамика образования Fe^{3+} культурой *A. ferrooxidans* в производственном растворе УГП-2

Список литературы

1. Дубинина Г.А. Изучение экологии железобактерий пресных водоемов // Изв. АН СССР. — Сер.биол. — 1976. — №4. — С. 575–592.
2. Илялетдинов А.Н. Микробиологические превращения металлов. — Алма-Ата: Изд-во Наука, 1984. —.
3. Романенко В.Н., Кузнецов С.Н. Экология микроорганизмов пресных водоемов. — Л., 1974. —194 с.
4. Резников А.А., Мулиновская Е.П., Соколова И.Ю. Методы анализов природных вод. —М., 1970. — 250 с.
5. Канаев А.Т. Интенсификация процесса извлечения урана биотехнологическим способом из бедных руд: монография. — Алматы, 2010. —143 с.

References

1. Dubinina G.A. Ecology of Iron Bacteria of Freshwater. Proceedings of the Academy of Sciences of USSR. Biology, 1976. no. 4. pp. 575–592
2. Ilyaletdinov A.N. Microbial Transformation of Metals. Nauka, Alma-Ata, 1984.

3. Romanenko B.N., Kuznetsov S.N. Microbial Ecology of Freshwater. Leningrad, 1974. 194 p.

4. Reznikov A.A., Mulinovskaya E.P., Sokolova I.U. Methods of Analysis of Natural Waters. Moscow, 1970. 250 p.

5. Kanayev A.T. Intensification Process of Uranium Extraction from Poor Ores Using Biotechnological Methods. Almaty, 2010. 143 p.

Рецензенты:

Сейлова Л.Б., д.б.н., профессор кафедры естественных специальностей Казахского национального педагогического университета им. Абая, Казахстан;

Чилдибаев Ж.Б., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой естественных специальностей Казахского национального педагогического университета им. Абая. Институт магистратуры и PhD докторантуры, г. Алматы.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO ШАЛФЕЯ КЛЕЙКОГО (SALVIA GLUTINOSA L.)

¹Карпеченко К.А., ¹Землянухина О.А., ¹Вепринцев В.Н., ¹Карпеченко Н.А.,
¹Карпеченко И.Ю., ¹Кондратьева А.М., ²Калаев В.Н.,
²Лепешкина Л.А., ²Серикова В.И.

¹ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции»,
Воронеж, e-mail: leo-silva@rambler.ru;

²ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Ботанический сад
им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета,
Воронеж, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Изучены особенности микроклонального размножения редкого вида региональной флоры шалфея клейкого (*Salvia glutinosa* L.). Подобраны условия для введения шалфея клейкого в стерильную пробирочную культуру in vitro. Определены тип первичного экспланта, способ стерилизации, солевой и гормональный состав сред. Оработана методика избавления вторичных эксплантов от остаточной эндогенной инфекции путем депонирования их в растворе антибиотика. Оптимизированы минеральный и гормональный состав сред для регенерации имеющихся меристем первичного экспланта, поддержания, мультипликации шалфея in vitro и индукции корнеобразования. Определены сроки, необходимые для прохождения всех этапов развития шалфея клейкого в культуре in vitro: от первичного экспланта до укорененного регенеранта в питательной среде. Полученные растения не витрифицированы, обладают хорошим ростом и развитием вегетативных органов, корней и пригодны для адаптации к почвенным условиям ботанического сада.

Ключевые слова: шалфей клейкий, введение in vitro, микроклональное размножение, культура тканей, корнеобразование

IN VITRO INTRODUCTION OF SALVIA GLUTINOSA L.

¹Karpechenko K.A., ¹Zemlianukhina O.A., ¹Veprintsev V.N., ¹Karpechenko N.A.,
¹Karpechenko I.Y., ¹Kondratieva A.M., ²Kalaev V.N., ²Lepeshkina L.A., ²Serikova V.I.

¹Research Institute of Forest Genetics and Breeding, Voronezh, e-mail: leo-silva@rambler.ru;

²Voronezh State University, Botanical garden of Voronezh state university by the name
of professor B.M. Kozo-Polyansky, Voronezh, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

The features of micropropagation of *Salvia glutinosa* L. *Salvia glutinosa* is a rare species of the regional flora. This species is listed in the regional lists of protected species of plants in central Russia. *Salvia glutinosa* cultivated in the botanical garden by the name professor B.M. Kozo-Polyansky of Voronezh State University in 2003. The study identified by the type of primary explant, the method of sterilization, and hormonal composition of saline environments. A technique for getting rid of secondary explants of endogenous infection. Optimized structure of the mineral and hormonal environment for the regeneration of the primary meristem explants, *Salvia glutinosa* in vitro multiplication and rooting. The terms of passing through all stages of development of *Salvia glutinosa* in culture in vitro: from the primary explant to regenerate rooted in the culture medium. The resulting plants are not vitrified, have good growth and development of vegetative organs and roots. They are suitable for adaptation to soil conditions botanical garden. As a result, you can get a clean source of virus free planting material of introduction for further work.

Keywords: *Salvia glutinosa*, in vitro introduction, microclonal multiplication, tissue culture, rooting

Шалфей клейкий (*Salvia glutinosa* L.) – лекарственное и декоративное растение семейства Губоцветные (*Lamiaceae*). Общий ареал вида охватывает Среднюю и Атлантическую Европу, Западное и Восточное Средиземноморье, Крым, Кавказ и Европейскую часть Средней полосы России [3]. В Центральном Черноземье указывается для Воронежской, Липецкой и Тамбовской областей. Это опушечно-лесной длиннокорневишный травянистый многолетник, 50–120 см высотой, мезофит, микотроф, эвтроф, светолюбивый, теневыносливый [2]. Цветет в августе-октябре. Размножается семенами. Шалфей клейкий содержит эфирное масло, имеющее зеленоватый цвет

и обладающее сильным, напоминающим мускат, не очень приятным запахом [3].

В ботаническом саду им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета культивируется с 2003 года. Выращен из семян репродукции ботанического сада им. акад. О.В. Фомина Киевского госуниверситета. Шалфей клейкий представлен в коллекции «Систематикум флоры Центрального Черноземья» и экспозиции «Дубравы Центрального Черноземья», где редко дает самосев.

В культуре in vitro растения шалфея клейкого образуют многочисленные стебли до 150 см высотой. Внутри куста стебли обычно прямые, по краю – слабоветвящи-

еся, имеют железистое опушение. Ширина листьев 7,5–12,0 см. Длина соцветий от 13 до 40 см. Цветки в мутовках по 2–6, венчики

длиной 3,0–3,5 см, желтые, с красноватым тонким узором на губах и точками с серповидно изогнутой верхней губой (рис. 1).



Рис. 1. Шалфей клейкий на экспозиции «Дубравы Центрального Черноземья» ботанического сада Воронежского госуниверситета

Шалфей клейкий является редким и охраняемым растением. Занесен в Красные книги Республики Башкортостан, Республики Татарстан, Калужской, Московской, Пензенской, Самарской, Саратовской, Тверской и Тульской областей [3]. Нарушение его местообитаний (вырубка лесов, рекреация, лесные пожары) ставит под угрозу существование устойчивых популяций этого вида в регионе. В ботаническом саду Воронежского госуниверситета разрабатываются методы его размножения, которые позволят получить посадочный материал для репатриации растений шалфея клейкого в природные фитоценозы.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей введения в культуру *in vitro* шалфея клейкого. Согласно источникам литературы клональное размножение шалфея клейкого ранее не проводилось.

Материалы и методы исследования

Для введения в стерильную пробирочную культуру *in vitro* использовали осенние побеги растений, культивируемых в ботаническом саду Воронежского госуниверситета. В качестве первичного экспланта был выбран стеблевой сегмент, содержащий пазушные почки, из которых после введения происходило развитие побегов (рис. 2). Стерилизацию проводили

по следующей схеме: побег вводимого растения аккуратно мыли под проточной водой мягкой губкой с ПАВ содержащим моющим средством. Затем обрезали листья на половину длины черешка и нарезали побег на сегменты, удобные для дальнейшей отмычки [1]. Полученные таким образом участки стебля с междоузлиями помещали в стеклянную емкость, заливали водопроводной водой, добавляли каплю ПАВ содержащего моющего средства, накрывали марлей и качали на качалке 10 минут. После этого материал ставили под проточную воду, не снимая марли, на 20 минут. По истечении этого времени в емкость с побегами заливали дистиллированную воду и снова качали 10 минут. Следующие этапы проводили в стерильных условиях: материал подвергали обеззараживанию в стерилизующих растворах, после чего троекратно по 5 минут отмывали в стерильной дистиллированной воде на качалке.

Для обеззараживания первичных эксплантов поверхностную стерилизацию проводили тремя способами. В первом случае материал помещали на 25 минут в раствор гипохлорита натрия (коммерческий отбеливатель «Белизна») и стерильной дистиллированной воды в соотношении 1:3 соответственно. Второй способ отличается тем, что в растворе гипохлорита натрия той же концентрации, что и в предыдущем варианте, экспланты находились 20 минут, после чего их погружали в 70%-й спирт на 10 секунд. В третьем случае использовали 4% раствор гипохлорита натрия, содержащий 0,04%-й мертиолята и стерилизовали 20 минут.



Рис. 2. Побегообразование из пазушных почек на первичных эксплантах шалфея клейкого

После поверхностной стерилизации все экспланты помещали в пенициллиновые пузырьки на полную по макросолям среду Мурасиге и Скуга [5] с добавлением 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП).

Для мультипликации образовавшиеся из пазушных почек регенеранты в ламинаре отделяли от первичного экспланта и помещали на половинную по макросолевному составу среду WPM с добавлением 0,2 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л гибберелловой кислоты (GA_3).

В некоторых случаях от эндогенной инфекции, проявившейся после отделения регенерантов от первичных эксплантов, удавалось избавиться обработкой их раствором бензилпенициллина натриевой соли (1000000 ед./500 мл воды: содержимое одного пузырька антибиотика в 500 мл стерильной дистиллированной воды) в течение 15 минут.

Результаты исследования и их обсуждение

В культуру *in vitro* шалфей клейкий вводили осенними побегами, срезанными с растений, культивируемых в условиях открытого грунта в ботаническом саду Воронежского государственного универ-

ситета. Исходный материал для введения в стерильную культуру *in vitro* отличался высоким уровнем внешней и внутренней естественной инфекции. Возможно это связано с тем, что растения были срезаны в осенний период. Поэтому были опробованы три способа стерилизации. Наблюдения показали, что стерилизующий раствор с 4%-м гипохлоритом натрия и мертиолятом малоэффективен, так как все вводимые побеги в довольно короткий срок (5–6 суток) пропали от развития внутренней бактериальной инфекции. Экспланты, введенные с использованием метода стерилизации гипохлоритом натрия со спиртом, выглядели лучше всего, но в базальной части также была инфекция. Метод стерилизации с использованием только гипохлорита натрия в большой концентрации дольше всего не давал проявляться колониям бактерий, что позволило получить регенеранты из пазух листьев и отделить их от первичных эксплантов (рис. 3).



Рис. 3. Регенеранты, отделенные от первичного экспланта шалфея клейкого

Таким образом, типом первичного экспланта был выбран стеблевой сегмент, содержащий почку и около сантиметра стебля вверх и вниз от почки. Вводимые экспланты помещали в вертикальном положении на полную по солевому составу среду WPM с добавлением 1 мг/л 6-БАП. На этой среде из пазушных почек быстро начинали развиваться побеги – регенеранты, поэтому она оптимальна для развития уже имеющихся меристем. Отметим, что долгое содержание на гормональной среде как первичных эксплантов, так и полученных из них регенерантов не целесообразно. При длительном культивировании растения становятся витрифицированными (обводненными) и могут потерять способность к размножению и корнеобразованию, а впоследствии погибнуть. В результате от пятнадцати первичных эксплантов было получено всего три регенеранта, вследствие чего оказалось актуально увеличение их количества с помощью микрочеренкования. Отделенные побеги поме-

щали в пенициллиновые пузырьки со средой WPM половинной по макросолевому составу (1/2 WPM) с добавлением 0,2 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ГА₃, поскольку она подходит для мультипликации и вытягивания образующихся адвентивных побегов. Для избавления их от эндогенной инфекции, проявившейся после отделения регенерантов, качали на качалке в растворе бензилпенициллина и пересаживали на свежую среду того же состава.

Депонирование *in vitro* проводили с периодическими пересадками на свежую среду, чтобы избежать высыхания и изменения состава среды вследствие жизнедеятельности растений [4].

Следующей после размножения стояла задача корнеобразования. При регулярной пересадке эксплантов на свежую среду корни образовывались в базальной части либо из небольшого каллуса, либо непосредственно на месте среза (рис. 4). Укоренение *in vitro* наблюдалось не ранее, чем через месяц поддержания стерильной культуры.

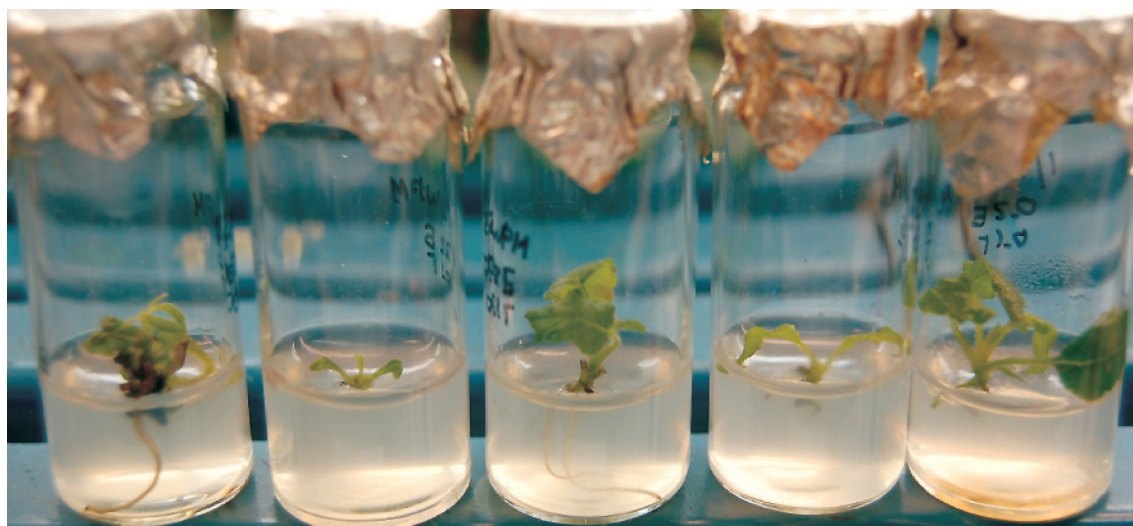


Рис. 4. Корнеобразование у шалфея клейкого в культуре *in vitro*

Полученные укорененные *in vitro* растения шалфея клейкого пригодны для перевода в условия *in vivo*. Сначала они должны пройти период адаптации к почвенным условиям в закрытом грунте, после чего смогут расти в открытом грунте. К преимуществам такого способа размножения можно отнести возможность размножения круглый год, поддержание и сохранение в виде растущей культуры в трудные периоды, простоту передачи и обмена растениями между лабораториями и конечными получателями продукции, возможность быстрого и масштабного тиражирования культур, получение чистого безвирусного исходного растительного

материала для дальнейших интродукционных работ.

Заключение

В результате проведенного нами исследования был разработан метод микроклонального размножения редкого вида региональной флоры – шалфея клейкого. В процессе работы был подобран режим стерилизации, оптимизирован солевой и гормональный состав питательных сред для депонирования, мультипликации и корнеобразования эксплантов шалфея клейкого. Получены укоренившиеся в культуре *in vitro* растения, пригодные для адаптации к естественным условиям.

Работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099.

Список литературы

1. Бутова Г.П., Табацкая Т.М., Скробова Л.Л. Использование методов культуры ткани для размножения и генетического улучшения селекционного материала лесных древесных растений Центральный научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции // Генетика и селекция в лесоводстве. – М., 1991. – С. 41–49.
2. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. – 10-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 600 с.
3. Флора СССР. Т. XXI. Губоцветные (вторая часть) [под ред. В.Л. Комарова]. – М.-Л.: Изд-во Ботанического института академии наук СССР, 1954. – 366 с.
4. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture // Proc. Int. Plant Prop. Soc. – 1981. – Vol. 30. – P. 421–437.
5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

References

1. Butova G.P., T.M. Tabackaja, L.L. Skrobova *Ispol'zovanie metodov kul'tury tkanej dlja razmnozhenija i geneticheskogo uluchshenija lesnyh drevesnyh rastenij* [Using tissue culture techniques for breeding and genetic improvement of breeding material of forest woody plants Central Research Institute of Forest Genetics and Plant Breeding], Genetics and breeding in forestry, 1991. pp. 41–49.
2. Maevskij P.F. *Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii* [The flora of central European part of Russia]. Moscow, 2006. 600 p.
3. Flora of the USSR Lamiaceae (the second part). Vol. 21. [*Flora SSSR Gubocvetnye (vtoraja chast')*]. Moscow-Leningrad, BIN Publ., 1954. 366 p.
4. Lloyd G., McCown B., Proc. Int. Plant Prop. Soc. 1981. Vol. 30. pp. 421–437.
5. Murashige T., Skoog F., Physiol. Plant. 1962. Vol. 15. pp. 473–497.

Рецензенты:

Свистова И.Д., д.б.н., профессор кафедры биологии растений и животных естественно-географического факультета ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж;

Мелькумова Е.А., д.б.н., профессор кафедры ботаники, защиты растений, биохимии, микробиологии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», г. Воронеж.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 611:612 (045)

КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ СТУДЕНТОВ ФАКУЛЬТЕТА ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ

¹Кокурин А.В., ¹Шанкин А.А., ²Малышев В.Г., ¹Кошелева О.А.

¹ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт
имени М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: nir@mordgpi.ru;

²ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет
им. И.Н. Ульянова», Ульяновск, e-mail: ulgpi@mv.ru

Изучалось влияние индивидуальных конституциональных особенностей студентов факультета физической культуры на показатели их физической подготовленности. Всего обследовано 68 студентов в возрасте $22 \pm 0,3$ лет. Применялись следующие методы исследования: измерение длины тела, длины ноги, окружности грудной клетки и массы тела, расчет индекса массы тела, трохантерного индекса, определение эволютивного типа конституции. Кроме того проводилось исследование физической подготовленности: бег на 100 и 1000 м, прыжки в длину и в высоту, подтягивание на перекладине, броски мяча в кольцо. В ходе работы было установлено, что среди обследуемого контингента преобладали студенты с повышенной массой тела (показатель индекса массы тела был у них больше 24). Избыточная масса тела не позволяла многим студентам иметь более высокие показатели физической подготовленности. Кроме того, среди исследуемых преобладали студенты с низкими показателями трохантерного индекса. Стабильные хорошие показатели физической подготовленности были характерны для студентов с нормэволютивным типом конституции, а по показателю подтягивание на перекладине они были лучшими. Таким образом, индивидуальные конституциональные особенности имеют значение при адаптации студентов к физической нагрузке. Их следует учитывать при занятиях физической культурой и спортом.

Ключевые слова: длина тела, длина ноги, окружность грудной клетки, масса тела, индекс массы тела, трохантерный индекс, эволютивный тип конституции, бег, прыжок, подтягивание, бросок

CONSTITUTIONAL FEATURES OF PHYSICAL FITNESS OF STUDENTS FACULTY OF PHYSICAL CULTURE

¹Kokurin A.V., ¹Shankin A.A., ²Malyshev V.G., ¹Kosheleva O.A.

¹Federalnoe state budget institution of higher education «Mordovia State Pedagogical Institute named after M. E. Evseveva», Saransk, e-mail: nir@mordgpi.ru;

²Federalnoe state budget institution of higher education «Ulyanovsk state pedagogical university the name of I.N. Ulyanova», e-mail: ulgpi@mv.ru

We investigated the effect of individual constitutional peculiarities of students at the physical culture on the performance of their physical fitness. The sample of 68 students aged $22 \pm 0,3$ years. We used the following methods: measurement of body length, leg length, circumference of chest and body weight, calculated body mass index, trohanterno index, the definition of evolutionary type of the Constitution. Also surveyed physical fitness: 100 and 1000 m, long jump and high, pulling up on the bar, throwing the ball through the hoop. During the work it was found that among the surveyed students contingent prevailed with a high body mass (a measure of body mass index was greater than they had 24). Overweight is not allowed many students to have higher the refractive physical fitness. In addition, the study of students with low-dominated the refractive index trohanterno. Stable good indicators of physical fitness were characteristic for students with normevoluyutivnym type of constitution, but in terms of pulling on the bar, they were the best. Thus, individual constitutional peculiarities are relevant to students' adaptation to exercise. They should be taken into account in physical education and sport.

Keywords: body length, leg length, chest circumference, body weight, body mass index, trohanterny index, evolutionary type of constitution, running, jumping, pulling, throwing

Представители разных типов конституции имеют специфические особенности, как по уровням, так и по кинетике возрастных изменений важнейших показателей работоспособности. Различия между представителями разных типов конституции внутри каждой возрастно-половой группы иногда выражены сильнее, чем различия между мальчиками и девочками. Это обстоятельство было отмечено ранее при анализе развития моторики у детей дошкольного возраста, в еще большей мере оно проявляется в ходе последующего онтогенети-

ческого развития, особенно – в юношеском возрасте [2]. К концу этого этапа развития складывается специфическая для каждого типа конституции структура энергообеспечения мышечной деятельности, накладывающая отпечаток на все проявления моторики человека. Знание «сильных» и «слабых» сторон каждого из конституциональных типов необходимо учитывать во многих ситуациях, сопряженных с мышечной активностью. Это относится к физическому воспитанию и спорту, оздоровительным формам физической культуры, к трудовым

процессам, к отбору и обучению в целом ряде профессий, где мышечная деятельность играет ключевую роль [3].

Цель исследования – изучение связи конституционального типа возрастной эволюции с физической подготовленностью студентов факультета физической культуры.

Материал и методы исследования

Объектом исследования были 68 студентов факультета физической культуры Мордовского государственного педагогического института им. М.Е. Евсевьева в возрасте $22 \pm 0,3$ лет, проживающих в Республике Мордовия. Использовались следующие методы исследований: измерение длины тела (ДТ), длины ноги (ДН), окружности грудной клетки (ОГК), массы тела (МТ). Проводились расчеты индекса массы тела (ИМТ) и трохантерного индекса (ТИ).

Индекс массы тела =
= Масса тела, кг: (Рост, м $\times$ Рост, м)

Трохантерный индекс =
= Рост стоя, см/Длина ноги, см.

Определение эволютивного типа конституции осуществлялось по В. Г. Штефко (1929) и С.Г. Васильченко (1990). ТИ = 1,95...2,00 соответствует нормэволютивному типу конституции, ТИ = 1,92...1,94 – гипозволютивному типу, ТИ = 2,01...2,03 – гиперэволютивному типу, ТИ = 1,86...1,91 и ТИ = 2,04...2,08 – дисэволютивному типу, ТИ $\geq 2,09$ и ТИ $\leq 1,85$ – патологическому типу конституции.

Тестирование физической подготовленности включало в себя: бег на 100 и 1000 м, прыжки в длину и в высоту, подтягивание на перекладине, броски мяча в кольцо. Полученные экспериментальные данные были обработаны с помощью программы STATISTICA 6.

Результаты исследований и их обсуждение

В табл. 1 представлены антропометрические показатели и показатели физической подготовленности.

Результаты показали, что в целом показатели антропометрии и физической подготовленности студентов факультета физической культуры МордГПИ имени М.Е. Евсевьева не отличались от данных, полученных другими

авторами [4]. Обращала на себя внимание существенная разница между минимальными и максимальными значениями показателей, которая была обусловлена индивидуальными конституциональными особенностями обследованных студентов.

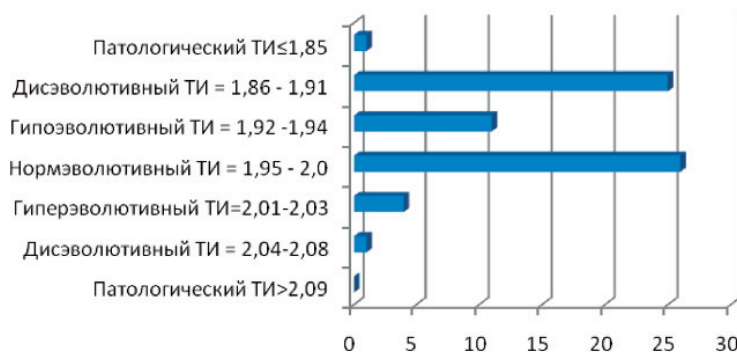
Таблица 1

Антропометрические характеристики и показатели физической подготовленности студентов ($M \pm \delta$)

Показатели	Вариационно-статистические показатели	
	Min-Max	$M \pm \delta$
ДТ, см	164,0–185,0	$173,65 \pm 5,37$
ДН, см	82,0–98,0	$89,54 \pm 4,06$
ОГК, см	76,0–106,0	$92,22 \pm 6,12$
МТ, кг	54,0–97,0	$74,20 \pm 8,53$
ИМТ	19,59–33,56	$24,57 \pm 2,64$
ТИ	1,83–2,07	$1,93 \pm 0,05$
Бег на 100 м, с	11,8–14,4	$13,04 \pm 0,72$
Бег на 1000 м, с	187,0–280,0	$226,68 \pm 27,87$
Прыжки в длину, см	386,0–510,0	$458,68 \pm 30,67$
Прыжки в высоту, см	115,0–150,0	$128,14 \pm 10,64$
Подтягивание на перекладине, раз	0–18,0	$10,37 \pm 4,35$
Броски мяча в кольцо, попадания	1,0–10,0	$5,05 \pm 2,16$

Нами был рассмотрен характер распределения студентов по показателю ИМТ. Высокие показатели ИМТ более 24 наблюдались у 41 студента (60,29%), ИМТ от 22 до 24 – у 17 студентов (25%), ИМТ менее 22 – у 10 студентов (14,7%). Таким образом, было установлено, что многие студенты имели избыточную массу тела.

С помощью трохантерного индекса мы определяли конституциональный тип возрастной эволюции. Распределение студентов по данному типу конституции представлено на рисунке.



Распределение обследованных студентов по величине ТИ и конституциональному типу возрастной эволюции:

1 – по оси абсцисс – число студентов; 2 – по оси ординат – группы студентов по величине ТИ и конституциональному типу возрастной эволюции

Согласно рисунку, наибольшее число девушек относилось к нормэволютивному типу конституции (26 или 38,23%) и дисэволютивному типу конституции с $ТИ = 1,86 - 1,91$ (25 или 36,76%). Следо-

вательно, среди исследуемых преобладали студенты с низкими показателями ТИ. Этот факт может оказать влияние на физическое развитие и физическую подготовленность студентов.

Таблица 2

Зависимость антропометрических параметров и показателей физической подготовленности студентов от ТИ и конституционального типа возрастной эволюции организма ($M \pm \delta$)

Показатели	Конституциональные типы возрастной эволюции						
	Патологический ТИ $\geq 2,09$	Дисэволютивный ТИ = 2,04–2,08	Гиперэволютивный ТИ = 2,01–2,03	Нормэволютивный ТИ = 1,95–2,0	Гипозволютивный ТИ = 1,92–1,94	Дисэволютивный ТИ = 1,86–1,91	Патологический ТИ $\leq 1,85$
ДТ, см	–	170,0	175,0 $\pm$ 3,46	173,38 $\pm$ 5,13	171,45 $\pm$ 5,57	174,96 $\pm$ 5,88	174,0
ДН, с	–	82,0	86,5 $\pm$ 1,95	87,53 $\pm$ 2,64	88,90 $\pm$ 2,94	92,56 $\pm$ 3,55****	95,0*
ОГК, см	–	106,0*	91,5 $\pm$ 2,88	90,92 $\pm$ 6,60	90,63 $\pm$ 3,82	93,08 $\pm$ 5,77	95,0
МТ, кг	–	97,0*	79,0 $\pm$ 0,0	74,15 $\pm$ 9,51	71,25 $\pm$ 5,47	73,28 $\pm$ 6,78	70,0
ИП	–	-33,0**	4,5 $\pm$ 6,36	8,3 $\pm$ 14,18	9,54 $\pm$ 9,57	8,60 $\pm$ 9,49	9,0
ИМТ	–	33,56**	25,81 $\pm$ 1,02	24,63 $\pm$ 2,83	24,26 $\pm$ 1,86	23,85 $\pm$ 1,48	23,12
Бег на 100 м, с	–	14,1	12,75 $\pm$ 0,40	13,06 $\pm$ 0,64	12,87 $\pm$ 0,55	13,11 $\pm$ 1,86	12,6
Бег на 1000 м, с	–	240,0	209,0 $\pm$ 9,23	233,92 $\pm$ 28,77	226,09 $\pm$ 32,98	222,44 $\pm$ 26,69	211,0
Прыжки в длину, см	–	386,0**	472,2 $\pm$ 37,52	456,15 $\pm$ 23,5	487,54 $\pm$ 23,79****	452,12 $\pm$ 27,80	460,0
Прыжки в высоту, см	–	115,0	132,5 $\pm$ 2,88	126,15 $\pm$ 10,79	125,45 $\pm$ 7,89	130,80 $\pm$ 11,33	140,0
Подтягивание на перекладине, раз	–	0**	7,5 $\pm$ 0,57*	12,0 $\pm$ 3,93	11,09 $\pm$ 1,81	9,28 $\pm$ 4,43*	15
Броски мяча в кольцо, попадания	–	5	7,5 $\pm$ 0,57	5,15 $\pm$ 2,32	5,09 $\pm$ 2,02	4,88 $\pm$ 1,87	1

Примечания:

1 – знаком * отмечены статистически значимые различия между нормэволютивным типом конституции и другими типами конституции;

2 – здесь: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,005-0,002$, **** $p < 0,001$.

Согласно результатам, приведенным в табл. 2, при последовательном уменьшении величины ТИ наблюдался ряд изменений антропометрических показателей и показателей физической подготовленности студентов. Характерным оказалось отсутствие в группе обследованных лиц студентов с патологическим типом конституции с $ТИ \geq 2,09$, а студенты с дисэволютивным типом конституции с $ТИ = 2,04...2,08$ значительно отличались от всех других студентов большими размерами ОГК, МТ, ИМТ. Кроме того, они имели наиболее низкие показатели физической подготовленности. При этом студенты с нормэволютивным типом конституции характеризовались стабильно хорошими показателями физического развития, а по подтягиванию на перекладине они были лучшими.

Заключение

В результате проведенного исследования выявлены конституциональные особенности физического развития и физической

подготовленности студентов факультета физической культуры. Отрицательной антропометрической особенностью многих студентов является избыточная масса тела, которая вероятно препятствует достижению лучших результатов при выполнении тестов на физическую подготовленность. Конституциональный тип возрастной эволюции организма оказывает существенное влияние не только на антропометрические характеристики студентов, но и на показатели их физической подготовленности. На основании полученных результатов можно дать рекомендации по активизации двигательной активности студентов, нормализации их питания и повышения показателей физической подготовленности.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы Государственного контракта № П1060 от 31 мая 2010 г. на тему «Конституциональные особенности реакции системы кровообращения на физическую нагрузку».

Список литературы

1. Сексопатология / Г.С. Васильченко, С.Г. Агаркова, С.Г. Агарков и др.: справочник. – М.: Медицина, 1990. – 576 с.
2. Изаак С.И. Конституциональный фактор роста и созревания ребенка / С.И. Изаак, Т.В. Панасюк, Р.В. Тамбовцева // Физиология человека. – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 29.
3. Возрастное развитие энергетики мышечной деятельности / И.А. Корниенко, В.Д. Сонькин, Р.В. Тамбовцева, Т.В. Панасюк // Физиология человека. – 2007. – Т. 35, №6. – С. 90–99.
4. Цветков С.М. Адаптационные способности спортсменов и лиц, не занимающихся спортом // Вестник Новгородского государственного университета. – 2006. – №35. – С. 21–24.
5. Штефко В.Г., Островский А.Д. Схемы клинической диагностики конституциональных типов – М.: Биомедгиз, 1929. – 79 с.

References

1. Vasilchenko G.S., Agarkova S.G., Agarkov S.G. Seksopatologiya. Moscow, Meditsina, 1990, 576 p.
2. Izaak S.I., Panas'uk T.V., Tambovtseva R.V. Konstitutsional'nyi factor rosta isozrevaniyarebyonka. Fiziologiyacheloveka, 2001, V.27, no. 6, pp. 29.

3. Kornienko I.A., Son'kin V.D., Tambovtseva R.V., Panas'uk T.V. Vozrastnoerazvitiieenergetikimyshechnojdeyatelnosti. Fiziologiyacheloveka, 2007, Vol. 35, no.6, pp. 90–99.

4. Tsvetkov S.M. Adaptatsionnyesposobnostisportsmenov i lits ne zanimayuschisysportom. Vestnik of Novgorodskii State University, 2006, no.35, pp. 21–24.

5. Shtefko V.G., Ostrovskij A.D. Skhemy klinicheskoyadiagnostikikonstitutsional'nyhtipov. Moscow, Biomedgiz, 1929, 79 p.

Рецензенты:

Шубина О.С., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии и спортивной медицины ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева», факультет физической культуры, г. Саранск;

Федотова Г.Г., д.б.н., профессор кафедры биологии и спортивной медицины ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева», факультет физической культуры, г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 08.03.2012.

УДК 616.71-018.46-005-003.219

ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В КРАСНОМ КОСТНОМ МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА

Лазько А.Е., Овсянникова О.А., Карпеева Д.В.

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России», Астрахань, e-mail: radmila56@mail.ru

Проведено исследование микроциркуляции крови в красном костном мозге проксимального метафиза бедренной кости белых нелинейных крыс-самцов от 225 до 630 суток жизни, интактных и подвергшихся действию субтоксических доз ($90 \pm 4 \text{ мг/м}^3$) серосодержащего газа, методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием ацетилхолиновой функциональной пробы. В качестве токсического агента был применен промышленный природный серосодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения. Выявлено снижение интенсивности микроциркуляции крови в красном костном мозге у интактных крыс в онтогенезе, статистически достоверное в предстарческом периоде развития (630 суток) по сравнению с более молодыми. Токсическое воздействие резко снижает интенсивность микроциркуляции в костном мозге, что наиболее выражено у молодых животных (225 суток развития). У экспериментальных животных присутствовали отчетливые признаки развития дисфункции эндотелия, выражающиеся в более низкой интенсификации микроциркуляции в ответ на воздействие ацетилхолина на красный костный мозг по сравнению с контрольными животными. Реакция гемомикроциркуляции в красном костном мозге на ацетилхолиновую пробу положительна и является суперпозицией возраста и внешнего негативного воздействия.

Ключевые слова: гемомикроциркуляция, красный костный мозг, серосодержащий газ, эндотелиальная дисфункция

GEMOMICROCIRCULATION IN RED BONE MARROW UNDER THE EFFECT OF SULFUR-CONTAINING GAS

Lazko A.E., Ovsyannikova O.A., Karpeeva D.V.

Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan, Russia e-mail: radmila56@mail.ru

The investigation of blood microcirculation in the bone marrow of proximal metaphysis of the femur of white non-linear male rats from 225 to 630 days of life, intact and exposed to subtoxic doses ($90 \pm 4 \text{ mg/m}^3$) of sulfur-containing gas by laser Doppler flowmetry (LDF) with acetylcholine functional test. As the toxic agent was applied industrial natural sulfur-containing gas of the Astrakhan gas-condensate field. Decrease in intensity of blood microcirculation in a red marrow at intact rats in ontogenesys, statistically authentic in the presenile period of development (630 days) in comparison with younger is revealed. Toxic effects dramatically reduces the intensity of the microcirculation in the bone marrow, which is most pronounced in young animals (225 days of development). In experimental animals were present clear signs of endothelial dysfunction, manifested in lower intensification of microcirculation in response to impact of acetylcholine on a red marrow compared with control animals. Blood microcirculation reaction in a red marrow on acetylcholine functional test is positive and is superposition of age and external negative impact.

Keywords: blood microcirculation, red bone marrow, sulfur-containing gas, endothelial dysfunction

Перед современной наукой остро стоит проблема предотвращения вредного влияния физических, химических факторов и их комбинаций на организм человека. В этом случае весьма важны нарушения в одной из наиболее реактивных систем организма – системе кроветворения и её главнейшем морфологическом субстрате – красном костном мозге [7].

По мнению крупнейших отечественных исследователей [6, 9], одним из главнейших морфофункциональных компартментов любого анатомического образования, в том числе и эритропоэтического, определяющих его гомеостаз и, как следствие, степень устойчивости к негативным воздействиям, является его система микроциркуляции. В настоящее время для оценки функции этой системы успешно используется лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – один из наиболее перспективных методов,

дающих интегральную оценку характеру микроциркуляции [5].

В результате исследований стало очевидным, что эндотелий – это не просто внутренний слой клеток в сосудах, а это активная метаболическая система, которая функционирует как рецепторно-эффektorный орган, реагирующий на любой физический или химический раздражитель с выделением соответствующих веществ, с помощью которых он может поддерживать вазомоторный баланс и сосудистотканевый гомеостаз [1; 10]. Повреждение или чрезмерная активация эндотелия разрывает нормальные регуляторные связи и приводит к нарушению его функции, причем повреждения сосудистой стенки могут быть как структурными, так и функциональными, обусловленными нарушением клеточного метаболизма, истощением энергетических запасов, ингибированием

отдельных функциональных систем сосудистой стенки [3].

Характер микроциркуляции отражает множество взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов, таких, в частности, как закономерности тока крови в микрососудах и состояние эндотелия, как в норме на различных этапах онтогенеза, так и при воздействии негативных факторов внешней среды, например таких широко распространенных в промышленности, как газообразные серосодержащие поллютанты. Таким образом, **целью данного исследования** стало изучение особенностей микроциркуляции с помощью ЛДФ в костном мозге у крыс на различных этапах постнатального онтогенеза в норме и при экспериментальном воздействии субтоксических доз серосодержащего газа.

Материал и методы исследования

Для изучения микроциркуляции были использованы белые нелинейные крысы-самцы в возрасте от 225 до 630 суток жизни, массой 180–250 г. Были сформированы две группы животных: контрольная (24 особи) и экспериментальная (48 животных), которая подвергалась воздействию серосодержащего газа. Эксперимент проводился в момент, когда животные достигали возраста, равного половине того периода своего развития, который соответствовал выбранному для экстраполяции этапу онтогенеза человека (таблица). Таблица построена по данным, приведенным в работе [2] с разбивкой зрелого периода онтогенеза крыс на два подпериода, соответственно таковому у человека.

В качестве токсического агента был применен промышленный природный серосодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения. В экспериментах использовалась концентрация серосодержащего газа в газовой смеси, составляющая 90 ± 4 мг/м³ по сероводороду, что в 30 раз больше предельно допустимой концентрации (ПДК) сероводорода для рабочих зон химических предприятий при одновременном присутствии углеводородов.

Распределение экспериментальных животных в соответствии с периодами онтогенеза человека

Человек	Лабораторные крысы	
Период	Период	Возраст (сут.)
Юношеский возраст	Молодой	225
Взрослый возраст, I период	Зрелый I	383
Взрослый возраст, II период	Зрелый II	487
Зрелый возраст	Предстарческий	630

Концентрация сероводорода в затравочной камере производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана измерялась индикаторными трубками фирмы «Ауег».

Условия эксперимента полностью соответствовали правилам проведения токсикологических экспериментов, изложенных в издании ВОЗ [8] и приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003.

Контрольными являлись крысы аналогичных возрастных групп, которые так же, как и экспериментальные, для нивелирования стрессорных эффектов по 6 особей находились 4 часа в герметически закрытой затравочной камере в тех же условиях, что и опытные, но без присутствия серосодержащего газа.

Измерение микроциркуляции проводили в условиях острого опыта: после наркотизации путем внутрибрюшинного введения раствора этиминала натрия из расчета 4 мг на 100 г массы тела животного производился доступ к проксимальному метафизу бедренной кости, а именно, к участку, расположенному дорзотерально между большим и малым вертелом бедра. Костная ткань метафиза щадяще фенестрировалась с формированием отверстия диаметром в 1,5 мм для оценки микроциркуляции костного мозга.

Исследования проводились при комнатной температуре 21–23 °С. Для получения данных о микроциркуляции использовалось оборудование НПП «Лазма» – ЛАКК-02 (Россия). Результаты ЛДФ-тестирования регистрировали в относительных перфузионных единицах – ПФ, которые отражают степень перфузии, преимущественно эритроцитарной фракцией крови, единицы объема ткани за единицу времени и позволяют проследить ее динамику при различных воздействиях [4].

Осуществлялась фармакологическая проба с ацетилхолином путем аппликации 1 мкл 0,001 %-го водного раствора в фенестрированное отверстие с последующей регистрацией изменений микроциркуляции. Регистрация и обработка данных производились с помощью программы LDF 2.20.0.507 WL. Статистический анализ полученных данных осуществлялся при помощи утилиты OpenOffice Calc программного продукта OpenOffice.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали исследования, возрастные колебания интенсивности микроциркуляции крови в красном костном мозге интактных крыс статистически достоверны на протяжении от 225 до 487 суток постнатального онтогенеза (рис. 1). С увеличением возраста животных до 630 суток наблюдается выраженное статистически высокодостоверное ($P < 0,01$) падение интенсивности микроциркуляции на 18 ± 2 %.

Воздействие субтоксических концентраций серосодержащего газа вызывает выраженное снижение интенсивности микроциркуляции в красном костном мозге крыс практически в два раза на всех изучаемых этапах постнатального онтогенеза. Однако наиболее значительное угнетение микроциркуляции на 57 ± 4 % наблюдается у молодых животных.

В I зрелом периоде онтогенеза у экспериментальных животных наблюдается статистически достоверное ($P < 0,05$) повышение уровня микроциркуляции по сравнению с предыдущим периодом на 5 ± 1 %. С дальнейшим увеличением возраста колебания интенсивности микроциркуляции у экспериментальных животных были статистически недостоверными.

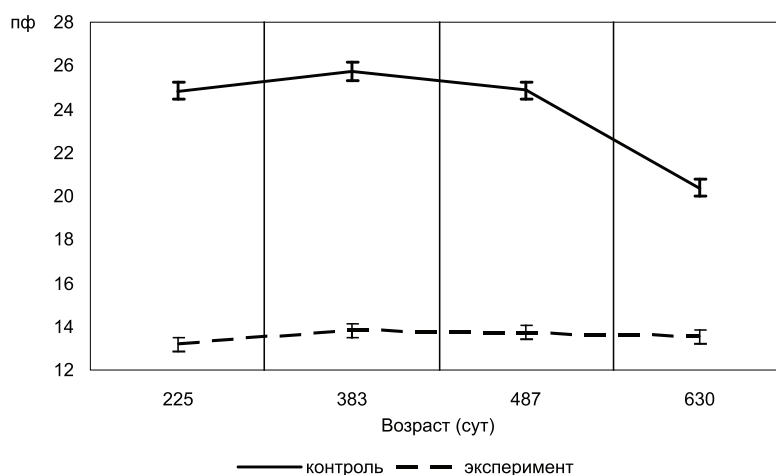


Рис. 1. Возрастная динамика интенсивности микроциркуляции у интактных животных (контроль) и подвергнутых воздействию серосодержащего газа (эксперимент)

Воздействие ацетилхолина на микроциркуляторное русло вызывает интенсификацию микроциркуляции (рис. 2–4), как у интактных животных, так и у подвергнутых воздействию субтоксических концентраций серосодержащего газа.

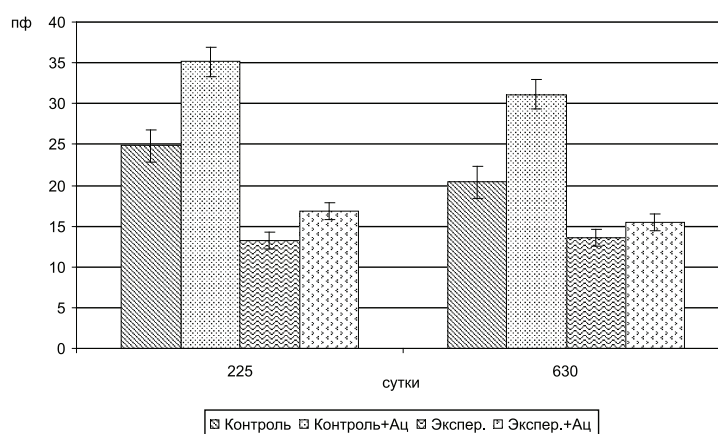


Рис. 2. Влияние ацетилхолина на микроциркуляцию у интактных животных (контроль) и подвергнутых воздействию серосодержащего газа (эксперимент)

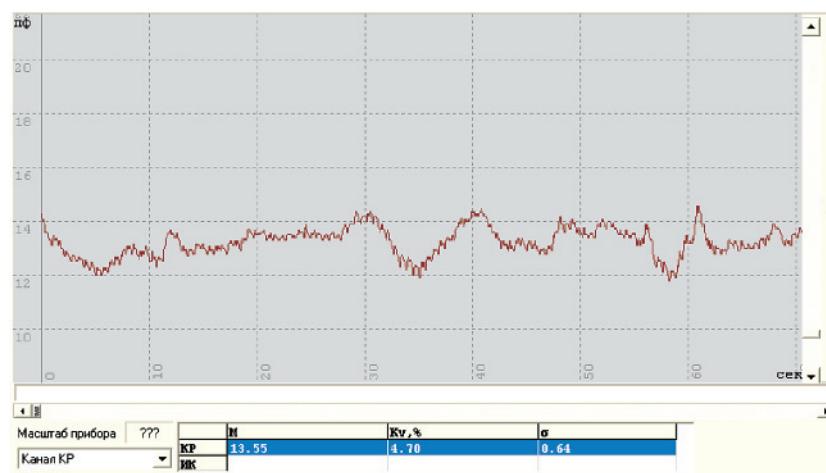


Рис. 3. ЛДФ-грамма микроциркуляции в красном костном мозге крысы 630 суток онтогенеза после воздействия серосодержащего газа

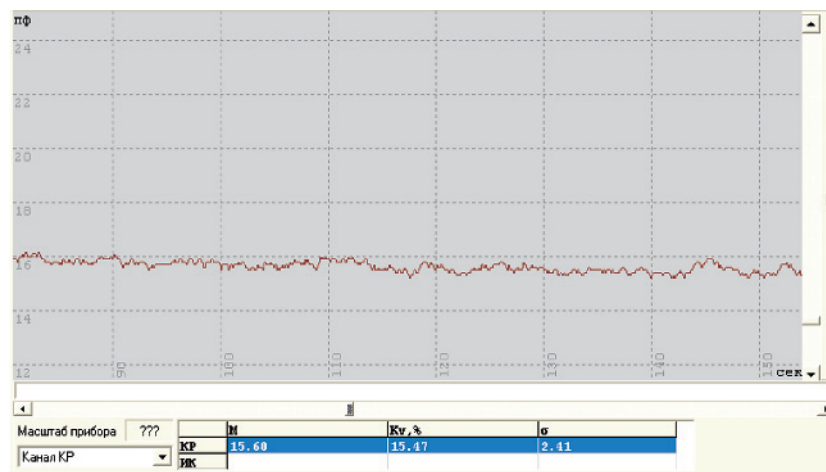


Рис. 4. ЛДФ-грамма микроциркуляции в красном костном мозге крысы 630 суток онтогенеза после воздействия серосодержащего газа и ацетилхолиновой пробы

Степень интенсификации микроциркуляции при ацетилхолиновой пробе, которая определяется в основном реакцией эндотелия, модулируется возрастом и токсическим воздействием. Так, воздействие ацетилхолина вызывает у интактных животных статистически высокодостоверное ($P < 0,01$) увеличение перфузии красного костного мозга на $29 \pm 4\%$ у крыс 225 суток развития и на $35 \pm 5\%$ у 630 суточных.

Большее, хотя и статистически недостоверное ($P > 0,05$), увеличение объема гемомикроциркуляции у животных предстарческого периода онтогенеза по сравнению с молодыми можно объяснить недостаточной сформированностью у последних механизмов ответа системы микроциркуляции на внешнее воздействие, что, впрочем, требует дальнейшего изучения.

Воздействие серосодержащих поллютантов значительно модифицирует реакцию гемомикроциркуляции на ацетилхолиновую пробу, как у молодых животных, так и в предстарческом периоде онтогенеза. Так, у молодых экспериментальных животных воздействие ацетилхолина вызывает статистически достоверное ($P < 0,05$) увеличение интенсивности микроциркуляции на $22 \pm 4\%$, а у животных предстарческого возраста статистически недостоверная ($P > 0,05$) интенсификация микроциркуляции достигает лишь $13 \pm 5\%$.

Следовательно, угнетение реакции гемомикроциркуляции на ацетилхолиновую пробу, обусловленное токсическим воздействием и являющееся следствием дисфункции эндотелия, составляет для молодых животных 132%, а для животных предстарческого периода онтогенеза – 269%.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Интенсивность гемомикроциркуляции в красном костном мозге зависит от стадии постнатального онтогенеза организма и с возрастом снижается.

2. Токсическое воздействие, например, газообразных серосодержащих поллютантов, вызывает резкое угнетение гемомикроциркуляции в красном костном мозге, наиболее выраженное у молодых животных.

3. Интенсивность микроциркуляции после токсического воздействия незначительно, но статистически достоверно повышается в группе животных I взрослого возраста по сравнению с предыдущей стадией онтогенеза и остается практически постоянной до предстарческого возраста.

4. Реакция гемомикроциркуляции в красном костном мозге на ацетилхолиновую пробу положительна и является суперпозицией возраста и внешнего алтерерирующего воздействия.

5. Животные предстарческого возраста обнаруживают более выраженную уязвимость гемомикроциркуляции красного костного мозга по сравнению с молодыми. Она вызвана, скорее всего, возрастной деградацией метаболизма эндотелия и нейрогуморальных механизмов регуляции микроциркуляции.

Список литературы

1. Гомазков, О.А. Молекулярные и физиологические аспекты эндотелиальной дисфункции. Роль эндогенных химических регуляторов // Успехи физиол. наук. – 2000. – Т. 31, № 4. – С. 48–62.
2. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные – Киев: Вища школа, 1983. – 381 с.

3. Кароли Н.А. Вазорегулирующая активность эндотелия и легочная гипертензия / Н.А. Кароли, А.П. Ребров // Терапевтический архив. – 2004. – №12. – С. 39–44.

4. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции у человека // В.И.Козлов, Ф.Б. Литвин, Т.И. Станишевская, М.В. Морозов / Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology. Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2007. – №9. – С. 249.

5. Крупаткин А.И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.

6. Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И. Микроциркуляторное русло. – М.: Медицина, 1975. – 340 с.

7. Лазько А.Е., Ярошинская А.П. Система крови в условиях воздействия серосодержащих поллютантов // Успехи современного естествознания. – М., 2007. – №8. – С. 54.

8. Принципы и методы оценки токсичности химических веществ. – Ч.1. Женева, ВОЗ, 1981. – 312 с.

9. Чернух А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.Б. Алексеев. – М.: Медицина, 1975. – 455 с.

10. Luscher T.F. Biology of endothelium / T.F. Luscher, M. Barton // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 10, № 11. – P. 3–10.

References

1. Gomazkov O.A. Molekulyarnye i fiziologicheskie aspekty jndotelial'noj disfunkcii. Rol' jndogennyh himicheskikh regulyatorov – Uspehi fiziol. nauk. 2000. T. 31, no. 4. pp. 48–62.

2. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zahariya E.A. Laboratornye zhivotnye Kiev: Vischa shkola. 1983. 381 p.

3. Karoli N.A. Vazoreguliruyuschaya aktivnost' jndoteliya i legochnaya gipertoniya / N.A. Karoli, A.P. Rebrov – Terapevticheskij arhiv. 2004. no. 12. pp. 39–44.

4. Kozlov V.I. Individual'no-tipologicheskie osobennosti mikrocirkulyacii u cheloveka // V.I. Kozlov, F.B. Litvin, T.I. Stanishevskaya, M.V. Morozov / Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology. Biomedical and Biosocial Anthropology. 2007. no. 9. pp. 249.

5. Krupatkin A.I. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrocirkulyacii krovi / A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov M.: Medicina. 2005. 254 p.

6. Kupriyanov V.V., Karaganov Ya.L., Kozlov V.I. Mikro-cirkulyatornoe ruslo / V.V. Kupriyanov, Ya.L. Karaganov, V.I. Kozlov. M., Medicina. 1975. 340 p.

7. Laz'ko A.E., Yaroshinskaya A. P. Sistema krovi v usloviyah vozdejstviya serosoderzhaschih pollyutantov "Uspehi sovremennogo estestvoznaniya", Moskva, 2007, no. 8, pp. 54.

8. Principy i metody ocenki toksichnosti himicheskikh veshchestv / Ch.1. Zheneva, VOZ, 1981. 312 p.

9. Chernuh, A. M. Mikrocirkulyaciya / A.M. Chernuh, P.N. Aleksandrov, O.B. Alekseev. – M.: Medicina, 1975. 455 p.

10. Luscher, T.F. Biology of endothelium. / T.F. Luscher, M. Barton – Clin. Cardiol. 1997. Vol.10, no. 11. pp. 3–10.

Рецензенты:

Молдавская А.А., д.м.н., профессор, профессор кафедры анатомии человека Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань;

Сентюрова Л.Г., д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 09.04.2012.

УДК 57.014 57.044

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ХИНОЛИНОВОГО РЯДА НА ВСХОЖЕСТЬ И РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ РОДОДЕНДРОНА ЛЕДЕБУРА (RHODODENDRON LEDEBOURII POJARK.)

Моисеева Е.В., Баранова Т.В., Калаев В.Н., Кузнецов Б.И., Щербakov Г.С.,
Воронин А.А., Потапов А.Ю., Шихалиев Х.С.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

В статье приводятся результаты изучения влияния соединений хинолинового ряда на всхожесть и ростовые процессы семян рододендрона Ледебура (*Rhododendron ledebourii* Pojark.). Значения средней всхожести семян при обработке 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолином (концентрация 0,05 и 0,1%), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолином (концентрация 0,1%), 1,2,3,4-тетрагидрохинолин -8-карбоновая кислотой (концентрация 0,01 и 0,05%) выше, чем в контрольной группе. У двух рассматриваемых соединений, принадлежащих хинолиновому ряду (2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин, 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин), просматривается отчетливая тенденция увеличения всхожести семян при увеличении концентрации. Значения средней высоты проростков при использовании трех концентраций рассматриваемых химических соединений превысило значение контроля. Для всех концентраций химических соединений, контроля и «Эпина-Экстры» наблюдаются низкие значения коэффициента вариаций и дисперсий, что свидетельствует о выровненной реакции генотипа на действие химических соединений, оказывающих стимулирующее действие. Химические соединения 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин (в концентрации 0,1%), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин (в концентрации 0,1%), 1,2,3,4-тетрагидрохинолин – 8-карбоновая кислота (в концентрации 0,01%) оказывают стимулирующее действие как на всхожесть, так и на высоту проростков.

Ключевые слова: новые химические соединения хинолинового ряда, рододендрон Ледебура, всхожесть и ростовые процессы, стимулирующее действие.

IMPACT OF NEW COMPOUNDS SYNTHESIZED SERIES ON THE GERMINATION AND GROWTH PROCESSES OF RHODODENDRON LEDEBOUR (RHODODENDRON LEDEBOURII POJARK.)

Moiseeva E.V., Baranova T.V., Kalaev V.N., Kuznetsov B.I., Scherbakov G.S., Voronin A.A., Potapov A.Y., Shihaliyev H.S.

Voronezh State University, Voronezh, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Results from study of influence of new synthesized chemical substances of hynolins range for the germination power of seeds and the growth processes at *Rhododendron ledebourii* have been presented in the article. investigated. The middle meaning of the germination power by the treatment of 2,2,4-threemethyl – 1,2,3,4-tetrahydrohynolin (at 0,05 and 0,1% concentration), 2,2,4-threemethyl – 1,2 – dihydrohynolin (at 0,1% concentration), 1,2,3,4-tetrahydrohynolin -8-carbon acid (at 0,01 and 0,05% concentration) higher than in control group. The indentified tend of the rise the germination power of seeds from increase of the concentration of two represented substances of hynolins range (2,2,4-threemethyl – 1,2,3,4-tetrahydrohynolin, 2,2,4-threemethyl – 1,2-dihydrohynolin). The middle meaning of the seedlings high by using of three concentrations from three represented chemical substances higher than in the control. The low meanings of the variation coefficient and dispersion have been indentified for all concentrations of chemical substances, the control and «Epin-Extra». This fact means the similar genotype reaction for the stimulating action of chemical substances. The chemical substances: 2,2,4-threemethyl – 1,2,3,4-tetrahydrohynolin (at 0,1% concentration), 2,2,4-threemethyl – 1,2-dihydrohynolin (at 0,1% concentration), 1,2,3,4-tetrahydrohynolin -8-carbon acid (at 0,01% concentration) have been shown the stimulating influence for the growth processes (the germination power of seeds and the seedlings high).

Keywords: new chemical compounds, the quinoline series, rhododendron Ledebour, germination and growth processes, stimulating effect

В связи с ухудшением экологической обстановки в крупных городах РФ, изменением климата и старением городских древесно-кустарниковых насаждений для озеленения требуются новые виды растений и эффективные способы стимулирования их роста и развития. В настоящее время различными исследователями разрабатываются новые стимуляторы роста и развития, древесно-кустарниковых растений [2, 4, 6] В статье И.М. Кокшеевой [3] приводятся результаты экспериментов по оптимизации методик проращивания семян для видов рода *Rhododendron* L. (семейство *Ericaceae* D.C.).

Приведены данные о влиянии стимулятора роста эпина и минерального удобрения AVA для посева семян, доказано их положительное влияние на всхожесть, энергию прорастания семян представителей рода рододендрон.

Объектом исследований нами были выбраны семена рододендрона Ледебура (*Rhododendron ledebourii* Pojark.), в природе произрастающего на Алтае, в Монголии. Рододендрон Ледебура представляет собой полувечнозеленый кустарник до 2 м высотой, обладающий высокими декоративными свойствами [1]. По многолетним наблюдениям в условиях ботанического сада

им. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета рододендрон Ледебура является зимостойким, засухоустойчивым и плодоносящим растением.

Целью исследований являлось изучение влияния на всхожесть и ростовые процессы рододендрона Ледебура соединений хинолинового ряда.

Материалы и методы исследования

Для испытания влияния на всхожесть семян и ростовые процессы рододендрона Ледебура нами совместно с кафедрой органической химии Воронежского государственного университета были испытаны синтезированные органические соединения хинолинового ряда:

1. 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин, кристаллический порошок, коричневого цвета.

2. 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин, кристаллический порошок бежевого цвета.

3. 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-карбоновая кислота, белый порошок, плохо растворимый в воде.

Для каждого из испытываемых соединений нами были взяты три концентрации: 0,1; 0,05; 0,01 %. Для каждой из концентраций эксперимент проводили в трех повторностях по 100 семян. Обработку семян проводили 18-часовым замачиванием в каждом их исследуемых растворах, после чего семена помещались в чашки Петри на фильтровальную бумагу. В качестве контроля были взяты семена рододендрона Ледебура, замоченные в водопроводной воде в трех повторностях по 100 семян. Для сравнения действия испытываемых соединений на семена и ростовые процессы рододендрона Ледебура нами использовался стандартный стимулятор эпинбрасинолит («Эпин-Экстра» ННПП «НЭСТ М», РФ). «Эпин-Экстра» применялся в концентрации, рекомендованной производителем (0,05 %). Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе А.П. Кулаичева [5]. Сравнение высоты проростков осуществлялось с использованием t-критерия Стьюдента. Всхожесть семян в контрольном и опытных вариантах сравнивали с использованием Z-аппроксимации для критерия равенства частот. Влияние фактора воздействия химических соединений на ростовые показатели изучаемого растения определяли с использованием параметрического дисперсионного анализа. Силу влияния фактора вычисляли согласно рекомендациям Снедекора (в %). Для оценки степени варьирования признака определяли коэффициент вариации (Cv) согласно рекомендациям Г.Ф. Лакина. Cv менее 10 % соответствует низкой степени варьирования признака, от 10 до 25 % – средней, свыше 25 % – высокой [7].

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что все изучаемые химические соединения во всех взятых концентрациях оказали влияние на всхожесть семян рододендрона Ледебура. Средняя всхожесть семян в контроле составила 29,7 % (табл. 1), а средняя всхожесть при использовании коммерческого препарата

«Эпин-Экстра» – 52,3 %. Максимальная средняя всхожесть нами отмечена при использовании концентраций 0,01 % и 0,05 % 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-карбоновой кислоты (39,8 и 30,3 % соответственно, различия с контролем достоверны ($P < 0,01$)), концентрации 0,1 % 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин (35 %). При использовании химических стимуляторов в указанных концентрациях всхожесть семян рододендрона Ледебура была выше, чем в контрольной группе. Следует отметить, что при обработке семян растворами 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолина и 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолина с увеличением концентрации отмечается увеличение всхожести. Наименьшие значения средней всхожести семян наблюдались при обработке семян концентрацией растворов 0,1 % 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолина, 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолина. Было отмечено, что средняя всхожесть семян при использовании растворов всех изучаемых химических соединений ниже, чем при использовании коммерческого препарата «Эпин-Экстра».

Дисперсионный анализ выявил влияние химических соединений на высоту проростков рододендрона Ледебура (табл. 2). Минимальные значения силы влияния отмечены для химического соединения 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин (0,2 %), а максимальные для 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолина (1,5 %).

При анализе полученных данных было установлено, что все изучаемые химические соединения оказывают влияние на ростовые процессы проростков рододендрона Ледебура (табл. 3). Средняя высота проростков в контрольной группе составила наименьшее значение из всех рассматриваемых ($0,45 \pm 0,01$ см), варьирование признака было невысоким ($Cv = 11,1$ %). Воздействие коммерческого препарата «Эпин-Экстра» оказалось положительным ($1,15 \pm 0,05$ см), при незначительном коэффициенте вариации 4,8 %. Наибольшие значения высоты проростков рододендрона Ледебура были отмечены для растворов следующих химических соединений: 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин в концентрации 0,05 % ($1,28 \pm 0,01$ см), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин в концентрации 0,1 % ($1,24 \pm 0,02$ см), 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин в концентрации 0,1 %, ($1,23 \pm 0,01$ см). Значения высоты проростков для указанных концентраций соединений выше значений высоты проростков рододендрона Ледебура при обработке препаратом «Эпин-Экстра». Наименьшие значения высоты проростков

отмеченные для следующих химических соединений, при этом они превышают значения в контрольной группе: 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин в концентрации 0,05 % ($0,46 \pm 0,09$ см), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин в концентрации 0,1 % ($0,47 \pm 0,01$ см). Следует отметить низкие значения коэффициента вариации и дисперсии для всех концентраций химических

соединений, контроля и «Эпина-Экстры» (S_v от минимального 2,6 % до максимального 11,1%; S_x^2 : от минимального 0,001 до максимального 0,009), что свидетельствует о выровненной реакции генотипов на действие стимуляторов. В целом, все исследуемые химические соединения оказывают стимулирующее действие на высоту проростков рододендрона Ледебура.

Таблица 1

Всхожесть семян (%) рододендрона Ледебура при их обработке химически синтезированными соединениями хинолинового ряда

Название стимулятора, концентрация, %	Всхожесть семян, %	Max – min	Cv	S_x^2	S_x
Контроль	29,7	16–49	58,1	296,3	17,2
Эпин 0.05 %	52,3	44–62	17	82,3	9
<i>2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин</i>					
0,01 %	15,2***, c	10–18	29,3	19	4,34
0,05 %	28,5 ^c	6–48	75	444	21
0,1 %	39,3*, c	30–50	25,6	101,3	10
<i>2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин</i>					
0,01 %	27,6 ^c	18–40	41,8	129,3	11,4
0,05 %	27,3 ^c	16–39	42,6	133	11,5
0,1 %	35,4 ^b	27–50	37,1	169	13
<i>1,2,3,4-тетрагидрохинолин -8-карбоновая кислота</i>					
0,01 %	39,8**, в	14–62	60,9	584,3	24,2
0,05 %	30,3**, c	15–41	44,9	185,3	13,6
0,1 %	22,3*, c	17–27	22,4	25,3	5

Обозначения: * – различия с контролем достоверны ($P < 0,05$); ** – различия с контролем достоверны ($P < 0,01$); *** – различия с контролем достоверны ($P < 0,001$); а – различия с эпином достоверны ($P < 0,05$); в – различия с эпином достоверны ($P < 0,01$); с – различия с эпином достоверны ($P < 0,001$); C_v – коэффициент вариации; S_x^2 – дисперсия; S_x – стандартное отклонение.

Таблица 2

Сила влияния химических соединений на высоту проростков рододендрона Ледебура

Название стимулятора, концентрация, %	С контролем	С эпином	Без учета контроля
2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин	1,5***	1***	1***
2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин	1***	0,2***	0,5***
1,2,3,4-тетрагидрохинолин -8-карбоновая кислота	1***	1***	1***

Обозначения: * – влияние фактора достоверно ($P < 0,05$); ** – влияние фактора достоверно ($P < 0,01$); *** – влияние фактора достоверно ($P < 0,001$).

При сравнении влияния на всхожесть и ростовые процессы рододендрона Ледебура были выявлены химические соединения, оказывающие стимулирующий эффект на оба показателя: 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин (в концентрации 0,1 %), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин (в концентрации 0,1 %).

Выводы

Полученные данные о влиянии изучаемых химических соединений позволяют сделать вывод об их стимулирующем действии на всхожесть семян рододендрона Ледебура и ростовые процессы. Значения средней всхожести семян при обработке 2,2,4-триметил

тил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолином (концентрация 0,05 и 0,1 %), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолином (концентрация 0,1 %), 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-карбоновая кислота (концентрация 0,01 и 0,05 %), выше, чем у контрольной группы. У двух

рассматриваемых соединений, принадлежащих хинолиновому ряду (2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин, 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин), просматривается отчетливая тенденция увеличения всхожести семян при увеличении концентрации.

Таблица 3

Высота проростков рододендрона Ледебура при их обработке химически синтезированными соединениями хинолинового ряда

Название стимулятора, концентрация, %	Высота проростков, см	Max – min	Cv	Sx ²	Sx
Контроль	0,45 ± 0,01	0,4–0,5	11,1	0,034	0,05
Эпин 0.05 %	1,15 ± 0,05	1–1,2	4,8	0,003	0,05
<i>2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин</i>					
0,01 %	1,12 ± 0,02***	1–1,2	7,3	0,007 ^b	0,08
0,05 %	1,09 ± 0,01***	1–1,1	2,6	0,001 ^a	0,03
0,1 %	1,23 ± 0,01***	1–1,3	5,8	0,005	0,07
<i>2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин</i>					
0,01 %	1,08 ± 0,08***	1–1,1	3,7	0,002	0,04
0,05 %	1,28 ± 0,01***	1,2–1,3	3,1	0,002 ^a	0,04
0,1 %	1,24 ± 0,02***	1,1–1,3	7,5	0,007	0,09 ^b
<i>1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-карбоновая кислота</i>					
0,01 %	1,02 ± 0,01***	0,9–1,1	7,8	0,006 ^a	0,08
0,05 %	0,46 ± 0,09*	0,4–0,5	8,7	0,002	0,04
0,1 %	0,47 ± 0,01*	0,4–0,5	4,3	0,002	0,05

Обозначения: * – различия с контролем достоверны ($P < 0,05$); ** – различия с контролем достоверны ($P < 0,01$); *** – различия с контролем достоверны ($P < 0,001$); а – различия дисперсий в опыте и контроле достоверны ($P < 0,05$); в – различия дисперсий в опыте и контроле достоверны ($P < 0,01$); с – различия дисперсий в опыте и контроле достоверны ($P < 0,001$); Cv – коэффициент вариации; S_x² – дисперсия; S_x – стандартное отклонение.

Значения высоты проростков при использовании трех концентраций рассматриваемых химических соединений превысило значение контроля. Высота проростков при использовании 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолина (концентрация 0,1 %), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолина (концентрация 0,05 и 0,1 %) превысила значения высоты проростков при использовании рекомендуемой концентрации коммерческого препарата «Эпин-Экстра».

Для всех концентраций химических соединений, контроля и «Эпина-Экстры» наблюдаются низкие значения коэффициента вариаций и дисперсий, что свидетельствует о выровненной реакции генотипа на действие химических соединений, оказывающих стимулирующие действие.

Химические соединения 2,2,4-триметил – 1,2,3,4-тетрагидрохинолин (в концентрации 0,1 %), 2,2,4-триметил – 1,2-дигидрохинолин (в концентрации 0,1 %), 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-карбоновая кислота (в концентрации 0,01 %) оказывают стимулирующее действие как на всхожесть, так и на высоту проростков.

Рост и развитие деревьев и кустарников происходит достаточно медленно, по сравнению с другими жизненными формами растений, поэтому полученные данные о стимулирующем действии синтезированных химических соединений на всхожесть и высоту проростков позволяют получить большее число растений рододендрона Ледебура и ускорить их развитие.

Работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099.

Список литературы

1. Александрова М.С. Рододендроны. – М.: Фитон+, 2001. – 191 с.
2. Гущина Е.Н., Шаманская Л.Д. Использование янтарной кислоты в качестве стимулятора роста при выращивании саженцев облепихи // Достижения науки и техника АПК. – 2009. – № 7. – С. 12–14.
3. Кокшеева И.М. Оптимизация методики проращивания семян представителей рода Rhododendron // Вестник

Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 3. – С. 80–82.

4. Коровин В.В., Пайамнор В.П., Аксенов П.А. Ана-
томическое изучение процесса укоренения черенков клена
при обработке стимуляторами роста // Вестник Московского
государственного университета леса. – Лесной вестник. –
2010. – № 3. – С. 101–107.

5. Кулаевич А.П. Методы и средства комплексного ана-
лиза данных. – М.: Форум ИНФА-М, 2006. – 512 с.

6. Острошенко В.В., Острошенко Л.Ю. Влияние пред-
посевной обработки семян стимуляторами роста на их по-
севные качества // Вестник Красноярского государственного
аграрного университета. – 2011. – № 5. – С. 12–15.

7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа,
1990. – 352 с.

Reference

1. Aleksandrova M.S. *Rhododendrony* [Rhododendrons].
Moscow, ZAO «Fiton», 2001. 192 p.

2. Guschina E.N., Shamanskaya L.D., Advances in sci-
ence and technology of Agro-Industrial Complex, 2009, no. 7.
pp. 12–14.

3. Koksheeva I.M., Bulletin of Krasnoyarsk State Agrarian
University, 2009, no. 3. pp. 80–82.

4. Korovin V.V., Payamnор V.P., Aksenov P.A., Bulletin of
Moscow State Forest University – Forest Journal, 2010, no. 3,
pp. 101–107.

5. Kulaevich A.P. *Metody i sredstva kompleksnogo analiza
dannyyh* [Methods and tools for complex data analysis]. Moscow,
Forum INFА-M, 2006. 512 p.

6. Ostroshenko V.V., Ostroshenko L.YU., Bulletin of Kras-
noyarsk State Agrarian University, 2011, no. 5. pp. 12–15.

7. Lakin G.F. *Biometrija* [Biometrics]. Moscow, Vysshaja
shkola, 1990. 352 p.

Рецензенты:

Дурнова Н.А., д.б.н., профессор, зав.
кафедрой общей биологии, фармакогнозии
и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский го-
сударственный медицинский университет
имени В. И. Разумовского» Министерства
здравоохранения и социального развития
РФ, г. Саратов;

Полуконова Н.В., д.б.н., профессор ка-
федры общей биологии, фармакогнозии
и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский го-
сударственный медицинский университет
имени В. И. Разумовского» Министерства
здравоохранения и социального развития
РФ, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 504.064.36:519.63

ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ АКВАТОРИЙ И ПРИБРЕЖНЫХ ЭКОСИСТЕМ: ОРГАНИЗАЦИОННО-ТЕХНИЧЕСКИЕ И ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЕ РЕШЕНИЯ

Подольский А.Л., Бобырев С.В., Тихомирова Е.И., Беляченко А.А.,
Лобачёв Ю.Ю., Угланов Н.А., Михалёв С.Э.

*Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина,
Саратов, e-mail: andrei.podolsky@yahoo.com*

В условиях засушливого климата Саратовской области состояние водных и прибрежных экосистем является приоритетом региональной политики природопользования. Нами разработана система интегрированного экологического мониторинга водных объектов и околотоводных экосистем. Система включает в себя мобильные станции, оснащённые измерительными приборами, подключёнными к переносным компьютерам с выходом в Интернет для передачи результатов измерений на стационарный сервер. На станциях измеряются физико-химические параметры воды и приземного слоя воздуха, а также подводных грунтов и почв в зоне затопления. Исследуются экологическое состояние биоресурсов (водная и околотоводная растительность, рыба, зообентос, околотоводный орнитокомплекс и др.). На сервере производится интегрированная обработка всей информации, поступающей со станций, и вырабатываются оценки текущего состояния экосистемы и прогноз её развития. Результаты анализа выкладываются на сайт в Интернете и становятся доступными для специалистов и широкой общественности. Ориентация на мобильные приборы, имеющиеся в широкой продаже, позволяет подключить к исследованиям население (студентов, волонтеров из числа натуралистов, рыбаков, охотников, членов природоохранных общественных организаций), резко увеличить объём измерений и обеспечить возможность сравнения результатов, полученных разными авторами.

Ключевые слова: экологический мониторинг, водные и прибрежные экосистемы, методы экологических исследований, ГИС

INTEGRATED ENVIRONMENTAL MONITORING OF WATER BODIES AND SHORE ECOSYSTEMS: ORGANISATIONAL DESIGN, SOFTWARE AND HARDWARE

Podolsky A.L., Bobyrev S.V., Tikhomirova E.I., Belyachenko A.A.,
Lobachev Y.Y., Uglanov N.A., Mikhalev S.E.

Saratov State Technical University n.a. Y.A. Gagarin, Saratov, e-mail: andrei.podolsky@yahoo.com

In arid climate of Saratov region, environmental condition of water bodies and shore ecosystems is a priority of the regional environmental management policies. We developed an integrated system of ecological monitoring of aquatic and flood-plain ecosystems. The system includes mobile stations with measuring gadgets connected to portable computers. Measurements are transmitted onto stationary server via Internet. On these stations, the following environmental variables can be measured: chemical and physical contents of water and adjacent layer of air, aquatic and shore vegetation, fish and zoobenthos resources, water bird communities etc. On the server, data from mobile stations is used to evaluate an ecological condition of ecosystems and to build predictive models of its further development. Results are available to all specialists and the public at the specially designed Internet site. Using volunteers among students, naturalists, fishermen, hunters and environmental NGOs for participation in the project facilitates collection of environmental data and comparison of results obtained by different observers.

Keywords: ecological monitoring, aquatic and shore ecosystems, methods of ecological research, GIS

Экологический мониторинг, являясь средством получения информации для выработки решений по рациональному природопользованию [3], может рассматриваться как компонент обратной связи в системе управления экосистемами. В такой системе управления мы выделяем три контура управления: стабилизирующий, оперативного управления и стратегический (рис. 1).

Стратегический контур управления функционирует на основе многолетних исследований экосистем и при учёте характера и целей хозяйственной деятельности в регионе. Для функционирования стабилизирующего контура достаточно наблюдений, на основании которых можно сделать вывод о наличии изменений экосистем и о характере этих изменений. Контур опе-

ративного управления реализуется при осуществлении природопользования. Для обеспечения компромисса между эффективностью и экологической безопасностью природопользования необходимо дополнительно проводить анализ причинно-следственных связей процессов, происходящих в экосистемах. Эти процессы могут иметь как естественный, так и антропогенный характер. Таким образом, для обеспечения управляемости природопользования необходимы специальные технологии мониторинга как средства получения исходной информации для выработки управленческих решений.

Территория Саратовской области лежит в пределах нескольких природных зон, что обуславливает разнообразие экосистем ре-

гиона. Принимая во внимание относительно засушливый климат области, состояние водных экосистем требует особого внимания. Околоводные экосистемы, в свою очередь, обеспечивают барьерную функцию по отношению к водным объектам, вследствие чего мониторинг их состояния должен быть неотъемлемой частью общей интегрированной системы экологического монито-

ринга акваторий и прибрежных экосистем. Поэтому при разработке эффективных методов мониторинга требуется обеспечить возможность совместного анализа информации, получаемой из различных географически удаленных источников. Это требует специальных организационно-технических и программно-аппаратных решений, что и явилось целью настоящей работы.

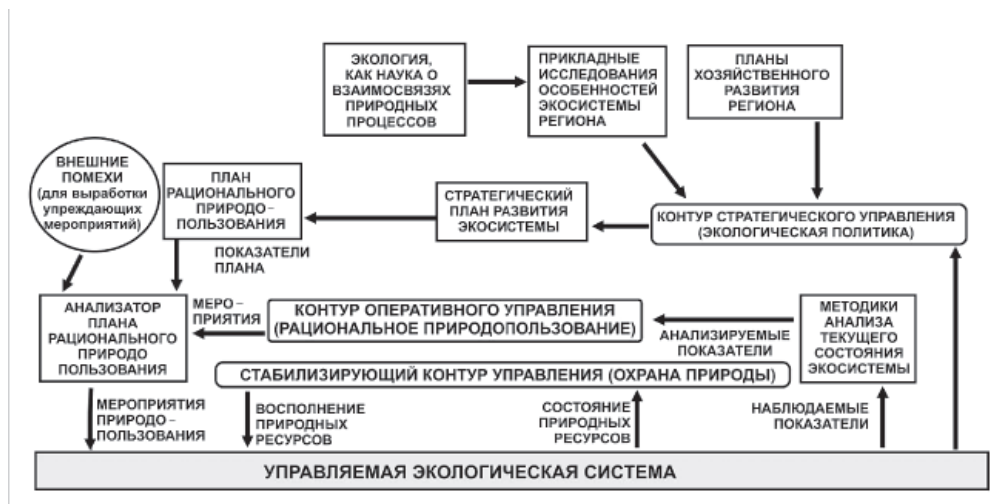


Рис. 1. Трёхконтурная система управления экосистемой

Концепция создания системы интегрированного мониторинга (рис. 2) учитывает мировую [4] и отечественную [2] практику и основана на нижеследующих принципах.

1. Первичная информация о текущем состоянии экосистемы собирается на подвижных станциях, базирующихся на автомобилях и маломерных судах. В настоящее время ведутся разработки по использованию беспилотных летательных аппаратов.

2. Аппаратное обеспечение станций включает в себя датчики и сенсоры [5], подключаемые к мобильному компьютеру с беспроводным выходом в Интернет или мобильному телефону-коммуникатору, и GPS-устройство. На станциях измеряются физико-химические параметры воды и приземного слоя воздуха, а также подводных грунтов и почв в зоне затопления и исследуется экологическое состояние биоресурсов (водная и околоводная растительность, рыба, зообентос, околоводный орнитокомплекс и др.) с использованием общедоступных методов.

3. Собранная информация передаётся на общий стационарный сервер, на котором производится полный анализ данных со всех источников, даётся заключение о состоянии экосистемы, которое затем выкладывается в интернет на специально созданный для этой цели сайт «Акватория-Саратов» [1],

где становится доступным всем участникам проекта. В некоторых случаях используется промежуточный сервер, на котором производится первичная обработка результатов измерений. Ориентация на приборы, имеющиеся в широкой продаже, позволяет подключить к исследованиям население (студентов, волонтеров из числа натуралистов, рыбаков, членов природоохранных общественных организаций), резко увеличить объём измерений и облегчает сравнение результатов, полученных разными авторами.

Заключение

Разработанный комплекс удовлетворяет требованиям получения достоверной информации, которая может использоваться для выработки управленческих решений по рациональному природопользованию. Наиболее эффективными качествами комплекса оказываются:

1. Обеспечение возможности совместного доступа к информации территориально удалённых пользователей.
2. Обеспечение общения и совместной работы исследователей в реальном времени.
3. Высокая скорость и относительно низкая стоимость вычислений за счёт использования эффективных алгоритмов.
4. Высокая защищённость информации от помех, возникающих при передаче

информации по каналам связи, от ошибок оператора при вводе информации в систему и от несанкционированного изменения данных другими пользователями.

5. Развитые технологии искусственного интеллекта, позволяющие создавать эффективные экспертные системы оценки полученных результатов.

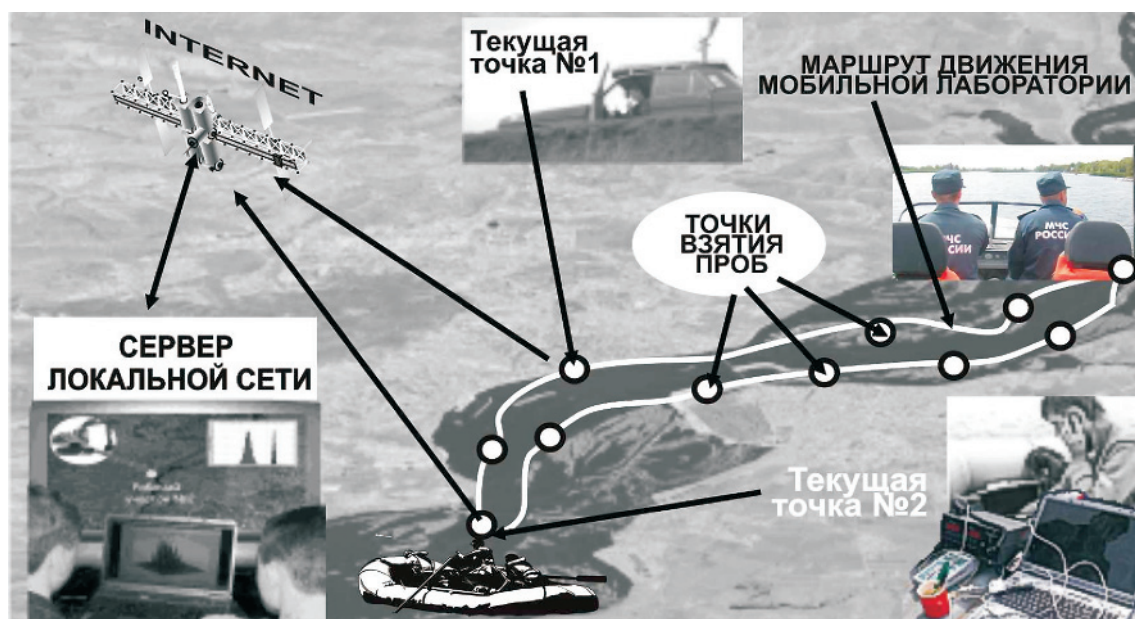


Рис. 2. Распределённая система интегрированного мониторинга, основанная на Web-технологиях

Список литературы

1. Акватория – Саратов: общественный научно-популярный сайт [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://akv64.ru/> (дата обращения: 29.02.12).
2. Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. – 3-е изд. – СПб.: Кримас+, 2004. – 248 с.
3. Burden F.R. Environmental Monitoring Handbook. – New York: McGraw-Hill Professional, 2002. – 1100 p.
4. Seuront L., Strutton P.G. Handbook of Scaling Methods in Aquatic Ecology: Measurement, Analysis, Simulation. . – New York: CRC Press, 2003. – 624 p.
5. Ustin S. Manual of Remote Sensing: Remote Sensing for Natural Resource Management and Environmental Monitoring. – New York: John Wiley & Sons, 2004. – 768 p.

References

1. Akvatoriya – Saratov: obshchestvennyi nauchno-populyarnyi sait [Elektronnyi resurs] (Water Bodies – Saratov: scientific and popular site for the public [Electronic resource]). Available at: <http://akv64.ru/> / (accessed 29 February 2012).
2. Muravyov A.G. Rukovodstvo po opredeleniyu pokazateley kachestva vody polevymi metodami (Manual on Field Methods of Water Quality Assessment). 3rd edition. St. Petersburg: Krimas+, 2004. 248 p.

ods of Water Quality Assessment). 3rd edition. St. Petersburg: Krimas+, 2004. 248 p.

3. Burden F.R. Environmental Monitoring Handbook. New York: McGraw-Hill Professional, 2002. 1100 p.

4. Seuront L., Strutton P.G. Handbook of Scaling Methods in Aquatic Ecology: Measurement, Analysis, Simulation. New York: CRC Press, 2003. 624 p.

5. Ustin S. Manual of Remote Sensing: Remote Sensing for Natural Resource Management and Environmental Monitoring. New York: John Wiley & Sons, 2004. 768 p.

Рецензенты:

Опарин М.Л., д.б.н., директор Саратовского филиала Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Саратов;

Сергеева И.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой ботаники и экологии Саратовского государственного университета имени Н.И. Вавилова, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 03.04.2012.

УДК [612.82:616.839]-053.6

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БИОУПРАВЛЕНИИ ПАРАМЕТРАМИ РИТМА СЕРДЦА У ПОДРОСТКОВ ПРИПОЛЯРНОГО РЕГИОНА

^{1,2}Поскотинова Л.В., ¹Демин Д.Б., ¹Кривоногова Е.В.¹*Институт физиологии природных адаптаций Уральского отделения Российской академии наук,
Архангельск, e-mail: liliya200572@mail.ru;*²*Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова*

Целью исследования являлось изучение спектральных параметров электроэнцефалограммы в фоне и после однократного сеанса биоуправления с целью усиления вагусных влияний на ритм сердца у подростков 14 и 16–17 лет, проживающих в приполярных районах Архангельской области. Выявлены различные варианты изменений спектральных характеристик электроэнцефалограммы у подростков в активную фазу становления пубертата (14 лет) и наиболее однонаправленные изменения электроэнцефалограммы на завершающем этапе пубертата (16–17 лет). У подростков 16–17 лет после сеанса биоуправления увеличение суммарной мощности спектра вариабельности сердечного ритма сопровождалось повышением спектральной мощности альфа-активности в центральных, передних и височных областях мозга. При этом в правых центральной, лобной и височной областях регистрировали снижение тета-активности и повышение бета¹-активности головного мозга. Полученные результаты рассматриваются с позиции оптимизации корково-подкорковых взаимоотношений при активизации вагусных резервов сердечной деятельности у подростков в дискомфортных условиях Севера.

Ключевые слова: электроэнцефалограмма, вариабельность сердечного ритма, биоуправление, подростки, Север

AGE FEATURES OF A BRAIN BIOELECTRIC ACTIVITY DURING HRV BIOFEEDBACK SESSION IN ADOLESCENTS OF SUBPOLAR REGION

^{1,2}Poskotinova L.V., ¹Demin D.B., ¹Krivinogova E.V.¹*The Institute of Environmental Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
Arkhangelsk, e-mail: liliya200572@mail.ru;*²*Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov*

The aim was to investigate a spectral parameters of electroencephalogram before and after an once session of heart rate variability (HRV) biofeedback to increase in vagal influences on a heart rhythm in adolescents 14 and 16–17 years living in Subpolar region of the Arkhangelsk area. There were revealed various variants of spectral characteristics of an electroencephalogram in persons 14 years old and more specific electroencephalogram pattern in persons 16–17 years old. An increase in total power of HRV after a once session of HRV was accompanied by rising of spectral power of alpha activity in the central, frontal and temporal brain regions. Thus in the right central, frontal and temporal brain regions registered depression of theta-activity and rising of beta¹-activity of a brain. The results are discussed from the perspective of optimizing the cortico-subcortical interrelations during increase in reserves of vagal activity in adolescents in uncomfortable environment of the North.

Keywords: electroencephalogram, heart rate variability, HRV biofeedback, adolescents, the North

Проблема коррекции вегетативных дисфункций у подростков циркумполярных территорий остается актуальной. Реактивность симпатического отдела вегетативной регуляции сердечной деятельности у подростков Севера достаточно высока и зависит от продолжительности светового дня, широты проживания и сезонных гормональных перестроек [8, 10, 13]. Одним из перспективных методов немедикаментозной коррекции сердечного ритма, при котором происходит усиление вагусных влияний на ритм сердца, сосудистой дистонии является метод биоуправления параметрами вариабельности снижения явлений симпатикотонии [12, 14]. При этом наблюдаются и различные варианты перестроек в амплитудно-частотной структуре биоэлектрической активности головного

мозга, которые, в свою очередь, зависят от исходных уровней активности тиреоидной и серотонинергической систем [3, 4, 5, 6]. Учитывая разные уровни сформированности биоэлектрического паттерна головного мозга на различных возрастных этапах пубертата, представляется важным определить направленность изменений электрофизиологических свойств головного мозга при биоуправлении параметрами ритма сердца у подростков в зависимости от их возраста в условиях приполярного региона. В связи с вышеизложенным цель работы заключалась в выявлении изменений спектральной мощности электроэнцефалограммы (ЭЭГ) у подростков-северян 14 и 16–17 лет в результате однократного сеанса биоуправления с целью усиления вагусных влияний на ритм сердца.

Материалы и методы исследования

Обследованы 43 учащихся двух сельских общеобразовательных средних школ Приморского района Архангельской области – 20 учащихся 8 класса в возрасте 14 лет (12 мальчиков и 8 девочек) и 23 учащихся 11 класса в возрасте 16–17 лет (10 мальчиков и 13 девочек). Все обследованные лица не имели острых заболеваний на момент обследования, неврологических нарушений и кардинальной патологии в анамнезе. От всех учащихся и их родителей было получено информированное согласие на участие в исследовании, одобренном биоэтическим комитетом Института физиологии природных адаптаций УрО РАН. Регистрацию показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР) проводили в положении сидя с помощью прибора «Варикард» («Рамена», Россия) [1]. Для реализации принципа биологической обратной связи (БОС) обследуемый получал на экране монитора информацию о состоянии суммарной мощности спектра ВСР – Total Power (TP, мс²) с обновлением показателя каждые 5 секунд. Формирование состояния, отражающего изменение выбранного параметра, производилось посредством стратегии «свободного поиска» – сочетание спокойного глубокого дыхания с эффективным плавным выдохом, мышечной расслабленности и создания положительно окрашенных мысленных образов [11]. Критерием эффективности БОС-тренинга считали повышение суммарной мощности спектра ВСР и снижение индекса напряжения регуляторных систем (ИН). В исследовании представлены данные тех учащихся, у которых исходные показатели ВСР свидетельствовали о нормо- и симпатикотонии (ИН > 50 усл. ед.). ЭЭГ регистрировали в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами на ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» (НПКФ «Медиком МТД», Россия) монополярно от 16 стандартных отведений (О1, О2, Р3, Р4, С3, С4, F3, F4, Fp1, Fp2, F7, F8, T3, T4, T5, T6) с ушными референтными электродами (А1 слева, А2 справа), установленных по международной системе 10–20 в полосе 1–30 Гц. Схема сеанса включала следующие этапы:

1) 5-минутная запись ЭЭГ с закрытыми глазами (регистрация фона, реакция активации) с одновременной регистрацией параметров ВСР;

2) 5-минутная процедура БОС-тренинга, проводимая с открытыми глазами по вышеописанной методике без регистрации ЭЭГ;

3) 5-минутная запись ЭЭГ с закрытыми глазами (реакция последействия) с одновременной регистрацией параметров ВСР.

При оценке ЭЭГ каждого испытуемого выделяли безартефактные отрезки записи, абсолютные значения мощностей спектра в мкВ² анализировали по тета – (4–8 Гц), альфа – (8–13 Гц), бета₁ – (13–24 Гц) диапазонам. Изменения дельта-активности (1–4 Гц) не рассматривались, так как дельта-волны были единичными, не превышающими амплитуды доминирующей активности головного мозга. Статистическую обработку полученных результатов проводили непараметрическими методами с помощью компьютерного пакета прикладных программ Statistica 5.5 («StatSoft», США). Учитывали медиану (Me) и межквартильный размах при 25 и 75 % уровнях значений выборки. Для проверки статистической гипотезы межгрупповой разности использовали для трех зависимых выборок критерий χ -квадрат при ранговом дисперсионном анализе ($df = 2$, $p < 0,05$) и для двух зависимых выборок критерий Вилкоксона ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Предварительно проведенный анализ не выявил выраженных половых различий при реактивности вегетативных и мозговых структур при сеансе биоуправления, что позволило объединить данные лиц мужского и женского пола. У подростков независимо от возраста при сеансе биоуправления происходило усиление вагусных влияний на ритм сердца – значимое повышение показателя TP, у подростков 14 лет – показателя pNN50 (процент последовательных пар кардиоинтервалов, различающихся более, чем на 50 мсек за время записи), а также значимое снижение ИН (табл. 1 и 2).

Таблица 1
Показатели ВСР у подростков 14 лет в динамике сеанса биоуправления параметрами ритма сердца (Me (25;75))

	Фон (1)	БОС (2)	Последействие (3)	
ЧСС, уд./мин	85,61 (79,30; 92,98)	85,94 (79,49; 92,27)	88,80 (82,88; 92,08)	$p_{1-2} > 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$
pNN50, %	14,68 (9,11; 30,04)	21,27 (13,34; 33,42)	14,54 (4,59; 25,06)	$p_{1-2} = 0,045$; $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,010$
TP, мс ²	2015,52 (1454,11; 2745,81)	3937,45 (3167,92; 5268,57)	1924,16 (1413,06; 2722,94)	$p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} > 0,05$
ИН, усл.ед.	133,24 (102,42; 173,55)	71,58 (65,58; 92,72)	141,57 (88,53; 220,14)	$p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0 > 0,05$

Таблица 2

Показатели ВСР у подростков 16–17 лет в динамике сеанса биоуправления параметрами ритма сердца (Me (25;75))

	Фон	БОС	Последействие	
ЧСС, уд./мин	77,64 (68,76;82,18)	78,58 (72,68;83,63)	78,88 (69,85;82,21)	$p_{1-2} > 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$
pNN50, %	24,15 (13,27;42,51)	30,21 (17,59;37,36)	17,72 (11,17;35,31)	$p_{1-2} > 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,019$
TP, мс ²	2477,63 (1593,80; 3409,33)	4936,74 (3006,36;5 622,66)	2341,92 (1742,77;3598,39)	$p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,223$
ИН, усл.ед.	85,28 (59,40;147,11)	50,36 (37,94;93,99)	101,26 (65,76;166,28)	$p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,673$

В ходе сеанса БОС-тренинга также наблюдали сдвиг доминирующего пика спектральной мощности ВСР в низкочастотный диапазон, что может указывать на активизацию барорефлекторных механизмов. Тем не менее детальный анализ изменений спектральных показателей различных частотных диапазонов при таком воздействии не представлялся возможным для однозначной интерпретации и нуждается в отдельном исследовании, так как все испытуемые стремились замедлить ритм дыхания менее 9 дыхательных циклов в минуту, особенно мальчики. На этапе последействия, когда обследуемый переходил в состояние, аналогичное исходному фону, показатели ВСР стремились к фоновым значениям.

Изменения биоэлектрической активности головного мозга у 14-летних подростков были разнонаправленные после сеанса БОС-тренинга. Общегрупповые изменения мощностей спектров ЭЭГ выражались лишь в значимом снижении тета-активности в префронтальной области справа (F4-A2, $p = 0,035$) и повышении бета₁-активности в сенсомоторной зоне справа (C3-A1, $p = 0,025$). Повышение мощности спектра альфа-активности в затылочных областях (O1, O2) на этапе последействия выявлено у 10 человек, а понижение у 11 человек. Таким образом, у подростков 14 лет выявлены различные варианты реактивности мозговых структур на однократный сеанс биоуправляемого повышения вагусных влияний на ритм сердца [5].

У старших подростков 16–17 лет реакция на процедуру биоуправления была более определенной (табл. 3). Разнонаправленные изменения значений мощностей спектра ЭЭГ касались лишь затылочных

и теменных областей (у 13 человек было здесь повышение, а у 10 человек снижение мощности альфа-активности), что не позволило получить здесь общегрупповых статистически значимых различий (значения в областях P3-P4 в табл. 3 опущены). В центральных, передних и височных областях мозга наблюдали повышение альфа-активности, а в правых центральной, лобной и височной областях регистрировали сдвиг частотных характеристик ЭЭГ в сторону более высоких частот. Так, в отведениях C4, F4 и T4 наблюдали значимое снижение тета-активности после БОС-тренинга, в то время как в C4, T4 и F8 происходило значимое усиление бета₁-активности.

Заключение

Достижение успеха в саморегуляции с целью усиления вагусных влияний на ритм сердца достигается различными стратегиями у подростков в активную фазу становления пубертата (14 лет) и наиболее однонаправленны на завершающем этапе пубертата (16–17 лет). При этом у одних индивидуумов происходит десинхронизация основного ритма в области зрительной коры, у других гиперсинхронизация данного вида ритма, что отражает доминирующую роль либо восходящих активирующих влияний ретикулярной формации либо таламических структур на кору больших полушарий. Сочетанное усиленное влияние таламических и стволовых структур на биоэлектрогенез коры обуславливает усиление альфа-активности в центральных и передних областях мозга [2]. Усиление бета₁-активности в правой центрально-передневисочной области свидетельствует о вовлечении сенсо-моторной области

коры и медио-базальных, возможно эмоциогенных структур [7] при реализации индивидуальной стратегии эффективности биоуправления как вида когнитивной деятельности. Более выраженные перестройки биоэлектрического паттерна в правых отделах головного мозга свидетельствуют также об активизации центральных мозговых структур, связанных с сердечно-сосудистой афферентацией [15], что может оптимизировать вегетативную регуляцию сердечной

деятельности организма. Снижение выраженности медленно-волновых и повышение роли высокочастотных ритмов в центральных и передних отделах мозга после данного вида БОС-тренинга отражают процессы снижения активности глубинных структур и повышения активности коры мозга. Это также является фактором оптимизации возрастного становления нейрофизиологических функций у подростка, особенно в условиях дискомфортной среды Севера.

Таблица 3

Показатели ЭЭГ (в мкВ²) у подростков 16-17 лет до и после сеанса биоуправления параметрами ВСР (Me (25;75)), $n = 23$

	тета 4-8 Гц			альфа 8-13 Гц			бета ₁ 13-24 Гц		
	Фон	Последствие		Фон	Последствие		Фон	Последствие	
O1-A1	13,10 (7,73;27,55)	13,17 (8,45;22,53)		73,89 (41,06;143,85)	99,30 (54,41;152,06)		17,20 (12,84;23,44)	18,68 (12,03;26,25)	
O2-A2	15,06 (11,16;22,39)	12,77 (7,94;20,22)		99,37 (38,94;168,45)	101,12 (48,28;225,78)		18,94 (12,52;29,72)	17,97 (12,05;25,53)	
C3-A1	18,64 (14,31;28,15)	18,59 (14,09;23,48)		30,50 (15,02;57,97)	30,93 (18,40;75,32)	$p = 0,007$	9,33 (6,84;13,10)	9,93 (7,05;13,41)	
C4-A2	19,47 (12,21;25,21)	18,54 (12,05;22,53)	$p = 0,04$	35,85 (15,94;52,95)	36,49 (17,50;70,88)	$p = 0,03$	8,72 (6,13;13,77)	11,08 (6,48;14,32)	$p = 0,025$
F3-A1	19,18 (14,16;26,70)	18,57 (14,84;24,27)		27,75 (15,15;41,50)	29,83 (16,15;53,23)	$p = 0,006$	9,31 (6,50;14,39)	9,21 (6,49;15,00)	
F4-A2	17,84 (14,67;21,38)	16,61 (13,84;22,27)	$p = 0,032$	26,39 (14,60;43,35)	29,96 (14,45;49,98)	$p = 0,007$	7,87 (5,95;14,45)	9,77 (5,76;15,40)	
Fr1-A1	14,56 (10,88;19,58)	14,70 (11,12;18,54)		18,40 (11,77;30,54)	19,42 (12,37;30,87)	$p = 0,007$	8,18 (4,97;9,40)	7,46 (5,47;9,34)	
Fr2-A2	16,58 (10,89;22,39)	16,09 (10,30;22,02)		21,36 (12,32;35,63)	26,57 (13,34;34,13)	$p = 0,007$	7,17 (5,47;11,01)	7,27 (5,59;11,47)	
F7-A1	9,12 (6,91;11,60)	8,44 (5,88;10,58)		12,74 (7,59;20,36)	14,61 (8,73;22,85)	$p = 0,005$	5,49 (3,29;6,55)	5,79 (3,48;7,52)	
F8-A2	8,91 (5,78;12,34)	8,78 (6,02;11,32)		14,00 (8,11;21,44)	16,21 (6,68;27,49)	$p = 0,003$	5,95 (3,44;8,61)	7,16 (4,19;9,41)	$p = 0,010$
T3-A1	8,92 (7,70;12,95)	8,57 (6,67;13,29)		16,13 (8,12;27,14)	15,88 (9,69;30,84)		6,08 (5,15;8,83)	6,61 (4,79;8,60)	
T4-A2	9,25 (6,53;11,72)	8,61 (6,02;10,14)	$p = 0,037$	17,77 (7,02;25,72)	17,80 (7,91;27,26)	$p = 0,045$	5,89 (4,27;9,03)	6,65 (4,42;9,36)	$p = 0,020$
T5-A1	11,34 (6,64;17,34)	9,94 (6,13;14,99)		35,48 (13,98;60,03)	38,49 (14,25;62,39)	$p = 0,015$	9,61 (6,48;15,85)	10,85 (7,18;15,34)	
T6-A2	9,39 (6,49;18,27)	9,73 (6,36;17,25)		49,38 (16,97;70,52)	50,50 (19,21;79,87)	$p = 0,024$	8,91 (4,98;14,98)	8,42 (5,00;16,33)	

Работа поддержана грантом Президиума УрО РАН №12-У-4-1019.

Список литературы

1. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин и др. // Вестник аритмологии. – 2001. – №24. – С. 65–87.
2. Болдырева Г.Н. Электрическая активность мозга человека при поражении дисэнцефальных и лимбических структур. – М.: Наука, 2000. – 181 с.
3. Дёмин Д.Б., Поскотникова Л.В., Кривоногова Е.В. Роль фонового тиреоидного статуса в изменении ЭЭГ подростков при биоуправлении параметрами сердечного ритма // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97, № 11. – С. 1262–1269.
4. Кривоногова Е.В., Поскотникова Л.В., Дёмин Д.Б. Сравнительный анализ структуры ЭЭГ и параметров вариабельности сердечного ритма при БОС-тренинге в зависимости от уровня серотонина в сыворотке крови девушек

15–17 лет // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 21–26.

5. Кривоногова Е.В., Поскотникова Л.В., Дёмин Д.Б. Эффективность функционального биоуправления вегетативными параметрами и биоэлектрическая активность головного мозга у подростков // Экология человека. – 2009. – № 12. – С. 39–42.
6. Кривоногова Е.В., Поскотникова Л.В. Соотношение уровня тиреоидных гормонов и показателей вариабельности ритма сердца у подростков в контрастные сезоны года на Севере // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – Т. 87, № 6. – С. 149–152.
7. Лапшина Т.Н. Психофизиологическая диагностика эмоций человека по показателям ЭЭГ: дис. ... канд. психол. наук. – М., 2007. – 133 с.
8. Меньшикова Л.И., Макарова В.И. Основные проблемы здоровья детей на Севере России // Экология человека. – 2003. – №1. – С. 39–41.
9. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения. – Иваново: Иван. гос. мед. академия, 2002. – 290 с.
10. Об этнической обусловленности значений артериального давления у детей, проживающих в регионах

Крайнего Севера / В.Г. Часнык, О.А. Кононова, Е.В. Синельникова и др. // Якутский медицинский журнал. – 2005. – №4. – С. 8–10.

11. Поскотникова Л.В., Семенов Ю.Н. Способ коррекции вегетативных дисбалансов с помощью комплекса для обработки кардиоинтервалограмм и анализа variability сердечного ритма «Варикард 2.51», работающего под управлением компьютерной программы ISCIM 6.1 (BUILD 2.8), с использованием биологической обратной связи // Патент России 2317771. Бюл. № 6.

12. Пятакович Ф.А., Якунченко Т.И. Разработка условно-вероятностных моделей паттернов вариативности межпульсовых интервалов для оптимизации диагностики успешности и эффективности проведенного биоуправляемого игрового тренинга // Успехи современного естествознания. – 2010 – № 10. – С. 68–71.

13. Токарев С.А., Буганов А.А., Уманская Е.Л. Предикторы и пути профилактики сердечно-сосудистой патологии у подростков Крайнего Севера // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2005. – Т.4, №2. – С. 83–86.

14. Heart Rate Variability Biofeedback Increases Baroreflex Gain and Peak Expiratory Flow / Paul M. Lehrer, Evgeny Vaschillo, Bronya Vaschillo et al. // Psychosomatic Medicine – 2003. – Vol. 65. – P. 796–805.

15. The effect of lateral visual fixation and the direction of eye movements on heartbeat discrimination / J. Weisz, L. Balazs, E. Lang, G. Adam // Psychophysiology. – 1990. – Vol. 27, № 4. – P. 527–533.

References

1. Analiz variabel'nosti serdechnogo ritma pri ispol'zovanii razlichnykh elektrokardiograficheskikh sistem (metodicheskie rekomendatsii). R.M. Baevskiy, G.G. Ivanov, L.V. Chireykin i dr. – Vestnik aritmologii, 2001, no. 24, pp. 65–87.

2. Boldyreva G.N. Elektricheskaya aktivnost' mozga cheloveka pri porazhenii diencefal'nykh i limbicheskikh struktur. Moscow, Nauka, 2000. 181 p.

3. Demin D.B., Poskotinova L.V., Krivonogova E.V. Rol' fonovogo tireoidnogo statusa v izmenenii EEG podrostkov pri bioupravlenii parametrami serdechnogo ritma – Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova, 2011, T. 97, no. 11, pp. 1262–1269.

4. Krivonogova E.V., Poskotinova L.V., Demin D.B. Sravnitel'ny analiz struktury EEG i parametrov variabel'nosti serdechnogo ritma pri BOS-treninge v zavisimosti ot urovnya serotoninina v syvorotke krovi devushek 15-17 let – Byulleten' sibirskoy meditsiny, 2011, T. 10, no. 4, pp. 21–26.

5. Krivonogova E.V., Poskotinova L.V., Demin D.B. Effektivnost' funktsional'nogo bioupravleniya vegetativnymi parametrami i bioelektricheskaya aktivnost' golovnogogo mozga u podrostkov – Ekologiya cheloveka, 2009, no. 12, pp. 39–42.

6. Krivonogova E.V., Poskotinova L.V. Sootnoshenie urovnya tireoidnykh gormonov i pokazateley variabel'nosti ritma serdtsa u podrostkov v kontrastnye sezony goda na Seve-

re – Pедиатрия. Zhurnal im. G.N. Speranskogo, 2008, T. 87, no. 6, pp. 149–152.

7. Lapshina T.N. Psikhofiziologicheskaya diagnostika emotsiy cheloveka po pokazatelyam EEG: diss. ... kand.psihol. nauk, Moskva, 2007. 133 p.

8. Men'shikova L.I., Makarova V.I. Osnovnye problemy zdorov'ya detey na Severe Rossii – Ekologiya cheloveka, 2003, no. 1, pp. 39–41.

9. Mihaylov V.M. Variabel'nost' ritma serdtsa: opyt prakticheskogo primeneniya. Ivanovo: Ivan. gos. med. akademiya, 2002. 290 p.

10. Obetnicheskoy obuslovlennosti znacheniy arterial'nogo davleniya u detey, prozhivayushchikh v regionakh Kraynego Severa. V.G. Chasnyk, O.A. Kononova, E.V. Sinel'nikova i dr. – Yakutskiy medicinskiy zhurnal, 2005, no.4, pp. 8–10.

11. Poskotinova L.V., Semenov Yu.N. Sposob korrektsii vegetativnykh disbalansov s pomosh'yu kompleksa dlya obrabotki kardiointervalogramm i analiza variabel'nosti serdechnogo ritma «Varikard 2.51», rabotayushchego pod upravleniem komp'yuternoy programmy ISCIM 6.1 (BUILD 2.8), s ispol'zovaniem biologicheskoy obratnoy svyazi. Patent Rossii 2317771. Byul. no. 6.

12. Pyatakovich F.A., Yakunchenko T.I. Razrabotka uslovno-veroyatnostnykh modeley patternov variativnosti mezhpul'sovykh intervalov dlya optimizatsii diagnostiki uspehnosti i effektivnosti provedennogo bioupravlyаемого igrovogo treninga – Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya, 2010, no. 10, pp. 68–71.

13. Tokarev S.A., Bugarov A.A., Umanskaya E.L. Prediktory i puti profilaktiki serdechno-sosudistoy patologii u podrostkov Kraynego Severa – Pедиатрия. Zhurnal im. G.N. Speranskogo, 2005, T.4, no. 2, pp. 83–86.

14. Heart Rate Variability Biofeedback Increases Baroreflex Gain and Peak Expiratory Flow / Paul M. Lehrer, Evgeny Vaschillo, Bronya Vaschillo et al. – Psychosomatic Medicine, 2003, Vol. 65. – pp. 796–805.

15. The effect of lateral visual fixation and the direction of eye movements on heartbeat discrimination. J. Weisz, L. Balazs, E. Lang, G. Adam – Psychophysiology, 1990, Vol. 27, no. 4, pp. 527–533.

Рецензенты:

Грибанов А.В., д.м.н., профессор, директор Института медико-биологических исследований Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова, г. Архангельск;

Бебякова Н.А., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой медицинской биологии и генетики Северного государственного медицинского университета, г. Архангельск.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 58.085

ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ ВОЛЧЕЯГОДНИКА БОРОВОГО (*DAPHNE CNEORUM* L.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

¹Семенова В.А., ¹Карпеченко К.А., ²Калаев В.Н., ²Лепешкина Л.А.,
²Муковнина З.П., ²Серикова В.И.

¹ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции»,
Воронеж, e-mail: victoria.semenova@gmail.com;

²ФГБОУ ВПО Ботанический сад им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного
университета, Воронеж, e-mail: vsu.botsad@mail.ru

В статье обсуждается выбор способа стерилизации, оптимизации питательных сред, необходимых для достижения максимальной скорости роста и индуцирования ризогенеза кустарничка, занесенного в Красную Книгу РФ – волчегородника бороваго (*Daphne cneorum* L.), культивируемого в ботаническом саду им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета. Предложен полностью безгормональный способ микроклонального размножения, характеризующийся сниженным содержанием сахарозы в питательных средах, что способствует уменьшению риска возникновения соматической изменчивости и удешевлению процесса тиражирования больших объемов растения. Выявлено, что методика стерилизации существенным образом влияет на процесс витрификации и дальнейшего размножения стеблевых эксплантов. Подобран оптимальный состав питательных сред для максимальной элонгации, увеличения коэффициента мультипликации и укоренения растений. Выявлено, что для размножения волчегородника бороваго необходимо использовать первичные экспланты с удаленным апексом.

Ключевые слова: микроклональное размножение, жизнеспособный эксплант, питательная среда

THE PECULIARITIES OF REPRODUCTION OF *DAPHNE CNEORUM* L. IN VITRO

¹Semenova V.A., ¹Karpechenko K.A., ²Kalaev V.N., ²Lepeshkina L.A.,
²Mukovnina Z.P., ²Serikova V.I.

¹Research Institute of Forest Genetics and Plant Breeding, Voronezh,
e-mail: victoria.semenova@gmail.com;

²Botanical garden of Voronezh state university by the name of professor
B.M. Kozo-Polyansky, Voronezh, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

In this article the choice of a way of sterilization and optimization of the nutrient mediums necessary for achievement of the maximum growth and stimulation of root formation of a low shrub *Daphne cneorum* L. cultivated in the Botanical garden of the Voronezh state university is discussed. *Daphne cneorum* L. is brought in the Red Book of the Russian Federation as a vanishing species. A method of microclonal reproduction without hormones characterized by the lowered maintenance of sucrose in nutrient mediums is offered. This way leads to reduction of risk somaclonal variability and reduces the cost of derived plant material. The sterilization technique essentially influencing process of a vitrification and the further reproduction of stem explants is revealed. The optimal composition of nutrient mediums for maximum elongation is selected. Increase in the multiplier and the rooting of plants is picked up. The need for primary explants remote apex for reproduction of *Daphne cneorum* L. is established.

Keywords: micro clonal reproduction, viable explant, culture medium

Метод клонального микроразмножения имеет ряд преимуществ перед традиционными способами размножения. Это получение генетически однородного посадочного материала, свободного от вирусов; высокий коэффициент размножения растений, трудновоспроизводимых традиционными методами; возможность проведения работ в течение круглого года и другие. Метод основывается на явлении тотипотентности – свойстве клеток реализовывать генетическую информацию ядра, обеспечивающую их дифференцировку, а также развитие до целого организма. Таким образом, становится возможным регенерировать полноценное растение.

Выбор *Daphne cneorum* L. (*Daphne julia* K.-Pol.) – волчегородника бороваго в каче-

стве объекта исследования продиктован необходимостью сохранения вида, занесенного в Красную Книгу Российской Федерации [2]. Данный вид относится к редким эндемикам флоры России. В Воронежской области он весьма успешно интродуцирован в ботаническом саду Воронежского государственного университета [4]. Однако в результате детального анализа литературных данных не было обнаружено работ по микроклональному размножению волчегородника бороваго.

Целью работы явилось создание безвирусной коллекции клонов волчегородника бороваго (*Daphne cneorum*) для сохранения ценных генотипов *in vitro* и ускорения процесса воспроизведения особо охраняемого вида. Для достижения поставленной цели необходимо было выбрать способ стерили-

зации, оптимизировать питательные среды, необходимые для достижения максимальной скорости роста и индуцировать ризогенез.

Материалы и методы исследования

Волчегородник боровой, или Юлии относится к семейству *Thymelaeaceae* (Волчниковые), насчитывающему в своем роду около 50 листопадных, полу- и вечнозеленых видов, обитающих в Европе, Азии и Северной Африке [2]. На территории Центрального Черноземья он встречается в Горшеченском, Мантуровском, Тимском, Ястребовском районах Курской области [1]. В Нечерноземье – в Брянской области. Растет на склонах с меловой подпочвой, меловыми обнажениями, реже по борovým пескам.

Волчегородник боровой – низкорослый вечнозеленый кустарничек, высотой 20–30 см, в диаметре до 1 м. Ветви его покрыты темно-бурой корой. Листья кожистые, длиной 0,8–2 см, многолетние, обратно-яйцевидные, сверху темно-зеленые, снизу сизоватые, собраны на верхушке ветвей в мутовки [3]. Многочисленные побеги заканчиваются соцветием – ложная головка с 10–25 мелкими цветками, источающими сильный приятный аромат. Венчик трубчатый от светло- до темно-розового цвета, около 0,5 см в диаметре. Плод – костянка, 6–7 мм длиной, 3–6 мм шириной. Зрелые плоды окружены прозрачным желтоватым околоплодником.

Цветение волчегородника начинается в первых числах мая и продолжается 20–30 дней в зависимости от погодных условий. В этот период растения напоминают розовые подушки. Со второй половины лета бывает вторичное цветение, но менее обильное.

Размножают волчегородник боровой свежесобранными семенами либо полуодревесневшими черенками, которые укореняют в первой половине лета. Растения волчегородника хорошо переносят пересадку в возрасте 1–3-х лет. Позже у них развивается мощный веретеновидный корень, с годами уходящий на глубину более полутора метров.

Исследования проводили на растительном материале, выращенном в ботаническом саду им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета.

В начале опыта в сентябре двухлетнее растение волчегородника из открытого грунта было переведено в условия закрытого грунта с контролируемыми показателями температурного и светового режимов. При температуре воздуха 26 °C выше нуля, а также стандартных световых условиях (16-часовой фотопериод) растение нормально развивалось. Спустя 3 месяца волчегородник обильно цвел и имел множество ювенильных побегов. По достижении длины побегов 3–5 см от них отрезали апикальную часть и стерилизовали.

С целью получения жизнеспособных эксплантов волчегородника были проведены 3 варианта обработки верхушечных (ювенильных) участков стебля. Начальной стадией первых двух вариантов являлась 20-минутная промывка проточной водой для удаления сапрофитной микрофлоры. Последующие стадии включали: в первом варианте стерилизации обработку мертиолятом (0,015%) и бытовым отбеливателем «Белизна» (4%); во втором варианте – этиловым спиртом (96%). Третий вариант стерилизации исключал длительную промывку проточной водой и включал обработку только 96%-м этиловым спиртом. После стерилизации экспланты отмыва-

ли стерильной дистиллированной водой в течение 10 минут на качалке.

Концы проростков отрезали, нарезали их на отрезки с 3–4 междоузлиями и помещали в стерильные контейнеры на широко используемых питательных средах MS и BTM, различающихся по количественному составу макросолей и сахарозы, гормонов и активированного угля.

Субкультивирование, микрочеренкование и укоренение проводили на вышеуказанных питательных средах.

Результаты исследования и их обсуждение

При микроклональном размножении волчегородника борового серьезной проблемой является витрификация растительного материала как на начальных, так и на более поздних этапах клонирования. Было предположено, что явление связано со стерилизацией первичных эксплантов. Поэтому на первой стадии работы исследовались различные варианты получения стерильных растений. Так, было показано, что при стерилизации мертиолятом в сочетании с «Белизной» наблюдается 100%-я витрификация растений, они практически не растут и со временем погибают. Аналогичное явление наблюдалось и при стерилизации, включающей удаление сапрофитной микрофлоры путем длительного промывания проточной водой с последующей обработкой неразбавленным этиловым спиртом. И только третий вариант стерилизации – кратковременное погружение растений в 96%-й спирт – оказался оптимальным для волчегородника борового. При этом растения давали 100%-ю выживаемость и полное отсутствие витрификации (рис. 1). Данный факт позволяет предположить, что удлинение процедуры стерилизации приводит к излишнему обводнению растений и, как следствие, вызывает процесс витрификации эксплантов *Daphne sneorum*.

Стандартная методика микроклонального размножения требует использования гормонов роста хотя бы на первых стадиях введения эксплантов в условия *in vitro*. Так, с целью удлинения пробирочных растений и увеличения коэффициента мультипликации была использована низкосолевая среда 1/2 WPM, дополненная 0,2 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГА₃. После разрастания базальной части экспланта начинался рост адвентивных побегов по типу куста, достигающий в течение 4 недель количества 7–10 шт. на микрорастение. Побеги изолировали и помещали либо на безгормональные среды, либо (для дальнейшего увеличения коэффициента мультипликации) на 1/2 WPM, дополненную вышеуказанными гормонами (рис. 2).

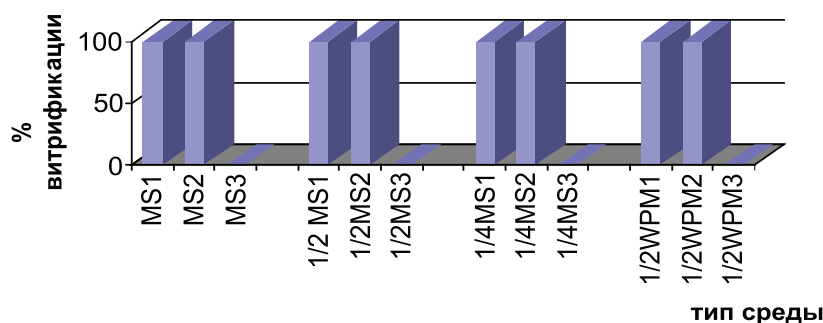


Рис. 1. Влияние метода стерилизации и состава питательных сред на процесс витрификации *Daphne speoruit*. Обозначения: MS, 1/2 MS, 1/4 MS – среда Мурасиге и Скуга с разным набором макроэлементов; 1/2 WPM – среда для размножения древесных растений. 1 – длительная промывка проточной водой с дальнейшей обработкой мертиолятом + белизной; 2 – с обработкой 96% спиртом; 3 – стерилизация только 96% спиртом

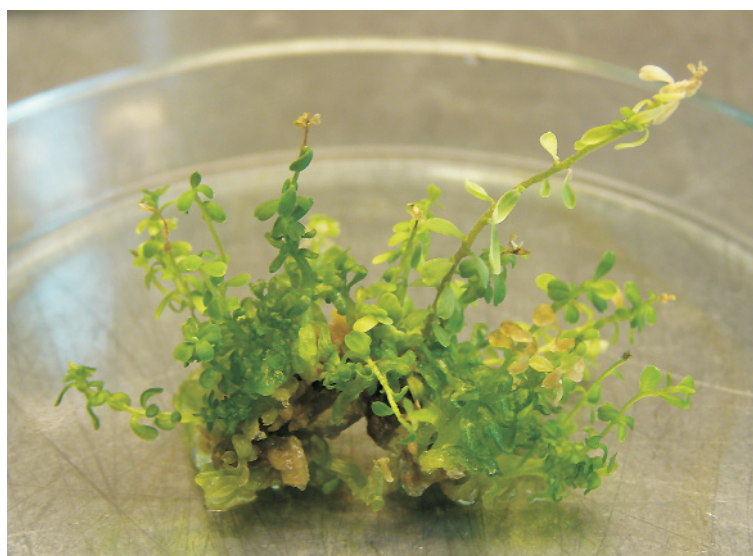


Рис. 2. Микроклонально размноженные растения *Daphne speoruit*

Укоренение эксплантов происходило спонтанно в течение 3 недель на всех типах безгормональных сред: с активированным углем или без него, на 1/2 или 1/4 по макроэлементам MS. Однако часть растений укоренилась только после длительного выдерживания их на средах, дополненных 3 мг/л ИМК.

Отсутствие фитогормонов в процессе микроклонального размножения позволяет снизить проявления соматоклональной изменчивости.

Было обнаружено, что, во-первых, удлинение растений на безгормональных средах превышает их рост на среде с гормональными добавками. Во-вторых, элонгация на среде 1/4 MS превышает рост на среде 1/2 MS. Максимальный месячный прирост на данной среде составил 3–4 см, что в несколько раз превышает величину прироста в условиях открытого грунта (3–10 см за вегетационный период). После удлинения микрочеренки разрезали на 1–2 см сегменты и помещали на среды того же состава (рис. 3, 4).

Необходимо отметить, что экспланты, содержащие верхушечную точку роста, росли несколько медленнее, по сравнению с эксплантами, не имеющими последней. Часто наблюдалось явление апикального усыхания, характерное для размножения дуба черешчатого. Поэтому для лучшего размножения волчегонника бороваго необходимо использовать первичные экспланты с удаленным апексом.

Заключение

Предложенный способ микроклонального размножения волчегонника бороваго выгодно отличается отсутствием гормонов роста на всем протяжении цикла и сниженным содержанием сахарозы в питательных средах, что способствует уменьшению риска возникновения соматоклональной изменчивости и удешевлению процесса тиражирования больших объемов растения. Размножение волчегонника осуществляли в культуре стеблевых ювенильных эксплантов.

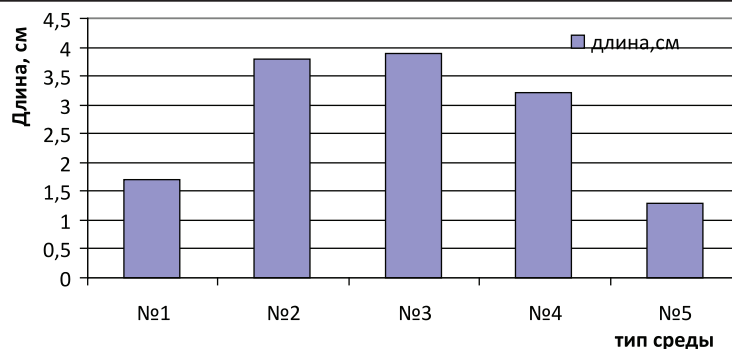


Рис. 3. Зависимость роста эксплантов от типа питательной среды.

Обозначения: № 1 – MS; № 2 – $\frac{1}{2}$ MS;
 № 3 – $\frac{1}{4}$ MS; № 4 – $\frac{1}{2}$ WPM + 0,2 БАП + 0,1 ГА₃; № 5 – $\frac{1}{2}$ BTM + 0,2 БАП + 0,1 ГА₃

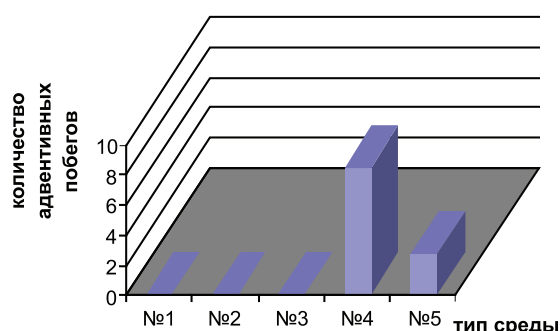


Рис. 4 Зависимость количества адвентивных побегов от типа питательной среды.

Обозначения: № 1 – MS; № 2 – $\frac{1}{2}$ MS;
 № 3 – $\frac{1}{4}$ MS; № 4 – $\frac{1}{2}$ WPM + 0,2 БАП + 0,1 ГА₃;
 № 5 – $\frac{1}{2}$ BTM + 0,2 БАП + 0,1 ГА₃

Изучение особенностей введения в культуру *in vitro* волчегородника борова приобретает большое значение и по другим причинам. Имеются данные, что волчегородник содержит различные соединения (включая биологически активные вещества), которые находят широкое применение в фармакологии [5]. Таким образом, применение метода микроклонального размножения позволит решить актуальную проблему быстрого воспроизведения редкого эндемика и сохранения его путем введения в широкую культуру.

Работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099.

Список литературы

1. Виноградов И.П., Голицын С.В., Денисова Л.В. Ботанические памятники природы Центрально-Черноземных

областей // Бюллетень Охрана природы и заповедное дело в СССР. – М.: Академия наук СССР. – 1960. – №5. – С. 3–37.

2. Красная книга Российской Федерации (растения, грибы). – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.

3. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. – 10-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 600 с.

4. Руцкий И.А., Преснякова М.А. Волчегородник Юлии – новое декоративное растение в культуре. – Воронеж: ВГУ, 1965. – 26 с.

5. Tosun A. Chemical constituents and biological activities of *Daphne* L. species // J. Fac Pharm. – 2006. – Vol. 35, №1. – P. 43–68.

References

1. Vinogradov I.P., Golitsyn S.V., Denisova L.V. Botанические памятники природы Central'no-Chernozemnykh oblastej [Botanical nature monuments of Central Chernozem regions], Bulletin of Environmental Protection and preservation work in the USSR, 1960. no. 5, pp. 3–37.

2. Krasnaja kniga Rossijskoj Federacii (rastenija, griby) [The Red Book of Russian Federation (plants and fungi)]. Moscow, KMK Publ., 2008. 855 p.

3. Maevskij P.F. Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii [The flora of central European part of Russia]. Moscow, 2006. 600 p.

4. Ruckij I.A., Presnjakova M.A. Volchejagodnik Julii – novoe dekorativnoe rastenie v kul'ture [Daphne Julia – new ornamental plant in the culture]. Voronezh, VSU Publ., 1965. 26 p.

5. Tosun A. Chemical constituents and biological activities of *Daphne* L. species, J. Fac Pharm. 2006. Vol. 35. no. 1, pp. 43–68.

Рецензенты:

Ершова А.Н., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии растений и животных естественно-географического факультета ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж;

Корнеева О.С., д.б.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и биохимии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», г. Воронеж.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 612.821.6

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС ПРИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕОЛИТА

Сергиевич А.А., Григорьев Н.Р.

ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия», Благовещенск,
e-mail: altexes@mail.ru

Одна из ряда существующих гипотез происхождения литофагии объясняет данное явление последствием влияния стрессорирующих факторов на организм, приводящих к отклонению определенных функций организма. Цель данного экспериментального исследования заключалась в изучении особенностей оборонительного поведения у крыс из среднего типа на фоне хронического воздействия психоэмоционального стресса. В качестве инструментальной установки для формирования когнитивной задачи использовалось модульное устройство, позволяющее фиксировать качественные и количественные характеристики оборонительного поведения с предварительным формированием соответствующей биологической потребности. Результаты тестирования показали, что добровольный выбор лабораторными животными пищевого рациона, включающего в себя цеолитсодержащую добавку, оказывает оптимизирующее воздействие на мотивационно-энергетические и когнитивные показатели поведенческой активности в условиях инструментальной среды с искусственно созданной проблемной ситуацией. Потребность в применении природных цеолитов, вероятнее всего, имеет инстинктивную основу, направленную на сохранение жизнедеятельности организма при постоянно изменяющихся условиях внешней среды. Лабораторные крысы, не испытывающие потребность в потреблении минералов, на наш взгляд, обладают выраженной стрессоустойчивостью к негативным психоэмоциональным факторам. В результате этого у них не возникает литофагического влечения. Полученные результаты подтверждают, что инстинктивное явление литофагии играет важную роль в процессе адаптации биологической особи в условиях постоянно изменяющейся внешней среды.

Ключевые слова: литофагический инстинкт, цеолит, лабораторные крысы

DYNAMICS OF INDICATORS OF DEFENSIVE BEHAVIOUR AT RATS AT THE PSYCHOEMOTIONAL STRESS AGAINST ZEOLITE APPLICATION

Sergieievich A.A., Grigorev N.R.

Amur state medical academy, Blagoveshchensk, e-mail: altexes@mail.ru

One of a number of existing hypotheses of an origin of a litofagia explains this phenomenon a consequence of influence of causing stress factors on an organism, certain functions of an organism bringing to a deviation. The purpose of this pilot study consisted in studying of features of defensive behavior at rats from average type against chronic influence of a psychoemotional stress. As tool installation for formation of a cognitive task the modular device, allowing to fix qualitative and quantitative characteristics of defensive behavior with preliminary formation of the corresponding biological requirement was used. Results of testing showed that the voluntary choice laboratory animals of the diet including zeolite additives, influences optimizing on motivational and power and cognitive indicators of behavioural activity in the conditions of the tool environment with artificially created problem situation. The requirement for application of natural zeolites, most likely, has the instinctive basis directed on preservation of activity of an organism under constantly changing environmental conditions. The laboratory rats, not feeling requirement for consumption of minerals, in our opinion, possess the expressed resistance to stress to negative psychoemotional factors. As a result of it they don't have a litofagial inclination. The received results confirm that the instinctive phenomenon of a litofagia plays important role in the course of adaptation of a biological individual in the conditions of constantly changing environment.

Keywords: a litofagial instinct, zeolite, laboratory rats

В настоящее время существует множество гипотез, раскрывающих причину и следствия литофагического инстинкта у млекопитающих [5]. Одна из теорий, объясняющих данное явление, заключается в том, что феномен литофагии во всем многообразии его проявлений объясняется как инстинктивное стремление организмов скорректировать вещественный состав и функций различных физиологических систем, жизненные константы которых могут отклоняться под воздействием различных неблагоприятных средовых стресс-факторов, с помощью природных минералов [6].

В некоторых работах сообщается, что животные потребляют природные минералы

в стрессовых ситуациях, сопровождающихся психофизиологической дизадаптацией [4, 5, 6].

Целью данного исследования явилось изучение поведенческих показателей у лабораторных животных (из средней типологической группы), предпочитающих в пищевом рационе корм с добавлением измельченного цеолита Сахалинского происхождения и выбирающих стандартный рацион питания.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проводился на 63 беспородных белых крысах-самцах массой 180–230 г, содержащихся в стандартных условиях вивария.

Содержание и все процедуры с экспериментальными животными проводились с учетом требований Общества защиты животных. Все использованные особи относились к П (среднему) поведенческому типу согласно нашей классификации [8].

Цеолиты измельчались с помощью ультразвукового гомогенизатора Bandelin Sonopulse 3400 (пр-во «Bandelin», Italy) согласно методике [7]. Изучаемый цеолит добавлялся в корм из расчета 5% от массы сухого корма.

Для анализа способности достижения пищевого подкрепления использовали разработанное нами модульное устройство [3], во входном тоннеле которого располагалось водное аверзивное препятствие. Подножное покрытие в стартовом отсеке закрывалось решеткой, к которой подавался электрический ток с импульсным пороговым током силой 0,1–0,2 Ма. На первом этапе исследования у экспериментальных особей вырабатывался инструментальный рефлекс активного избегания (ИРАИ), все выходы в данном случае были открыты. После того, как у всех лабораторных крыс ИРАИ был сформирован, начинался второй этап наблюдения, где для осуществления выхода необходимо было либо открыть дверь камеры, предварительно нажав на педаль лапой, либо пройти через водное препятствие, с дальнейшей регистрацией мотивационно-энергетических (время поиска (ВП) и интенсивность поиска (ИП)) и когнитивных характеристик (когнитивный показатель (КП)). ВП отражало общее время, которое было потрачено на нахождение всех 4-х отсеков. ИП показывало в количественном плане частоту побегов, осуществляемых за определенный интервал времени, и КП отражал процентное соотношение безошибочных побегов к ошибочным.

Предпочтение выбора пищи предоставлялось животным после окончания первого этапа тестирования на фоне сформированной стресс-реактивной обстановочной афферентации. В эксперименте участвовало 3 группы животных: контроль, включающий в себя особей, предпочитающих пищу с минеральной добавкой, но лишенных возможности принимать ее в ходе исследования; опытная № 1, в состав кото-

рой входили особи, предпочитающие минеральную добавку и получающие ее в течение тестирования; опытная № 2, включающая в себя ту часть лабораторных крыс, которые при представлении выбора предпочитали обычную пищу.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по методам вариационной статистики с оценкой статистической значимости показателей и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента с помощью компьютерной программы Biostat (версия 5.1) [1]. Различия в сравниваемых группах считали достоверными при уровне значимости 95% ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

В опытной группе № 1 показатели мотивационно-энергетической сферы (ВП и ИП) имеют общую динамику к постепенному уменьшению в течение трех дней тестирования (таблица). При этом ВП в контрольной группе снизилось к 3-м суткам наблюдения в 1,2 раза без достоверно значимой разницы, а в опытной группе в 1,9 раза при $p < 0,05$. В 1-е сутки эксперимента разница с контрольными показателями ВП составила 19,3 с, а во 2-е сутки 28,0 с ($p > 0,05$). В последний день тестирования отмечалось достоверное отличие значений ВП в группе, получавшей цеолит, с аналогичными значениями контрольной выборки. В данном случае констатировалось снижение ВП на 77,6 с ($p < 0,05$). В опытной группе № 2 данный показатель имел аналогичную динамику, снизившись к последним суткам тестирования в 2,1 раза, имея при этом (как и в группе № 1) достоверно значимую разницу со значениями контроля и 1-ми сутками тестирования.

Параметры оборонительного поведения в модульном устройстве у лабораторных животных с различным пищевым рационом

Параметры	Группа	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
ВП (с)	Контроль	234,7 ± 48,3	215,8 ± 25,0	193,3 ± 14,8
	Опытная № 1	215,4 ± 29,5	187,8 ± 31,3	115,7 ± 14,7 ⁺ ±
	Опытная № 2	204,5 ± 14,8	192,3 ± 21,5	97,7 ± 18,3 ⁺ ±
ИП (с)	Контроль	37,4 ± 2,1	28,4 ± 1,7	25,7 ± 3,1
	Опытная № 1	34,8 ± 5,7	30,2 ± 2,4	21,9 ± 4,3 ⁺
	Опытная № 2	39,5 ± 4,0	24,6 ± 3,7 ⁺	18,9 ± 5,1 ⁺
КП (%)	Контроль	34,5 ± 18,3	39,9 ± 12,8	47,7 ± 8,4
	Опытная № 1	51,8 ± 10,2	67,3 ± 10,0 ±	73,0 ± 11,3 ±
	Опытная № 2	48,4 ± 11,0	61,8 ± 8,1 ±	78,9 ± 17,4 ⁺ ±

Примечание:

± – значения при $p < 0,05$ в сравнении с контролем;

⁺ – значения при $p < 0,05$ в сравнении с 1-ми сутками тестирования

ИП к окончанию тестирования в контрольной выборке снизилась (в сравнении с 1 сутками) в 1,5 раза ($p > 0,05$), а у опытной группы № 1 в 1,6 раза ($p < 0,05$). При

этом в первый день наблюдения разница полученных значений в данной экспериментальной группе (в сравнении с контролем) практически не изменилась, составив

2,6 ед., во 2-е сутки 1,8 ед. и в 3-и сутки 3,8 ед. (при $p > 0,05$ во все дни). Несмотря на отсутствие достоверно значимой разницы, в целом наблюдается тенденция к оптимизации данного параметра с лидирующим положением в опытной группе № 1. Схожая тенденция отмечалась в опытной группе № 2, где снижение ИП было более значительно (в сравнении с группой № 1), а достоверная разница отмечалась (с 1 сутками) как в последний, так и во второй день наблюдения.

КП, характеризующий когнитивную сферу поведенческой активности, в опытной группе № 1 значительно увеличивался на протяжении периода тестирования, хотя при этом не всегда имел достоверно значимую разницу. Так, в 1-е сутки он возрос на 17,3 % ($p > 0,05$), во 2-е сутки на 27,4 % ($p < 0,05$) и в 3-и сутки на 25,3 % ($p < 0,05$). Сравнивая значения КП в последний день тестирования с начальным достоверной значимой разницы не наблюдалось ни в контрольной группе, ни в опытной (со снижением в 1,4 в обоих случаях при $p > 0,05$). В опытной группе № 2 прослеживалась аналогичная динамика изменения данного параметра.

Стабильность изменения наблюдаемых показателей у контрольных и опытных лабораторных крыс можно объяснить особенностями поведенческого типа, к которому относятся данные животные. Именно для представителей II (среднего) типа характерно относительно устойчивое постоянство параметров мотивационно-энергетической и когнитивной сфер поведенческой активности и плавное их изменение при воздействии каких-либо внутренних и (или) внешних окружающих факторов. В нашем случае констатировались изначально высокие значения КП в контрольной (34,5%) и особенно в опытной группе № 1, получавшей цеолит (51,8%).

Животные, находившиеся на минеральном пищевом рационе, имели наиболее совершенные значения, характеризующие оборонительное поведение (в сравнении с контрольными особями). Сложный опосредованный механизм влияния на условно-рефлекторную деятельность цеолита однозначно объяснить на сегодняшний день невозможно. Вероятнее всего, что воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды (в том числе и психоэмоционального) приводит к возникновению проблем адаптации, а имеющаяся возможность литофагически коррегировать жизненно необходимые константы способствует регу-

ляции физиологических, информационных и энергетических процессов в живых организмах [6]. К минералам, обладающим выраженными регулирующие-стабилизирующими свойствами по отношению к живым системам, относят смектиты, минералы группы каолинита, некоторые разновидности цеолитов и др., а благоприятная их активность по отношению к организму имеет уже многочисленные экспериментальные подтверждения [2, 4].

С точки зрения классического представления о механизмах обучения и научения результаты, получаемые у опытной группы № 2, являются в некоторой степени парадоксальными. При этом с позиции концепции, рассматривающей литофагию как антистрессовое явление, полученная динамика носит вполне закономерный характер. Регистрируемые показатели у животных данной экспериментальной группы не только не уступали по качественным и количественным признакам поведенческой активности, но и в некоторых случаях были более позитивными.

Заключение

Таким образом, добровольный выбор лабораторными животными (среднего поведенческого типа) пищевого рациона, включающего в себя цеолитсодержащую добавку, оказывает оптимизирующее воздействие на мотивационно-энергетические и когнитивные показатели поведенческой активности в условиях инструментальной среды с искусственно созданной проблемной ситуацией. Потребность в применении природных цеолитов, вероятнее всего, имеет инстинктивную основу, направленную на сохранение жизнедеятельности организма при постоянно изменяющихся условиях внешней среды. Лабораторные крысы, не испытывающие потребность в потреблении минералов, на наш взгляд, обладают выраженной стрессоустойчивостью к негативным психоэмоциональным факторам. В результате этого у последних не возникает литофагического влечения.

Полученные результаты подтверждают, что инстинктивное явление литофагии играет важную роль в процессе адаптации биологической особи в условиях постоянно изменяющейся внешней среды.

Список литературы

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – С. 104–175.
2. Голохваст К.С. Цеолиты: обзор биомедицинской литературы / К.С. Голохваст, А.М. Паничев // Усп. наук о жизни. – 2009. – № 1. – С. 118–152.

3. Баталова Т.А. Изучение пищедобывательного поведения в модульном устройстве // Росс. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. – 2009. – № 11. – С. 1242–1246.

4. Соловьев С.В. К механизму защитного эффекта цеолитов при стресс-воздействии // Закономерности эмбриональных морфогенезов у человека и позвоночных животных: материалы междунар. эмбриологического симп. «Югра-эмбрио» (Ханты-Мансийск, 21-22 октября 2004 г.). – Ханты-Мансийск. 2004. – С. 340–342.

5. Паничев А.М. Литофагия в мире животных и человека. – М.: Наука, 1990. – С. 53–101.

6. О причинах и следствиях литофагического инстинкта / А.М. Паничев, К.С. Голохваст // Успехи наук о жизни. – 2009. – № 1. – С. 70–81.

7. Голохваст К.С. Способ измельчения природного цеолита для производства биологически активных добавок // Химико-фармацевт. журн. – 2010. – Т. 44, № 2. – С. 54–57.

8. Григорьев Н.Р. Типологические особенности поведения крыс // Росс. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. – 2007. – № 8. – С. 817–826.

References

1. Glanc S. Mediko-biologicheskaja statistika. M.: Praktika, 1999. pp. 104–175.

2. Golohvast K.S. Ceolity: obzor biomedicinskoj literatury / K.S. Golohvast, A.M. Panichev // Usp. nauk o zhizni. 2009. no. 1. pp. 118–152.

3. Batalova T.A. Izuchenie piwedobyyatel'nogo povedeniya v modul'nom ustrojstve // Ross. fiziolog. zhurn. im. I.M. Sechenova. 2009. no. 11. pp. 1242–1246.

4. Solov'ev S.V. K mehanizmu zawitnogo jeffekta ceolotov pri stress-vozejstvii // Zakonomernosti jembriofetal'nyh mor-

fogenezov u cheloveka i pozvonochnyh zhivotnyh: materialy mezhdunar. jembriologicheskogo simp. «Jugra-jembrio» (Hanty-Mansijsk, 21–22 oktjabrja 2004 g.). Hanty-Mansijsk. 2004. pp. 340–342.

5. Panichev A.M. Litofagija v mire zhivotnyh i cheloveka. M.: Nauka, 1990. pp. 53–101.

6. O prichinah i sledstvijah litofagial'nogo instinkta / A.M. Panichev, K.S. Golohvast // Uspehi nauk o zhizni. 2009. no. 1. pp. 70–81.

7. Golohvast K.S. Sposob izmel'chenija prirodnogo ceolita dlja proizvodstva biologicheski aktivnyh dobavok // Himiko-farmaceutv. zhurn. 2010. T. 44, no. 2. pp. 54–57.

8. Grigor'ev N.R. Tipologicheskie osobennosti povedeniya krys // Ross. fiziolog. zhurn. im. I.M. Sechenova. 2007. no. 8. pp. 817–826.

Рецензенты:

Бердников П.П., доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и незаразных болезней института ветеринарной медицины и зоотехнии ФГБОУ ВПО «Дальневосточный государственный аграрный университет Министерства сельского хозяйства РФ», г. Благовещенск;

Чертов А.Д., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологии и экологии ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия Минздрава России» РФ, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 30.03.2012.

УДК 599.32

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ НА ПОЗНАВАТЕЛЬНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

Стасюк О.Н., Альфонсова Е.В.

ФГБОУ ВПО «Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет им. Н.Г. Чернышевского», Чита, e-mail: olga-stasuk4@rambler.ru

В данной работе представлен анализ влияния препарата из золотого корня по сравнению с известными ноотропами, как средство, оказывающее защитное влияние на высшие интегративные функции мозга при недостатке кислорода. Было выяснено, что этот препарат эффективен при выработке условной реакции активного избегания на фоне отрицательного подкрепления. Выработка условных лабиринтных реакций проводилась на модели дефицита кислорода созданием острой нормобарической гипоксии, которая наиболее распространена. При дефиците кислорода затрудняется выработка этой реакции, которая базируется на познавательной деятельности мозга. Как установлено, вещества ноотропного типа действия защищают выработку условной реакции активного избегания при дефиците кислорода. Препарат из золотого корня облегчает образование условных реакций при недостатке кислорода и даже в некоторых моментах не уступает известным веществам ноотропного типа действия.

Ключевые слова: родиола розовая, познавательная деятельность, гипоксия, ноотропы, крысы, пирacetам, реакции активного избегания

INFLUENCE RHODIOLAE ON THE COGNITION AT THE EXPERIMENT

Stasjuk O.N., Alfonsova E.V.

Zabaikalsky State Humanitarian Pedagogical University named after N.G. Chernishevsky, Chita, e-mail: olga-stasuk4@rambler.ru

Abstract: This work gives us about results influence hypoxia on the foundation basis behavioral reactions such as active avoidance at the rats. In the article presents results experimental influence hypoxia on the adaptive value active avoidance is on the base reaction escape behavior following. Influence extract Rhodiola rosea was study comparatively with nootropic drugs. We use classic nootropic drug: pyracetam. All preparations introduce in the next situations: before hypoxia and after hypoxia. Hypoxia restructure active avoidance. The nootropic drugs have protection cognition and preparation Rhodiola comparative classic nootrop pyracetam facilitate reaction active avoidance is on the hypoxia at the rats.

Keywords: Rhodiola, cognition, hypoxia, nootropic, rats, pyracetam, reactions active avoidance

У грызунов поведенческие акты направлены на достижение конкретных задач: добывание и запасание корма, принятие пищи, спаривание, уход за потомством и т.д. Все это представляет имеющийся набор поведенческих реакций, которые генетически жестко детерминированы и проявляются в виде побегки, прыжка, стойки, груминга и др. Жизненные ситуации при постоянном непрерывном многообразии исходных данных приводят животное к состоянию выбора или предпочтения акта поведения в конкретной ситуации. Познавательная деятельность является базовой основой формирования поведенческих адаптивных реакций. Однако при агрессивных воздействиях окружающей среды происходят изменения или нарушения поведенческих реакций. Средствами, способными оптимизировать поведенческие реакции, как показывает ряд исследователей, являются растительные адаптогены [3, 6].

Вытяжке из корня родиолы розовой приуса психостимулирующая активность [3]. А.С. Саратиковым и Е.А. Красновым (1987) было установлено, что в золотом корне или в корне родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) обнаружены следующие химические соеди-

нения: органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, галловая, янтарная, кофейная, оксикоричная); углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза); алкалоиды (астрагаллин, родионин, родалин, родалидин, розин, розавин, розарин, родиолгин, родиозин, родиолин, ацетилродалин, родиолгидин); эфирные масла, цитраль, β-фенилацетат и минеральные вещества (Zn, Cu, Ti, Mn).

В наших исследованиях поставлена цель: провести сравнительный анализ влияния известных ноотропов с официинальным экстрактом родиолы розовой на выработку адаптивной поведенческой реакции у грызунов. В качестве повреждающего агента выработки поведенческой реакции принято гипоксическое воздействие. К настоящему времени известно, что дефицит кислорода – состояние, которое наиболее часто встречается у человека при различных заболеваниях сердца, сосудов, органов дыхания, а также при утоплении, удушении, в аварийных ситуациях, связанных с отключением подачи вдыхаемого воздуха в герметичные рабочие места, при экологически неблагоприятных ситуациях и т.д. При этом изменяется интенсивность окислительных процессов мозга [2], что приводит к недостатку энер-

гии в ткани мозга. Возникают сбои в работе всех систем органов и тканей, в том числе при поведенческих реакциях. Однако, как известно, наиболее чувствительными к недостатку кислорода являются нейроны коры. На современном этапе исследований принято, что программа конкретного поведенческого акта сводится к моделированию функциональной структуры как закона связи между жесткими функциональными элементами [2]. Одним из базовых звеньев в системе адаптивных поведенческих реакций организма является познавательная деятельность мозга.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены с привлечением белых неинбредных линий 230 крыс. Животные содержались в стандартных условиях ухода и питания в вивариях, соответствующих международным правилам и нормам. В качестве модели нарушения выработки поведенческой реакции «на место» у крыс использована острая прогрессирующая нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией (ОНГГ) по М.В. Кораблеву и П.И. Лукиенко (1973) в модификации [5]. В качестве препаратов сравнения приняты известные вещества ноотропного типа действия: пирацетам, производное пирролидона, обладающий ноотропным и слабым антигипоксическим эффектом в дозе 50 и 200 мг/кг; натрия оксифурилат, производное гаммаоксимасляной кислоты, обладающее антигипоксическим и слабым ноотропным эффектом, в дозе 50 мг/кг [6]; экстракт родиолы розовой (официальный препарат) в дозе 2 мл на кг массы. Препараты вводили внутрибрюшинно в 3-х ситуациях: интактным животным, до гипоксии и в ранний постгипоксический период.

Для изучения познавательной деятельности у крыс использована методика выработки адаптивной поведенческой реакции, такая как условная реакция активного избегания (УРАИ), которая выполнялась следующим образом: в Т-образном лабиринте у крысы вырабатывали условную реакцию избегания на звук с отрицательным подкреплением. После подачи аверзивного стимула крыса достигает безопасной площадки в одном из рукавов лабиринта, несколько сочетаний звука и болевого сигнала приводит к возникновению реакции избегания. Регистрировали: время латентного периода, время побежки, число ошибок, число побегов. Критерием выработки УРАИ принято 5 безошибочных побегов подряд.

Результаты исследования и их обсуждение

Инструментальная реакция побежки вырабатывалась в течение нескольких попыток, до появления адаптивной реакции на звуковой сигнал. Формирование УРАИ характеризуется ожиданием в стартовом отсеке первого удара эл/током и последующих побегов с постепенным уменьшением латентного периода покидания стартовой площадки и, наконец, стабильным уровнем поведения, что соответствует литера-

турным данным [4]. В первых пробах при появлении звукового раздражителя крысы оставались в стартовом отсеке, который покидали только при нанесении ЭКР. Время хаотического поиска безопасного отсека составляло в среднем $27,03 \pm 2,3$ с. Однако уже к третьей пробе время поиска результативной побежки в ответ на негативное научение в виде подкрепления сокращалось в 2,7 раза и составляло $10,7 \pm 0,5$ с. Это служило доказательством смены хаотического поиска безопасного отсека на целенаправленную исследовательскую активность оборонительного типа, индекс которой составил 60,4%, и установление причинно-следственных отношений. У интактных животных в среднем через $9,5 \pm 0,6$ сеансов наблюдалось становление условной реакции активного избегания и через 3–5 проб завершалось упрочение условного избегания. Выработка условной реакции активного избегания и приурочивание избегательного ответа к периоду действия звукового раздражителя отмечена в среднем через $12,1 \pm 0,9$ сеанса (таблица).

Крысы, перенесшие острую нормобарическую гипоксическую гипоксию с гиперкапнией, испытывали затруднение в выделении значимого звукового раздражителя и установления условной связи с действием ЭКР. Об этом свидетельствовало отсутствие изменения времени поиска безопасного отсека в первых пробах и замедление становления УРАИ в 3 раза ($P < 0,001$). По сравнению с интактными животными, крысы после 40-минутной экспозиции в условиях гипоксической гипоксии совершали две правильные реакции условного избегания только после $28,8 \pm 0,9$ проб сеанса научения (контроль $9,5 \pm 0,6$ проб, $P < 0,001$). Как при выработке локомоторного избегания и других форм научения, после сеанса гипоксии не отмечено сдвигов в продолжительности стадии упрочения УРАИ. В среднем через $31,05 \pm 1,1$ пробы крысы опытной группы достигали критерия обученности, выполняя безошибочно 5 условных ответов подряд ($P < 0,001$, таблица). Далее в таблице представлены результаты изучения влияния эталонного ноотропа пирацетам (50 и 200 мг/кг) при его введении до гипоксии и в ранний постгипоксический период. Несмотря на значительное уменьшение времени поиска правильного ответа в третьей пробе по сравнению с первой, свидетельствующее об ускоренной смене хаотического поиска на целенаправленный, скорость становления реакции не отличалась от контроля. С увеличением дозы под влиянием пирацетама (200 мг/кг) наблюдалось увеличение скорости образования

УРАИ на (21%), при параллельном повышении индекса оборонительной мотивации (на 19%). Установлено, что ноотропы облегчают обучение УРАИ у интактных крыс, наиболее эффективен пирацетам в дозе 200 мг/кг. Профилактическое введение пирацетама в дозе 50 мг/кг восстанавливало показатели выработки активного избегания. Становление УРАИ у животных, подвергнутых воздействию 40-минутной гипоксической гипоксии, возникало значительно раньше, чем в контроле (контроль $28,8 \pm 0,3$ пробы; опыт $9,5 \pm 0,6$ $P < 0,001$). Достижение критерия обученности происходило также почти в 3 раза быстрее (контроль $31,5 \pm 1,1$ пробы; опыт $11,2 \pm 0,8$

пробы $P < 0,001$). Аналогичные сдвиги научения отмечены при введении пирацетама в дозе 200 мг/кг в постгипоксический период. Предварительное применение натрия оксибутирата увеличивало время хаотического поиска безопасного отсека на 62% (с $26,0 \pm 2,2$ до $43,6 \pm 3,4$). Как видно, при введении веществ в ранний постгипоксический период выявлено, изменения в процессе выработки, полученные при некоторых ситуациях, уменьшаются, например латентный период хаотического поиска (на 70%), и имеется тенденция к снижению времени поиска правильного ответа и уменьшению времени выхода из стартового отсека (соответственно на 75 и 69% ($P < 0,05$).

Влияние веществ ноотропного типа действия на выработку условной реакции активного избегания при их введении до и после гипоксии

Вещество	Доза мг/кг	Условное обучение	Число животных	Количество проб, затраченных на обучение		Время поиска, с		Время выполнения условной реакции, с
				до критерия	до 2-х прав. Ответ	1-я проба	3-я проба	
Физиологический раствор	2 мл/кг		12	$12,1 \pm 0,9$	$9,5 \pm 0,5$	$26,03 \pm 2,1$	$10,4 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,2$
Гипоксия			17	$31,1 \pm 1,1$	$28,8 \pm 0,3$	$26,9 \pm 2,2$	$13,7 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,1$
Пирацетам	50	До	12	$9,8 \pm 0,4$	$8,3 \pm 0,8$	$20,3 \pm 1,4$	$10,7 \pm 0,9$	$3,5 \pm 0,2$
Пирацетам	50	После	12	$11,2 \pm 0,8$	$10,5 \pm 1,1$	$18,8 \pm 1,8$	$9,8 \pm 1,3$	$3,7 \pm 0,2$
Пирацетам	200	До	12	$14,2 \pm 1,9$	$11,0 \pm 0,9$	$30,0 \pm 0,0$	$22,0 \pm 6,8$	$3,1 \pm 1,4$
Пирацетам	200	После	12	$11,7 \pm 1,9$	$10,0 \pm 0,6$	$30,0 \pm 0,0$	$30,0 \pm 0,0$	$4,3 \pm 0,7$
Натрия оксибутират	50	До	12	$26,0 \pm 1,4$	$10,0 \pm 0,9$	$43,6 \pm 3,4$	$16,6 \pm 3,4$	$2,9 \pm 0,3$
Натрия оксибутират	50	После	12	$25,0 \pm 1,7$	$13,5 \pm 1,9$	$35,3 \pm 0,6$	$9,1 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,3$
Экстракт родиолы розовой	2мл/кг	До	12	$19,6 \pm 1,97^*$	$16,4 \pm 0,26^{**}$	$28,4 \pm 1,08$	$26,1 \pm 0,13$	$6,2 \pm 0,02$
Экстракт родиолы розовой	2мл/кг	После	12	$27,4 \pm 2,12$	$21,0 \pm 0,13$	$27,8 \pm 1,27$	$25,8 \pm 0,04$	$5,9 \pm 0,37$

Примечание: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$.

Как показывают данные таблицы, в первой пробе сеанса научения время хаотического поиска дверцы в безопасный отсек составило $30,03 \pm 2,3$ с. Однако к третьей пробе время поиска правильной побежки в ответ на ЭКР резко сокращалось, достигая $10,7 \pm 0,5$ с. Это служило доказательством смены хаотического поиска безопасного отсека крысой на целенаправленную исследовательскую активность оборонительного типа, индекс которой составил 60,4%. Как ранее установлено, у интактных животных в среднем через $9,5 \pm 0,6$ проб наблюдалось становление условной реакции активного избегания и через 2–4 пробы завершалось упрочение условного избегания. Процесс научения УРАИ и приурочивание реакции избегания к периоду действия условного звукового раздражителя отмечен в среднем

через $12,1 \pm 0,9$ побежки (см. таблицу). Препарат растительного происхождения родиола розовая оказывает влияние на выработку УРАИ. Отмечено, что смена хаотического поиска на целенаправленный происходила медленнее, чем в контрольной группе, а правильный ответ появлялся раньше почти на 30% у крыс, получающих родиолу розовую. В целом, как показывают результаты, выработка УРАИ под влиянием растительного препарата улучшается. Применение препарата родиолы розовой увеличивает объем поисковых движений и повышают скорость выполнения простой реакции активного избегания. Следовательно, антигипоксическое действие не определяет их влияния на скорость выработки простых адаптивных ответов у интактных животных. Так, группа крыс, получающих

родиолу розовую при введении до гипоксического воздействия достигала критерия обученности на 30% быстрее (при $P < 0,05$), а при введении в ранний постгипоксический период становление УРАИ отмечено значительно раньше. Экстракт родиолы розовой при его введении до гипоксии по сравнению с пирарцетамом оказывает менее активное влияние на выработку УРАИ и превосходит влияние натрия оксипутирата при этом же введении (см. таблицу). В целом процесс выработки УРАИ не изменялся, т.е. смена хаотического поиска на целенаправленный происходила, но позднее, как и в контрольной группе, а становление навыка и его упрочение происходило значительно быстрее, но число ошибок оставалось на прежнем уровне.

Таким образом, можно заключить, что гипоксическая гипоксия замедляет выделение биологически-значимого сигнала, снижает эмоционально-болевое подкрепление и нарушает причинно-следственные отношения, и, как следствие этого, происходит ухудшение формирования условного избегания.

Вещества ноотропного типа действия облегчали выработку адаптивной поведенческой реакции, причем наилучшим образом действовал пирарцетам в дозе 50 и 200 мг/кг при введении перед гипоксией. Препарат, обладающий антигипоксическим эффектом, на выработку УРАИ оказывал незначительное влияние. Препарат, содержащий экстракт родиолы розовой, оказывал сходное влияние с классическим ноотропом пирарцетамом при введении до гипоксии. Отмечено, что смена поиска с хаотического на целенаправленный происходит позднее, однако это не сказывалось на ситуации, когда выработка навыка и время побегки правильной реакции во всех случаях находились в пределах нормы.

Заключение

Таким образом, препарат родиолы розовой облегчал выработку условной реакции активного избегания в условиях гипоксии. Использование растительного адаптогена более эффективно при введении перед гипоксическим воздействием и сравнимо с введением синтетических средств ноотропного типа действия.

Список литературы

1. Влияние острой гипоксии на образование приспособительных поведенческих реакций / О.Н. Стасюк и соавт // Вестник МАНЭБ Забайкалья. – ЧитГУ, 2009. – 4 с.
2. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетические механизмы формирования гипоксических состояний и подходы к их фармакологической коррекции // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М.: НИИ Фармакологии СССР, АМН СССР, 1989. – С. 11–44.
3. Саратиков А.С., Краснов Е.А. Родиола розовая – ценное лекарственное растение (золотой корень). – Томск: ТГУ, 1987. – 251 с.
4. Иноземцев А.Н. Сопоставление влияния ноотропов и анксиолитиков на функциональные нарушения реакции избегания // Вестник МГУ. Серия 16. – 2004. – С. 24–30.
5. Авсеенко Н.Д. Ноотропы с антигипоксическим эффектом в эксперименте и клинике: дис. ... д-ра мед. наук, 1997. – 295 с.
6. Воронина Т.А. Гипоксия и память Особенности эффектов и применения ноотропных препаратов // Вестник РАМН. – 2000. – №9. – С. 27–34.

References

1. Vlijanie ostrojj gipoksii na obrazovanie prisposobitel'nykh povedencheskikh reak-cijj.- Stasjuk O.N. i soavt. Vestnik MANEhB Zabajkal'ja. ChitGU, 2009. 4 p.
2. Bioehnergeticheskie mekhanizmy formirovanija gipoksicheskikh sostojanij i podkhody k ikh farmakologicheskoi korrek-cii. Luk'janova L.D. v kn. «Farmakologicheskaja korrek-cija gipoksicheskikh sostojanijj».-M:NIi Farmakologii SSSR, AMN SSR, 1989. pp. 11–44.
3. Saratikov A.S., Krasnov E.A. Rodiola rozovaja – cen-noe lekarstvennoe rastenie (zo-lotojj koren'). Tomsk: TGU, 1987. 251 p.
4. Inozemcev A.N. Sopostavlenie vlijanija nootropov i anksiolitikov na funkcional'nye narushenija reakcii izbeganija // Vestnik MGU. serija 16, 2004. pp. 24–30.
5. Avseenko N.D. Nootropy s antigipoksicheskim ehffektom v ehksperimente i klinike: diss....d-ra med. Nauk, 1997. 295 p.
6. Voronina T.A. Gipoksija i pamjat' Osobennosti ehffektov i primenenija nootropnykh preparatov // Vestnik RAMN, 2000, no. 9. pp. 27–34

Рецензенты:

Степанов А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф, Читинская государственная медицинская академия, г. Чита;

Авсеенко Н.Д., д.м.н., профессор, кафедра медико-биологических основ физической культуры и спорта, Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет, г. Чита.

Работа поступила в редакцию 26.03.2012.

УДК 612.438.1

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИОКСИДОНИЯ

Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю.,
Михайлова М.Н., Мухаммад Захид, Бессонова К.В.

ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»,
Чебоксары, e-mail: glebstr@mail.ru

С помощью иммуногистохимических, люминесцентно-гистохимических и общегистологических методов исследован тимус нелинейных лабораторных крыс-самцов через три недели после введения полиоксидония. Впервые описано, что использование полиоксидония приводит к снижению уровня гистамина во всех структурах тимуса, особенно в лимфоцитах коркового и мозгового вещества, содержание серотонина и катехоламинов в люминесцирующих гранулярных клетках увеличивается, в тимоцитах – практически не изменяется. При этом соотношение (серотонин + гистамин)/катехоламины во всех структурах достоверно снижается, особенно в тимоцитах коркового и мозгового вещества. Впервые выявлено, что большая часть клеток внутренней кортикальной, субкапсулярной зон тимуса (50–60%) дают положительную реакцию на белок S-100 и экспрессируют CD 23, что позволяет их отнести к дендритным клеткам. Среди клеточных структур этих зон 20–25% – апудоциты (экспрессируют синаптофизин и дают положительную реакцию на хромогранин А), до 20% – макрофаги (CD68-позитивные и содержат фермент лизоцим). Установлено, что применение полиоксидония в течение трех недель приводит к увеличению количества CD3⁺-лимфоцитов в паренхиме тимуса на 15–25%, а CD5⁺-лимфоцитов – на 10–15%.

Ключевые слова: тимус, полиоксидоний, дендритные клетки, тучные клетки, биогенные амины

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THYMUS AFTER USE POLIOXIDONIUM

Struchko G.Y., Merkulova L.M., Moskvichev E.V., Kostrova O.Y.,
Mikhaylova M.N., Muhammad Zahid, Bessonova K.V.

Chuvash State University n.a. I. Ulyanov, Cheboksary, e-mail: glebstr@mail.ru

Using immunohistochemistry, luminescent-histochemical methods, and investigated thymus obsehgistologicheskikh nonlinear laboratory male rats three weeks after the introduction of polioxidonium. First described that the use of polyoxidonium leads to a decrease in the level of histamine in all structures of the thymus, particularly in the lymphocytes of the cortex and medulla, serotonin and catecholamines in luminescent granular cells increased in thymocytes – virtually unchanged. The ratio of (serotonin + histamine)/catecholamines in all structures was significantly reduced, especially in the thymocytes of the cortex and medulla. For the first time revealed that most cells of the inner cortical, subcapsular zones of thymus (50–60%) give a positive reaction for protein S-100 and express CD 23, which allows them to be attributed to the dendritic cells. Among the cellular structures of these zones of 20–25% – apudocytes (express synaptophysin and give a positive reaction to chromogranin A), up to 20% – macrophages (CD68-positive and contain the enzyme lysozyme). It is established that the use of polyoxidonium three weeks leads to an increase in the number of CD3⁺-lymphocytes in the parenchyma of the thymus by 15–25%, and CD5⁺-lymphocytes – by 10–15%.

Keywords: thymus, Polyoxidonium, dendritic cells, mast cells, biogenic amines

Изучение механизмов функционирования иммунной системы является актуальной медицинской проблемой, которая может помочь не только в лечении, но и в предотвращении развития различных заболеваний. Недостаточная изученность многих аспектов деятельности иммунной системы связана, с одной стороны, с чрезвычайно большим количеством типов клеток, участвующих в иммунных реакциях, а с другой – отсутствием доступных способов их идентификации в каждой конкретной ситуации [2, 4].

Иммунная система является уникальным защитным механизмом, обеспечивающим гомеостаз, и при контакте с любым антигеном она не только реагирует в виде специфического иммунного ответа, но и способна вовлекать в этот процесс через гуморальные факторы нервную и эндокринную системы [8]. Ведущая роль в та-

ких взаимодействиях принадлежит тимусу, в котором присутствуют многочисленные клеточные типы, обеспечивающие процессы иммуногенеза. Морфологические перестройки в тимусе, возникающие в ответ на стресс, на различные антигены, носят адаптивный характер и сопровождаются изменением цитоархитектоники и микроокружения клеток, что, по-видимому, и является причиной развития иммунодефицитов в этих условиях [6, 7].

Как известно, применение препаратов с иммуотропными свойствами обязывает к тщательному контролю их действия на морфофункциональное состояние органов. Поэтому изучение этого вопроса является весьма актуальным и в теоретическом, и в прикладном аспектах. В настоящее время одним из наиболее изучаемых иммуномодуляторов является «Полиоксидоний», который обладает сложным и многогран-

ным действием на иммунную и эндокринную системы, усиливая и клеточный, и гуморальный иммунитет [1, 3, 5, 8]. Однако для признания полиоксидония как универсального препарата с широким спектром действия не хватает данных о его влиянии на органы иммунитета на клеточном и тканевом уровнях.

Таким образом, всестороннее исследование взаимодействия морфофункционального состояния тимуса на фоне применения иммуномодулятора «Полиоксидоний» является важной и перспективной задачей современной иммуноморфологии, имеющей как фундаментальное, так и прикладное значение.

Цель исследования – оценить функциональное состояние тимуса через три недели применения полиоксидония

Материал и методы исследования

Объектом исследования явился тимус 130 белых нелинейных крыс-самцов одного возраста и одной массы (180–220 г), содержавшихся в обычных условиях при естественном освещении и сбалансированном рационе питания. Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животные были разделены на 3 группы: первая – интактные крысы ($n = 25$); вторая – контрольная группа животных с внутримышечным введением физиологического раствора по 0,5 мл 2 раза в неделю в течение 3 недель ($n = 35$); третья – животные с внутримышечным введением полиоксидония из расчета 0,1 мг/кг 2 раза в неделю в течение 3 недель (доза адекватна лечебной для человека, исходя из соотношения средней массы крысы и человека) ($n = 70$).

В работе использовались следующие методы:

1. Иммуногистохимические методы исследования с использованием моноклональных антител фирмы Santa Cruze, разделенных на группы по функциональной значимости:

- 1) маркеры зрелых Т-лимфоцитов – CD3, CD5, CD45RO;
- 2) маркеры В-лимфоцитов и NK-клеток – CD12, CD30;
- 3) маркеры макрофагов – CD68, лизоцим;
- 4) маркеры дендритных клеток – CD23, белок S-100;
- 5) маркеры нейроэндокринных клеток – хромогранин А, синаптофизин.

2. Люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа – для избирательного выявления катехоламин- и серотонинсодержащих структур тимуса.

3. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста – для идентификации гистаминсодержащих структур тимуса.

4. Метод цитоспектрофлюориметрии – для количественной оценки уровня катехоламинов (КА), серотонина (СТ) и гистамина (ГСТ) в структурах тимуса. Для этого на люминесцентный микроскоп была установлена насадка ФМЭЛ-1А при выходном напряжении 900 В.

5. Метод непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител – для установления локализации белка S-100 в структурах тимуса.

6. Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна – для качественной и количественной характеристики тучных клеток.

7. Окраска гематоксилином-эозином – в качестве общегистологической окраски с последующей морфометрией долек тимуса. Измерение диаметра коркового и толщины мозгового вещества производились с помощью светового микроскопа и винтового окулярного микрометра МОВ-1-15×, установленного на микроскоп при увеличении объектива 8× и окуляра 15×.

Результаты исследования и их обсуждение

С помощью люминесцентной микроскопии у интактных крыс выявляются четко очерченные дольки тимуса с заметным корковым и мозговым веществом. Во внутренней кортикальной зоне располагается ряд люминесцирующих гранулярных клеток с беловато-желтыми включениями, ограничивающие мозговое вещество в виде ободка в 1–2 ряда – премедуллярные клетки. По периферии дольки в субкапсулярной зоне выявляются более мелкие клетки с зеленовато-желтыми гранулами в цитоплазме – субкапсулярные клетки. Применение полиоксидония приводит к изменению цитоархитектоники тимуса: дольки увеличиваются в размерах как за счет диаметра коркового, так и за счет площади мозгового вещества. Премедуллярные клетки окружают мозговое вещество плотным кольцом в 4–5 рядов. Клетки крупные, яркие, желтовато-белой люминесценции. Количество премедуллярных клеток увеличивается до 18–20 в поле зрения, что на 50–60 % превышает норму. В 15–20 % случаев наблюдается «вклинение» кортико-медуллярного ряда клеток в субкапсулярный (рис. 1).

У интактных животных преобладающим биогенным амином во всех исследованных структурах является гистамин, особенно в тимоцитах коркового и мозгового вещества, где его уровень в 3–4 раза выше содержания катехоламинов и серотонина в этих же структурах.

В премедуллярных клетках после применения полиоксидония содержание серотонина и катехоламинов увеличивается на 67%, уровень гистамина практически не изменяется. Это приводит к снижению соотношения (СТ+ГСТ)/КА до 5,04 против 6,31 у интактных животных. В то же время в тимоцитах коркового вещества содержание серотонина и катехоламинов увеличивается незначительно, а уровень гистамина падает почти в 2 раза, что проявляется в резком снижении соотношения (СТ+ГСТ)/КА до 3,92. У интактных животных этот индекс составляет 5,7.

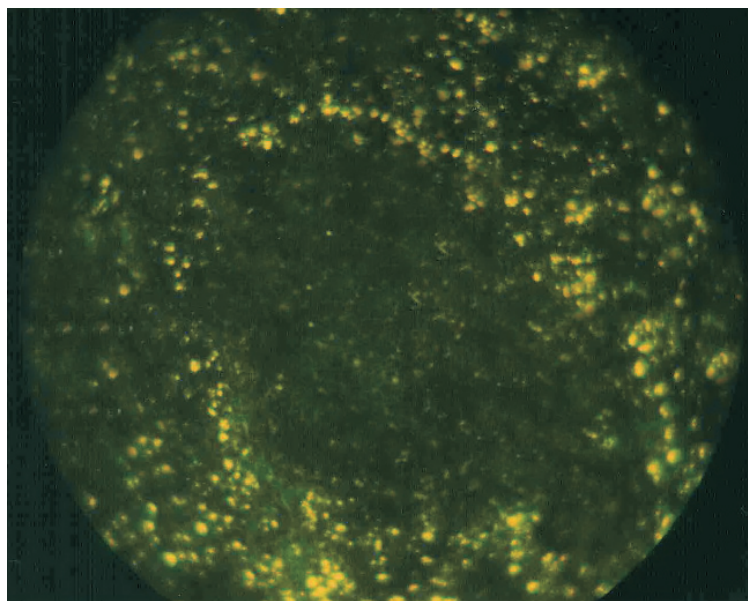


Рис. 1. Тимус. Полиоксидоний, 3 недели. Крупные люминесцирующие клетки внутренней кортикальной зоны вокруг темного мозгового вещества.
Метод Фалька. ЛЮОМ-4. Об. 8, гомаль 1,7

В клетках субкапсулярного ряда уровень серотонина возрастает почти на 20%. Это придает им беловатую люминесценцию, что и отмечалось нами при визуализации. Содержание катехоламинов снижается на 15%, а гистамина – в 1,6 раза. Такое перераспределение биогенных аминов в макрофагах субкапсулярной зоны, вероятнее всего, является ответной реакцией на значительные изменения в клетках премедулярного ряда и тимоцитах коркового вещества. Поэтому соотношение (СТ + ГСТ)/КА в субкапсулярных клетках практически не изменяется: 5,95 против 6,45 у интактных крыс.

Исследование морфологии тучных клеток с помощью окраски полихромным толудиновым синим показало, что в норме преобладают дегранулированные формы клеток (79,2%) с β_1 - и β_2 -метахромазией (рис. 2). После введения полиоксидония отмечается увеличение количества тучных клеток (рис. 3). В 33,2% случаев – это недегранулированные формы клеток с β_1 -метахромазией. Соответственно дегранулированные формы занимают 62,6%, что на 16,6% меньше, чем у интактных крыс.

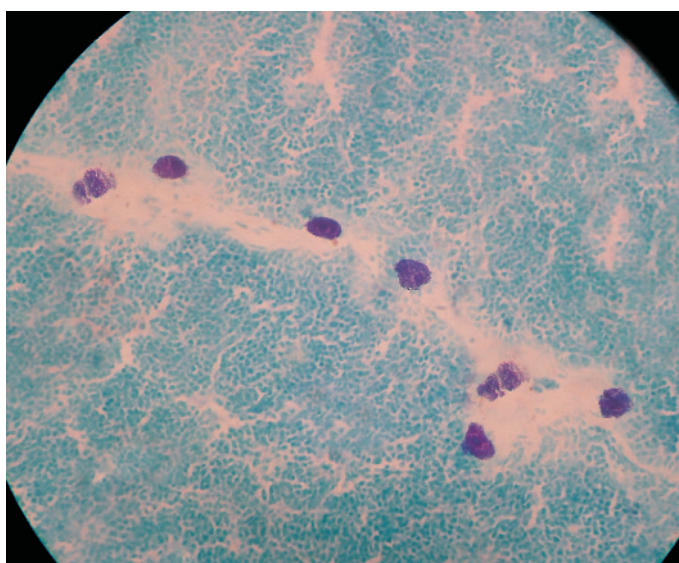


Рис. 2. Тимус. Интактные животные. Т-2 формы тучных клеток с β_1 - и β_2 -метахромазией.
Ок. толудиновым синим по Унна. Об. 10, ок. 10, гомаль 3,0

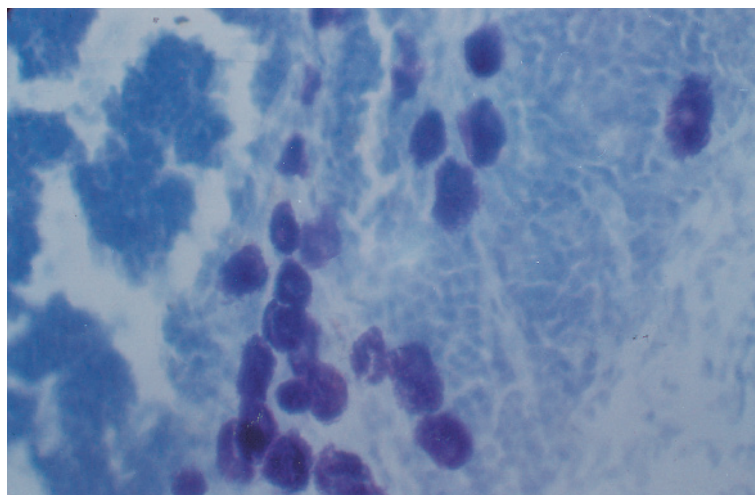


Рис. 3. Тимус. Полиоксидоний, 3 недели. Увеличение количества тучных клеток в септах дольки. Ок. толуидиновым синим по Унна. Об. 20, ок. 10, гомаль 3,0

Окраска срезов тимуса гематоксилин-эозином и проведение морфометрии долек выявили следующее: толщина коркового вещества после применения полиоксидония увеличивается на 19%, а площадь мозгового вещества возрастает на 36%. При этом масса тимуса практически не отличается от нормы и контрольной группы.

Для изучения маркеров зрелых Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти нами использовались моноклональные антитела к CD3 и CD5. Известно, что антигены CD3 и CD5 экспрессируются на поздних тимоцитах и зрелых Т-клетках. Однако, если CD3⁺-клетки – это строго специфичные Т-лимфоциты, то CD5-позитивными могут быть и В-лимфоциты внутридольковых периваскулярных пространств. Выявлено, что у интактных и контрольной групп животных количество CD3⁺-клеток составляет 25–35% общей доли лимфоцитов. Они располагаются в основном в мозговом веществе тимуса и во внутридольковых периваскулярных пространствах. После применения полиоксидония число CD3⁺-клеток возрастает до 50%. Это связано не только с увеличением количества самих зрелых Т-лимфоцитов, но и с увеличением диаметра и площади мозгового вещества тимусной дольки на 20 и 36% соответственно. Количество CD5⁺-лимфоцитов незначительно превышает число CD3⁺-клеток за счет В-лимфоцитов внутридольковых периваскулярных пространств и составляет около 35–40% у интактных и 45–55% – у экспериментальных животных.

Для изучения гистотопографии макрофагов тимуса нами использовались моноклональные антитела к CD68 и фермент лизоцим. CD68-позитивные клетки у интактных животных всегда выявляются в небольшом количестве во всех зонах тимус-

ной дольки и под капсулой рядом с жировой тканью (рис. 4). Аналогичная картина наблюдается и при обработке парафиновых срезов на лизоцим (рис. 5). После применения полиоксидония наблюдается увеличение количества макрофагов в 1,5–2,2 раза и группирование их вокруг мозгового вещества.

Одним из ключевых структурных элементов тимуса, помимо лимфоцитов и эпителиальных клеток, являются дендритные клетки. Для их выявления нами применялись антитела к антигену CD23 и белку S-100. У интактных животных дендритные клетки обнаруживаются, наряду с макрофагами и нейроэндокринными клетками, в основном во внутренней кортикальной зоне. Единичные клетки выявляются под капсулой, по ходу соединительной ткани, в мозговом веществе.

Гистологическая картина тимуса существенно меняется после введения полиоксидония. Отмечается значительное увеличение CD23⁺-клеток как в корковом, так и в мозговом веществе. Дендритные клетки экспрессируют большое количество белка S-100, что делает их яркими при люминесцентной микроскопии. Их количество и размеры заметно увеличиваются, особенно во внутренней кортикальной зоне и мозговом веществе дольки тимуса.

Среди общеизвестных структур тимуса выявляются клетки, которые по своим морфологическим и физиологическим характеристикам невозможно отнести ни к макрофагам, ни к дендритным клеткам. Они диффузно располагаются во всех зонах тимуса, особенно много их выявляется во внутреннем кортикальном слое. Для того чтобы получить информацию о данном типе клеток, нами использовались моноклональные антитела к хромогранину А и сипаптофизину – маркерам клеток нейроэндокринной системы.

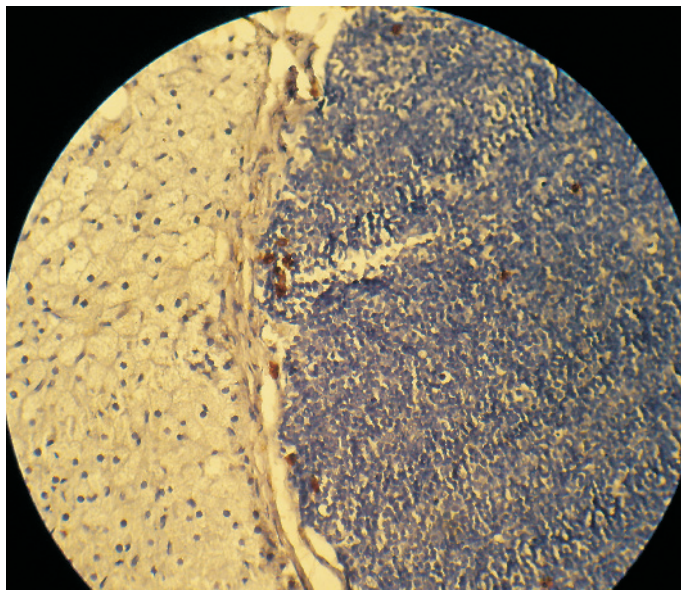


Рис. 4. Тимус. Интактные животные. Макрофаги субкапсулярной зоны. Иммуногистохимическая реакция на CD68. Ув. 400×

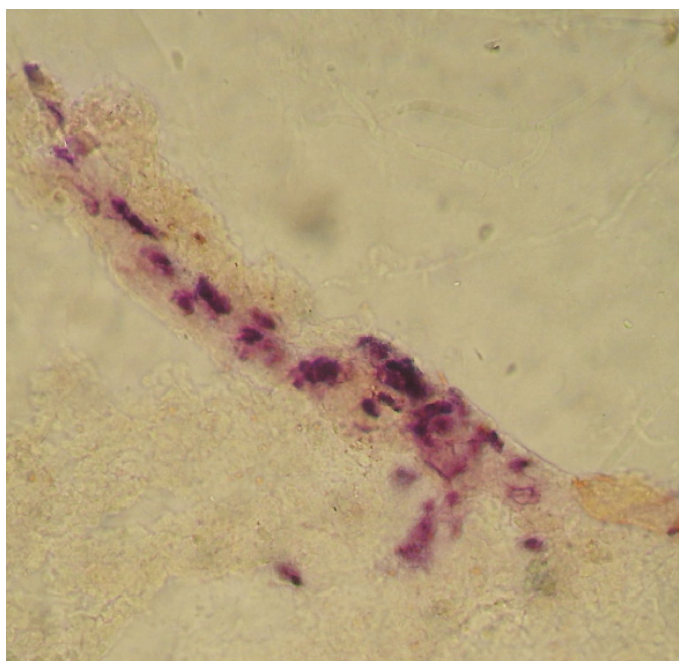


Рис. 5. Тимус. Интактные животные. Макрофаги субкапсулярной зоны. Иммуногистохимическая реакция на лизоцим. Ув. 400×

Клетки АПУД-серии выявляются у интактных животных диффузно во всех зонах тимусной дольки. При люминесцентно-гистохимическом исследовании – это крупные, яркие с беловато-желтым свечением клетки и заметными гранулами в цитоплазме. Обработка парафиновых срезов на синаптофизин подтверждает наличие таких клеток во всех зонах, особенно в кортикомедуллярной. Использование иммуномодулятора приводит к увеличению количества

клеток АПУД-серии и к повышению экспрессии в них синаптофизина.

Выводы

1. Применение полиоксидония вызывает изменение морфофункционального состояния тимуса: во всех изучаемых клетках уровень гистамина снижается, особенно в лимфоцитах коркового и мозгового вещества, содержание серотонина и катехоламинов в люминесцирующих грануляр-

ных клетках увеличивается в 1,2–1,7 раз, а в тимоцитах практически не изменяется. Отмечается увеличение тучных клеток с β_1 - и β_2 -метахромазией почти в 2 раза, на долю дегранулированных форм приходится 63 % всех клеток. Выявляется увеличение площади тимусной дольки в 1,43 раза, толщины коркового вещества на 19 %, площади мозгового вещества на 36 %, корково-мозгового индекса в 1,5 раза при неизменной массе органа.

2. Большая часть клеток внутренней кортикальной, субкапсулярной зон (50–60 %), а также среди тимоцитов мозгового вещества у интактных животных дают положительную реакцию на белок S-100 и экспрессируют антиген CD23, что позволяет отнести их к дендритным клеткам. До 20 % клеток этих зон являются CD68-позитивными и содержат фермент лизоцим, проявляя тем самым свойства истинных макрофагов. 20–25 % люминесцирующих гранулярных клеток экспрессируют синаптофизин и дают положительную реакцию на хромогранин А, т.е. относятся к клеткам АПУД-системы. Применение полиоксидония приводит к увеличению количества клеток во всех зонах тимуса, особенно во внутренней кортикальной зоне в основном за счет дендритных клеток и макрофагов. Количество CD3⁺-лимфоцитов в паренхиме тимуса возрастает на 15–25 %, а CD5⁺-лимфоцитов – на 5–10 %.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МД-2936.2011.7.

Список литературы

1. Варфоломеева М.И. Обоснование назначения и применения Полиоксидония в лечении и профилактике ОРВИ / М.И. Варфоломеева, Б.В. Пинегин // Трудный пациент. – 2011. – №6. – С. 26–35.
2. Ильин Д.А. Актуальные аспекты изучения тучных клеток in vitro // Современный мир, природа и человек. – Томск, 2011. – №1, Т.2 – С. 56–70.
3. Исамухамедова М.Т. Сочетание применения виферона и полиоксидония у детей раннего возраста с внутриутробными инфекциями / М.Т. Исамухамедова, М.К. Шарипова // Цитокины и воспаление. – 2010. – №9. – С. 39–44.
4. Кветной И.М. Соотношение апоптоза и пролиферации клеток тимуса при его инволюции / И.М. Кветной, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – №4. – С. 442–444.

5. Лапина Т.И. Гистологическая картина тимуса кролика, стимулированного полиоксидонием / Т.И. Лапина, Н.А. Антонова // Естествознание и гуманизм. – Ставрополь, 2006. – Т.3, Вып. 1. – С. 78–79.

6. Нурмуханбетов А.Н. Влияние МХФ-2 на структурно-клеточную организацию тимуса опытных крыс с асептическим воспалением / А.Н. Нурмуханбетов, Т.П. Ударцева, М.К. Балабекова // Вестник КРСУ. – 2011. – №7, Т. 11. – С. 102–106.

7. Сибилева Е.Н. Синдром увеличения вилочковой железы у детей раннего возраста // Педиатрия и неонатология. – 2008. – С. 36–47.

8. Труфакин В.А. Проблемы гистофизиологии иммунной системы / В.А. Труфакин, А.В. Шурлыгина // Иммунология. – 2002. – №1. – С. 4–8.

9. Хаитов Р.М. Иммунология. – М.: Изд-во «Медицина», 2006. – 320 с.

References

1. Vatphalomeeva M.I., Pinegin B.V. Trudnii pacient – Difficult patient, 2011, no. 6, pp. 26–35.
2. Iljin D.A. Sovremennii mir, priroda i chelovek – The modern world, nature and man, Tomsk, 2011, no. 1, T.2, pp. 56–70.
3. Isamuhamedova M.T., Sharipova M.K. Citokini i vospalenie – Cytokines and inflammation, 2010, no. 9, pp. 39–44.
4. Kvetnoi I.M., Polyakova V.O., Linkova N.S. Byulleten experimentalnoi biologii i medicini – Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2011, no. 4, pp. 442–444.
5. Lapina T.I., Antonova N.A. Estestvoznaniye i gumanizm – Natural science and humanism, Stavropol, 2006, T.3, vyp. 1, pp. 78–79.
6. Nurmuhambetov A.N., Udarceva T.P., Balabekova M.K. Vestnik KRSU – Vestnik of KRSU, 2011, no. 7, T.11, pp. 102–106.
7. Sibileva E.N. Pediatriya i neonatologiya – Pediatrics and neonatology, 2008, pp. 36–47.
8. Trufakin V.A., Shurligina A.V. Immunologiya – Immunology, 2002, no. 1, pp. 4–8.
9. Haitov R.M. Immunologiya [Immunology]. Moscow, Medicina, 2006, 320 p.

Рецензенты:

Ямщиков Н.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г. Самара;

Челышев Ю.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Казань.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 591.147.6:537.311.6:577.121

ВОЗРАСТНАЯ ИНВЕРСИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ИМПЕДАНСА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЯХ МЕТАБОЛИЗМА

Торнуйев Ю.В., Колдышева Е.В., Балахнин С.М., Глухов Б.М.,
Жук А.Г., Исаенко В.И., Сенчукова С.Р.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии»
Сибирского отделения РАМН, Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru

Проведено электрофизиологическое и морфометрическое исследование надпочечников крыс линий Вистар и OXYS в возрасте 5, 14, 26 мес. Целью исследования было выявление сопряженности электрофизиологических параметров и морфологических изменений, связанных с возрастной реорганизацией железы. Показано, что наибольшие изменения коэффициента поляризации, а также сопротивления на высокой и низкой частотах выявлялись в позднем онтогенезе (26 мес.), что соответствовало изменениям соотношений линейных размеров зон и ширины коры в целом. Полученные данные свидетельствуют о схожести структурной реорганизации надпочечников при естественном и преждевременном старении (линия OXYS) с изменениями у животных, подвергнутых длительному стрессогенному воздействию. Изменение электрофизиологических показателей, в частности значительный рост сопротивления ткани надпочечника токам высокой и низкой частот, сопряжен с изменениями линейных размеров зон коры надпочечника и связывается нами со снижением количества проводящей жидкости в ткани и изменением градиента потенциала на клеточных мембранах.

Ключевые слова: инверсия электрического импеданса, надпочечник, возрастная реорганизация, крысы Вистар и OXYS, морфометрия

INVERSION OF INDICATORS OF THE ELECTRIC IMPEDANCE ADRENAL GLANDS OF RATS WITH GENETICALLY DETERMINED METABOLISM DISORDERS

Tornuyev Y.V., Koldysheva E.V., Balakhnin S.M., Glukhov B.M., Zhuk A.G.,
Isaenko V.I., Senchukova S.R.

Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,
Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru

The results of electrophysiological and morphometric study of adrenal glands of Wistar and OXYS rats at age of 5, 14, and 26 months are presented. The aim of this study was to identify the complementarity of the electrophysiological parameters and morphological changes, connected with the age reorganization of adrenal gland. It is shown, that the most considerable changes of the polarization coefficient, as well as resistance to high and low frequencies was revealed in late ontogenesis (26 months) and corresponded with changes in the ratios of the linear sizes of the cortex zones. The data obtained indicate the similarity of the structural reorganization of the adrenal glands when the natural and premature ageing occurred and such changes are observed in animals subjected to long-term stress impact. Changes of electrophysiological indicators, in particular the significant growth of adrenal cortex resistance at high and low frequencies, were correlated with the changes of linear sizes of the adrenal cortex zones. We connect these changes with the reduction of the conductive fluid in the tissues, and a change in the gradient of potential on cell membranes.

Keywords: inversion of electric impedance, adrenal glands, age reorganization, Wistar and OXYS rats, morphometry

Патофизиологическая картина процесса старения разнообразна и подразумевает развитие различного рода дисфункций, затрагивающих все системы организма. Удовлетворительное решение проблемы «благополучного старения» требует осуществления системного подхода к изучению согласованности физиологических процессов в организме [5] и привлечения дополнительных количественных методов исследования. В этом аспекте представляет интерес анализ сопряженности электрофизиологических параметров и морфофункциональных изменений в надпочечниках, обеспечивающих необходимое взаимодействие систем организма в процессе старения, при эндо- и экзогенных воздействиях [3].

Результаты проведенных ранее исследований свидетельствуют о возможности по показателям электропроводности тела человека оценивать его композиционные характеристики, такие как процентное содержание воды в тканях, жировой и клеточной масс и т.д. [4, 11, 12]. Однако оригинальные работы, использующие методы электроимпедансометрии для диагностики морфофункциональных изменений на органном и тканевом уровне, крайне немногочисленны, а данные об электрофизиологических свойствах надпочечника отсутствуют полностью. Согласно нашим результатам [8], изменения электропроводности надпочечника зачастую опережают таковые для других органов. Необходимо проведение

дальнейшего анализа формирования электрического импеданса железы, его частотной дисперсии и сопоставления с количественной характеристикой их возрастной реорганизации.

Цель исследования – сравнительный анализ электропроводящих свойств и количественных данных реорганизации коры надпочечников крыс в онтогенезе.

Материал и методы исследования

В экспериментах использованы крысы-самцы линии OXYS ($n = 19$) в возрасте 5, 14 и 26 мес., характеризующиеся значительным снижением продолжительности жизни и ранним развитием болезней «пожилого возраста», связанных с окислительным стрессом. Линия OXYS (первоначально W/SSM) была получена в Институте цитологии и генетики СО РАН путем отбора и инбридинга крыс линии Вистар, чувствительных к галактоземическому действию галактозы [1–3]. Контролем служили одновозрастные крысы-самцы линии Вистар ($n = 12$). Все животные содержались на стандартном рационе при свободном доступе к воде. Эксперименты были проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986) и одобрены биотическим комитетом ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН. Животных выводили из эксперимента путем декапитации в утренние часы.

Оценку электрических параметров проводили с помощью стандартного электроимпедансометра «Тонус-2» [6, 7]. Активный измерительный электрод был выполнен в виде иглы, диаметром 60 мкм, индифферентный – диск, площадью 100 мм². Такое соотношение параметров электродов позволило оценить электрическое сопротивление участка ткани, непосредственно прилежащего к активному электроду (т.е. коры надпочечника), и исключить влияние пассивного температурного дрейфа показателей [6, 8]. Электрическое сопротивление (Ом) фиксированного надпочечника измеряли на низкой ($R_{нч}$, 10 кГц) и высокой ($R_{вч}$, 1 мГц) частотах. По результатам измерений рассчитывали коэффициент поляризации $K_p = R_{нч}/R_{вч}$.

Для светоптического исследования надпочечники фиксировали в 4%-м растворе парформальдегида с постфиксацией в 1%-м растворе осмия, образцы заливали в смесь эпон и аралдита. Полутонкие срезы окрашивали 1% раствором азура II. Морфометрическое исследование проводили методом компьютерной морфометрии в универсальном микроскопе «Leica DM 4000B» (Германия). Измеряли ширину каждой зоны и камбиального слоя коры надпочечника (не менее 15 измерений), затем производился расчет суммарной величины ширины коры и вычисление соотношений ширины зон коры надпочечника в ряду клубочковая : пучковая : сетчатая, где за единицу принималась суммарная ширина клубочковой зоны и камбиального слоя.

Статистическая обработка результатов включала нахождение средних значений, дисперсии и ошибки средних. Значимость различий между показателями по группам оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Показатели электропроводности и поляризуемости (K_p) ткани надпочечников крыс обеих групп в 5-месячном возрасте достоверно не различались. К 14 мес. электрическое сопротивление надпочечников в обеих группах на высоких и низких частотах соизмеримо возрастало (на 40%), причем изменения показателей у крыс OXYS превышали контрольные на 5–10%. Тем не менее по сравнению с 5-месячными животными изменение соотношения показателей электропроводности было незначительным. Наиболее существенные различия между линиями зафиксированы у животных к 26 мес., когда наблюдали инверсию соотношения импедансов – изменения у крыс Вистар превышали таковые у крыс OXYS, соотношение импедансов составляло 50–60%, ($p < 0,05$). Увеличение с возрастом у крыс OXYS и Вистар K_p соответственно на 28 и 37% ($p < 0,05$) и низкочастотного сопротивления (в 2–4 раза по сравнению с 5 мес.), как правило, связывается с потерей тканями проводящей жидкости и увеличением количества свободных радикалов [6]. Тем не менее K_p надпочечника крыс OXYS в позднем онтогенезе был меньше контрольных значений (на 10%), начиная с 14 мес. Это свидетельствует о сравнительно более низкой поляризационной емкости и снижении резистентности крыс OXYS к эндо- и экзогенным воздействиям [2, 7], а также наличии у этих животных склонности к развитию различного рода дисфункций, что позволяет утверждать информативность K_p не только на организменном, но и на органном уровне.

Электрический импеданс тканей, в том числе надпочечника, на низких частотах определяется особенностями структуры органа, уровнем кровоснабжения и содержанием проводящей жидкости в межклеточных пространствах, «плотностью упаковки» структурных элементов в единице объема, тогда как электропроводность на высокой частоте и соответственно ее дисперсия в исследуемом диапазоне частот – поляризацией фосфолипидов мембран клеток в поле внешнего электрического тока и дипольной поляризацией структурных образований в цитоплазме [6, 10–12].

По данным морфометрического исследования, старение животных сопровождалось уменьшением ширины коры надпочечника у крыс обеих линий: у Вистар – на 14 и 6%, у крыс OXYS – на 15 и 23% ($p < 0,05$), соответственно в возрасте 14 и 26 мес. по сравнению с 5-месячными особями (таблица).

Электрофизиологические и морфометрические показатели коры надпочечников крыс линий Вистар и OXYS в процессе онтогенеза ($M \pm m$)

Показатель	Возраст животных					
	5 мес		14 мес		26 мес	
	Вистар	OXYS	Вистар	OXYS	Вистар	OXYS
Ширина коры, мкм	751,43 ± 23,77	841,40 ± 59,25	645,51 ± 0,95*	715,02 ± 64,23	705,87 ± 18,07	645,30 ± 55,79 [±]
Ширина клубочковой зоны, мкм	64,28 ± 8,21	57,54 ± 5,07	84,32 ± 21,04	64,05 ± 8,37	57,15 ± 4,65	57,45 ± 7,70
Ширина камбиального слоя, мкм	18,61 ± 1,50	11,98 ± 1,08 [#]	18,63 ± 5,26	13,47 ± 1,52	6,97 ± 1,79**	13,48 ± 1,72 [#]
Ширина пучковой зоны, мкм	432,59 ± 12,07	555,27 ± 51,85	341,24 ± 2,06**	407,62 ± 38,50	442,57 ± 13,54	386,29 ± 37,50 [±]
Ширина сетчатой зоны, мкм	235,96 ± 16,85	216,62 ± 19,72	201,30 ± 23,29	229,89 ± 19,42	199,17 ± 18,07	188,08 ± 23,98
Сопротивление на высокой частоте, Ом	814,4 ± 75	916,4 ± 85	1090,6 ± 92	1438,2 ± 157 ^{± ±}	2236,3 ± 55**	1351,4 ± 214 ^{± #}
Сопротивление на низкой частоте, Ом	1236,3 ± 214	1400,6 ± 95	1829,3 ± 142	2160,5 ± 185 ^{± ±#}	4813,0 ± 15**	2650,5 ± 310 ^{± ±##}
Коэффициент поляризации	1,56 ± 0,08	1,55 ± 0,08	1,65 ± 0,07	1,50 ± 0,08	2,15 ± 0,02*	1,96 ± 0,05 ^{±#}

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, по сравнению с 5 мес Вистар; [±] – $p < 0,05$, ^{± ±} – $p < 0,01$, по сравнению с 5 мес OXYS; [#] – $p < 0,05$, ^{##} – $p < 0,01$ по сравнению с Вистар аналогичного возраста.

У крыс Вистар и OXYS в одни и те же периоды онтогенеза значительно различалась ширина отдельных зон коры надпочечника и их размерное соотношение. У 5-месячных крыс OXYS была уменьшена ширина клубочковой зоны (на 11%), камбиального слоя (на 36%, $p < 0,05$) и сетчатой зоны (на 8%), но увеличена ширина пучковой зоны (на 28%) при сравнении с одно-возрастными крысами Вистар. В возрасте 14 мес. у крыс Вистар и OXYS отмечено увеличение ширины клубочковой зоны (на 31 и 11%) и уменьшение ширины пучковой зоны (на 21 и 27%) по сравнению с 5-месячными особями. При этом у крыс Вистар происходило снижение ширины сетчатой зоны (на 15%), а у крыс OXYS – небольшое увеличение этого показателя (на 6%) по сравнению с 5-месячными особями. В возрасте 26 мес у крыс Вистар происходило уменьшение ширины клубочковой зоны (на 11%), камбиального слоя (на 63%, $p < 0,01$) и сетчатой зоны (на 15%), ширина пучковой зоны восстанавливалась до значений 5-месячных животных. У крыс OXYS в возрасте 26 мес. ширина клубочковой зоны была такой же, как и в 5 мес., вероятно, в результате сохранения пролиферативной активности клеток камбиального слоя, ширина которого была увеличена (на 13%) по сравнению с 5-месячными особями. Происходило дальнейшее снижение ширины пучковой и сетчатой зон (соответственно на 31 и 13% при сравнении с 5-месячным возрастом).

Изменения ширины зон обусловили следующие соотношения их ширины в ряду «клубочковая : пучковая : сетчатая» у крыс

обеих линий: у крыс Вистар и OXYS в возрасте 5 мес. – соответственно 1:5:3 и 1:8:3, в возрасте 14 мес. – соответственно 1:3:2 и 1:5:3, в возрасте 26 мес. – 1:7:3 и 1:5:3. Следует отметить, что у крыс OXYS в возрасте 5 мес. и у крыс Вистар в возрасте 26 мес. это соотношение было подобно наблюдаемому у крыс Вистар, подвергнутых многократному воздействию стрессогенного фактора [3]. Эти данные свидетельствуют о том, что в процессе естественного старения (крысы Вистар) происходит похожая структурно-функциональная реорганизация коры надпочечника, как и при продолжительном действии стрессогенных факторов. При преждевременном старении (крысы OXYS) подобная реорганизация коры надпочечников происходит уже в молодом возрасте (5 мес.).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что изменения импеданса надпочечника зависят от колебаний размерных характеристик коры, в основном клубочковой и пучковой зон. Относительные изменения линейных размеров клубочковой зоны в позднем онтогенезе приводят не к росту, а к снижению сопротивления надпочечника. Инверсия (относительно 5-месячного возраста) и отсутствие различий в размерах клубочковой зоны у животных обеих линий, а также разнонаправленность изменений линейных размеров клубочковой и пучковой зон коры позволяют нам предположить наличие более тонких, внутриклеточных изменений особенно у крыс OXYS.

Сопротивление надпочечника токам высоких частот свидетельствует о наличии

структурных изменений в самой клетке: увеличении концентрации или появлении в цитоплазме или на мембранах адренокортикоцитов структурных образований с другим временем релаксации [6]. С возрастом в тканях увеличивается количество полярных и неполярных молекул различного размера, включая продукты свободнорадикального окисления, снижается антиоксидантная активность липидов, изменяется структура и функции клеточных и внутриклеточных мембран, степень гидрофильности и вязкости липидов [1, 2, 9]. Потеря жидкости тканями надпочечника в процессе старения организма приводит к увеличению вязкости цитоплазмы адренокортикоцитов, что и способствует росту ее электрического сопротивления, одновременно, препятствуя поляризации липидов мембран и других внутриклеточных образований, снижает его. Это малозаметно в ранние сроки развития животных, однако в позднем онтогенезе влияние таких процессов более значительно. В результате сопротивление коры у крыс экспериментальной группы может стать ниже контрольных значений и даже привести к инверсии показателей.

Список литературы

1. Бакарев М.А., Непомнящих Л.М. Структурные проявления нарушения митохондриальной функции в скелетных мышцах у преждевременно стареющих крыс OXYS // Бюл. экспер. биол. – 2004. – № 12. – С. 674–679.
2. Возрастные изменения окисленности белков и липидов в печени преждевременно стареющих крыс OXYS / Н.Г. Колосова, А.Ю. Гришанова, Ж.С. Крысанова, Т.В. Зуева, О.И. Синицина // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 73–78.
3. Надпочечники: Ультраструктурная реорганизация при экстремальных воздействиях и старении / Е.Л. Лушников, Л.М. Непомнящих, Е.В. Колдышева, О.П. Молодых. – М.: Изд-во РАМН, 2009. – 336 с.
4. Биоимпедансный анализ состава тела человека / Д.В. Николаев, А.В. Смирнов, И.Г. Бобринская, С.Г. Руднев. – М.: Наука, 2009. – 392 с.
5. Судаков К.В. Адаптивный результат в формировании функциональных систем организма // Успехи современной биологии – 2004. – № 5. – С. 568–471.
6. Электрический импеданс биотканей / Ю.В. Торнueв, А.П. Хачатрян, Р.Г. Хачатрян, В.П. Махнев, А.С. Осенний. – М.: Изд-во ВЗПИ. – 1990. – 155 с.
7. Торнueв Ю.В., Непомнящих Л.М., Колдышева Е.В. Воздействие низкохолитовой диеты и этанола на электропроводящие свойства тканей мышечной СВА // Бюл. экспер. биол. – 2005. – Т. 140, № 11. – С. 515–518.
8. Торнueв Ю.В., Колдышева Е.В. Возрастные изменения электропроводности надпочечников крыс OXYS // Бюл. СО РАМН. – 2008. – № 6. – С. 27–30.
9. Bernardi P. Mitochondria in muscle cell death // Ital. J. Newrol. Sci. – 1999. – Vol. 20. – P. 395–400.
10. Castro R., Barlow-Walden L., Woodson T., Keresman J.D., Zhang G.H., Martine J.R. Ion transport in an immortalized Rat Submandibular Cell line SMG – C6 // Pros. Soc. Exper. Biol. Med. – 2000. – Vol. 225. – P. 29–48.
11. Dittmar V., Reber H. New equations for estimating body cell mass from bioimpedance parallel models in healthy elder Germans // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol. – 2001. – Vol. 281, № 5. – P. 1005–1014.
12. Schoeller D. Bioelectrical impedance analysis. What does it measure? // Annals of the New York Academy Sciences. – 2000. – Vol. 904. – P. 159–162.

References

1. Bakarev M.A., Nepomnyaschykh L.M. *Bulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 2004. no. 12. pp. 674–679.
2. Kolosova N.G., Grishanova A.Yu., Krysanova Zh.S., Zueva T.V., Sinitsina O.I. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2004. T. 50, no. 1. pp. 73–78.
3. Lushnikova E.L., Nepomnyaschykh L.M., Koldysheva E.V., Molodykh O.P. *Nadpochekniki: Ultrasrukturnaya reorganizatsiya pri ekstremal'nykh vozdeistviyakh i starenii* [Adrenal glands: Ultrastructural reorganization under extreme impacts and during aging]. Moscow: Publishing House RAMS, 2009. 336 p.
4. Nikolaev D.V., Smirnov A.V., Bobrinskaya I.G., Rudnev S.G. *Bioimpedansnyi analiz sostava tela cheloveka* [Bioimpedance analysis of human body]. M.: Nauka. 2009. 392 p.
5. Sudakov K.V. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2004. no. 5. pp. 568–471.
6. Tornuev Yu.V., Khachatryan A.P., Khachatryan R.G., Makhnev V.P., Osenniy A.S. *Elektricheskiy impedans biotkaney* [Electrical impedance of biotissues]. M.: Izd-vo VZPI. 1990. 155 p.
7. Tornuev Yu.V., L.M., Koldysheva E.V. *Bulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 2005. V. 140, no. 11. pp. 515–518.
8. Tornuev Yu.V., Nepomnyaschykh L.M., Koldysheva E.V. *Bulleten SO RAMN*. 2008. no. 6. pp. 27–30.
9. Bernardi P. *Ital. J. Newrol. Sci*. 1999. Vol. 20. pp. 395–400.
10. Castro R., Barlow-Walden L., Woodson T., Keresman J.D., Zhang G.H., Martine J.R. *Pros. Soc. Exper. Biol. Med*. 2000. Vol. 225. pp. 29–48.
11. Dittmar V., Reber H. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2001. Vol. 281 (5).pp. 1005–1014.
12. Schoeller D. *Annals of the New York Academy Sciences*. 2000. Vol. 904. pp. 159–162.

Рецензенты:

Меньщикова Е.Б., д.м.н., руководитель группы свободнорадикальных процессов ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Гуляева Л.Ф., д.б.н., профессор, ведущая лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза ФГБУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 11.04.2012.

УДК 615:28

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ ОСНОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

¹Шамова О.В., ¹Орлов Д.С., ¹Пашина Т.Ю., ¹Ямщикова Е.В., ²Орлов С.Б.,
¹Жаркова М.С., ³Гринчук Т.М., ³Арцыбашева И.В., ¹Юхнев В.А., ¹Кокряков В.Н.

¹ФГБУ НИИ Экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург;

²ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И.Разумовского Минздрава России», Саратов;

³Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, e-mail: oshamova@yandex.ru

Катионные антимикробные пептиды (АМП), содержащиеся в фагоцитах, являются одними из важнейших факторов системы врожденного иммунитета, участвующими в элиминации патогенных микроорганизмов. АМП имеют различные структуры и отличаются по механизмам антимикробного действия. В концентрациях, превышающих необходимые для инактивации бактерий, многие АМП проявляют токсическое действие и в отношении эукариотических клеток, в том числе опухолевых. Целью данной работы явилось сравнительное изучение особенностей цитотоксического действия структурно отличных антимикробных пептидов – мембраноактивного пептида протегрина 1 (PG1), обладающего конформацией β-спиральки и обогащенного пролином линейного бактенецина ChBac3.4 – в отношении опухолевых клеток человека *in vitro*. Изучение динамики токсического действия пептидов на клетки эритромиелонидной лейкемии человека K-562 и гистиоцитарной лимфомы человека U-937 показало, что гибель клеток, обработанных PG1, происходит в течение короткого промежутка времени (около 15 мин); эффекты ChBac3.4 на клетки-мишени значительно более отсрочены. Установлено, что токсическое действие пептида ChBac3.4 сопровождается инициацией процесса апоптоза в клетках K-562 и U-937, обработанных этим пептидом; в то время как клетки обеих линий погибают преимущественно по пути некроза после воздействия на них протегрина. Полученные данные предоставляют информацию, важную для понимания молекулярных механизмов функционирования эффекторных молекул врожденного иммунитета. Кроме того, результаты работы дают основание рассматривать АМП и как возможные прототипы для создания противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, протегрин, бактенецин

STUDY OF MOLECULAR MECHANISMS OF THE CYTOTOXIC ACTION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES TOWARDS TUMOR CELLS

¹Shamova O.V., ¹Orlov D.S., ¹Pazina T.Y., ¹Yamshikova E.V., ²Orlov S.B., ¹Zharkova M.S.,
³Grinchuk T.M., ³Artzibasheva I.V., ¹Yuhnev V.A., ¹Kokryakov V.N.

¹Institute of Experimental medicine RAMS, St-Petersburg, Russia;

²Saratov State Medical University, Saratov;

³Institute of Cytology RAS, St-Petersburg, e-mail: oshamova@yandex.ru

Cationic antimicrobial peptides (AMPs) of phagocytes are important factors of the innate immune system, participating in an elimination of pathogenic microorganisms. AMPs have varied structures and different mode of antimicrobial action. Upon concentration, exceeding those required for an inactivation of bacteria, most of AMPs exert a toxic action towards eukaryotic cells including tumor cells. The aim of our work was a comparative study of a mode of the cytotoxic action of structurally different antimicrobial peptides – membranoactive β-hairpin peptide protegrin 1 (PG1) and linear proline-rich batenecin ChBac3.4 – towards human tumor cells *in vitro*. Investigation of a dynamic of the toxic action of the peptides on human K-562 erythroleukemia cells and U-937 hystiocytic lymphoma cells showed that the cytotoxic action of PG1 occurred within a short period of time (about 15 min) while ChBac3.4 demonstrated significantly more delayed effects on the target cells viability. We revealed that the toxic action of ChBac3.4 is accompanied by the initiation of apoptosis in U-937, as well as in K-562 cells. Only features of a necrotic cell death have been observed in both cell lines after the treatment of the cells with PG1. The obtained data provide valuable information for understanding the molecular mechanisms of functioning of effector molecules of the innate immune system. In addition, the achieved results give a ground for considering AMPs as promising templates for a design of novel anticancer drugs.

Keywords: antimicrobial peptides, protegrin, batenecin

Катионные антимикробные пептиды (АМП), содержащиеся в фагоцитах, являются одними из важнейших факторов системы врожденного иммунитета, участвующими в элиминации патогенных микроорганизмов. К АМП относят пептиды, принадлежащие к различным структурным классам: молекулы некоторых пептидов имеют конформацию α-спирали, другие – содержат β-тяжи;

есть пептиды, представляющие собой полипролиновые спирали 2-го типа [1, 2]. Механизмы антимикробного действия структурно различных АМП отличаются. В целом, действие большинства АМП на бактерии сопровождается быстрым и необратимым повреждением мембран микроорганизмов, приводящим к их гибели. Таким действием обладает, например, пептид из

нейтрофилов свиньи – протегрин 1 (PG1), имеющий выраженное мембранолитическое действие и проявляющий токсические эффекты, как в отношении бактерий, так и клеток млекопитающих [6]. Однако некоторые АМП инактивируют бактерии, нарушая в основном внутриклеточные процессы. К таким пептидам принадлежат обогащенные пролином линейные АМП семейства бактенецинов [5]. Большинство бактенецинов повреждают бактериальные мембраны, только когда используются в высоких концентрациях; эти АМП обычно не токсичны для клеток млекопитающих [9]. Однако нами был обнаружен обогащенный пролином пептид – бактенецин ChBac3.4 из лейкоцитов козы, имеющий относительно более выраженную активность в отношении бактериальных мембран (хотя и значительно уступающую активность протегрина 1), а также проявляющий существенную токсичность в отношении опухолевых клеток [13]. Целью данной работы явилось сравнительное изучение особенностей токсического действия структурно отличных антимикробных пептидов – мембраноактивного пептида протегрина 1, обладающего конформацией β -шпильки, и менее мембраноактивного обогащенного пролином линейного бактенецина ChBac3.4 – в отношении опухолевых клеток человека *in vitro*.

Материалы и методики исследования

В работе использовали химически синтезированные пептиды. Исследовали их цитотоксическое действие в отношении клеток эритромиелоидной лейкемии человека K-562 и клеток гистиоцитарной лимфомы человека U-937. Клетки культивировали в среде RPMI-1640, дополненной глутамином, гентамицином и 10% эмбриональной телячьей сывороткой. Для оценки жизнеспособности клеток после их обработки пептидами в качестве маркера клеточной гибели использовали краситель трипановый синий. К суспензии клеток добавляли 0,4%-й раствор трипанового синего и подсчитывали в камере Горяева под микроскопом количество клеток, включивших краситель (количество погибших клеток) и не включивших краситель (количество живых клеток).

Активность каспазы 3 определяли колориметрическим методом по скорости расщепления синтетического субстрата Ac-DEVD-pNAc помощью набора «Caspase 3 AssayKit, Colorimetric» («Sigma», США). Клетки (1 млн/мл) инкубировали с разными концентрациями пептидов в течение 3 часов при 37°C; объем проб составлял 150 мкл, использовали по три параллели. Контролями служили пробы, в которых клетки инкубировали в тех же условиях, но без добавления пептидов. По окончании инкубации клетки центрифугировали 10 мин при 300 g, к полученным осадкам добавляли лизирующий раствор и оставляли их на ледяной бане на 30 мин. Далее пробы центрифугировали 20 мин при 10000 g при 4°C. Супернатанты отбирали и использовали для приготовления проб

в соответствии с рекомендациями изготовителей набора «Caspase 3 AssayKit, Colorimetric». Полученные пробы в 96-луночных планшетах инкубировали при 37°C в течение 3 часов, затем оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Spectra Max 250 при 405 нм. Активность каспазы представляли в процентах от контроля (клетки без пептида).

Для оценки доли клеток, находящихся на ранней стадии апоптоза, использовали набор «Annexin V-Cy3 Apoptosis Detection kit» (Sigma, США), включающий Аннексин V, конъюгированный с флуорохромом Cy3.18 и 6-карбоксифлуоресцеин диацетат (6-CFDA). Клетки (1 млн/мл) в инкубировали с разными концентрациями пептида в течение 2 часов при 37°C, объем проб составлял 150 мкл. Контролями служили пробы, в которых клетки инкубировали в тех же условиях, но без добавления пептидов. По окончании инкубации клетки отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ), затем ресуспендировали их в рабочем растворе буфера для окрашивания до концентрации $1 \cdot 10^6$ клеток/мл. Далее клетки окрашивали смесью реактивов Аннексин V-Cy3 и карбоксифлуоресцеина диацетата, приготовленной в соответствии с рекомендациями производителей набора в течение 10 мин. Затем клетки отмывали ФСБ, осаждали и подсчитывали под люминисцентным микроскопом количество клеток, включивших тот или иной флуоресцентный краситель. Клетки, в которых наблюдалась только зеленая флуоресценция, рассматривались, как живые; клетки, в которых наблюдалась только красная – как погибшие по пути некроза, а клетки, в которых наблюдалась, как красная, так и зеленая флуоресценция – как находящиеся на ранней стадии апоптоза. Анализировали несколько полей зрения, подсчитывая не менее 500 клеток. Результаты выражали в процентах от общего количества клеток и представляли, как средние арифметические по данным трех экспериментов $\pm$ среднеквадратичное отклонение.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6. Графики строили в программе SigmaPlot 11.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее было показано, что антимикробные пептиды бактенецин ChBac3.4 и протегрин 1 (PG1) оказывают токсическое действие на опухолевые клетки [13]. Целью данной работы явилось изучение механизмов этого действия. Чтобы оценить, насколько быстро реализуются токсические эффекты PG1 и ChBac3.4 на клетки-мишени, изучали динамику их цитотоксического действия в отношении клеток U-937 (клетки гистиоцитарной лимфомы человека) и K-562 (клетки эритромиелоидной лейкемии человека), инкубируя клетки с пептидом в течение 15, 30, 60, 120 и 180 мин и оценивая количество живых и мертвых клеток с использованием витального красителя трипанового синего.

На рис. 1 (А, Б) представлены данные, полученные после инкубации клеток с PG1.

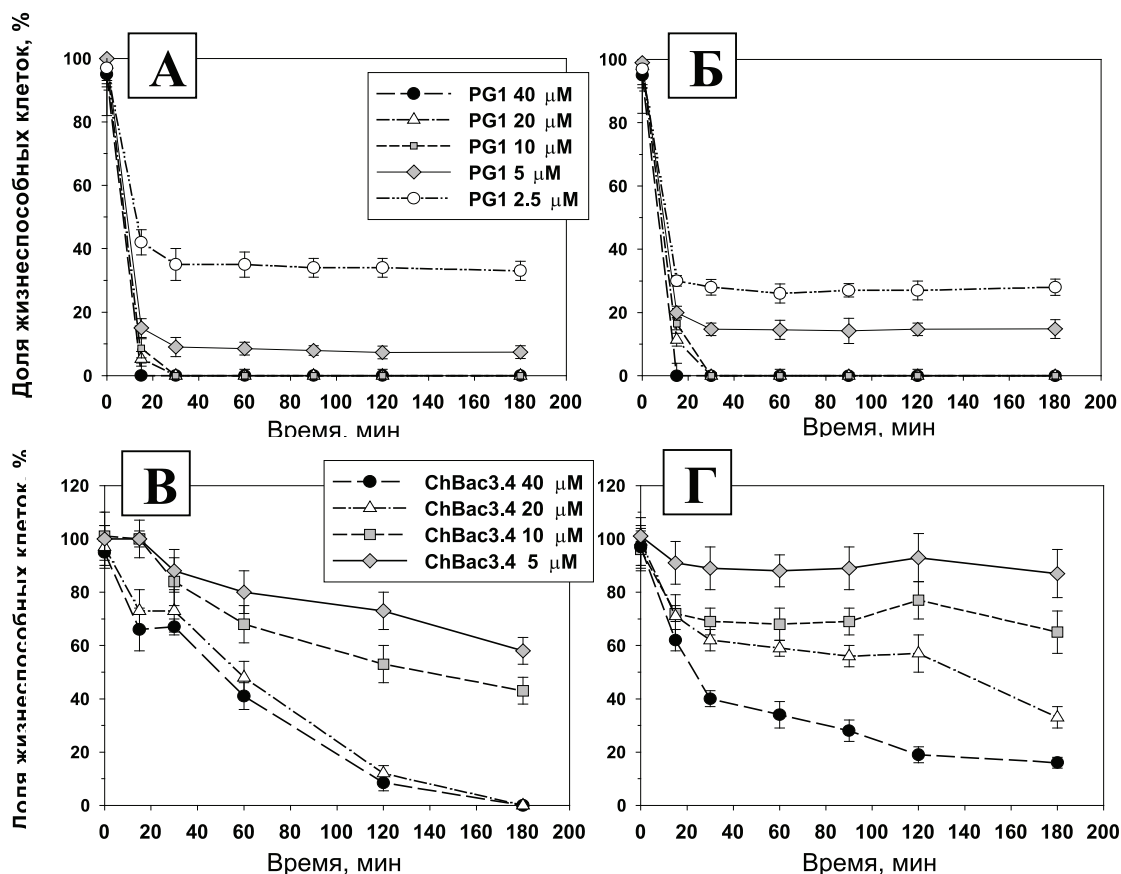


Рис. 1. Динамика токсического действия пептидов PG1 (А, Б) и ChBac3.4 (Б, Г), применяемых в разных концентрациях, в отношении клеток К-562 (А, Б) и U-937 (Б, Г) в культуре (окраска клеток витальным красителем трипановым синим). По оси Y – доля жизнеспособных клеток, в процентах (за 100 % принимали значения для контрольных проб, не содержащих пептидов и инкубировавшихся в тех же условиях, что и опытные пробы, и в течение того же промежутка времени); по оси X – время инкубации клеток при 37 °С, в минутах (представлены средние арифметические $\pm$ среднеквадратичное отклонение; $n = 4-6$)

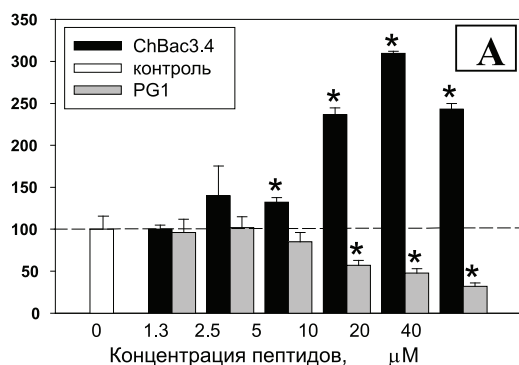
Как видно из рис.1, действие пептида осуществляется за короткий промежуток времени – уже через 15 минут наблюдается 90–100% гибель клеток К-562 (рис. 1 А) и U-937 (рис. 1 Б) при обработке их протегрином в концентрациях 10–40 мкМ. При добавлении к клеткам U-937 бактенецина ChBac3.4 в концентрации 40 мкМ через 30 мин наблюдается снижение количества жизнеспособных клеток на 60%, однако далее доля живых клеток изменяется менее заметно и через 3 часа полного подавления их жизнеспособности не показано (рис. 1 Г). В концентрациях 20 и 10 мкМ токсическое действие пептида более отсрочено, и выраженный эффект наблюдается лишь через 3 часа. В отношении клеток К-562 характер токсического действия пептида, в целом, сходный, хотя в концентрациях 40 и 20 мкМ его действие на клетки этой линии более эффективно, чем в отношении клеток U-937: он вызывает резкое снижение коли-

чества жизнеспособных клеток К-562 и через 2 часа остается лишь около 10% живых клеток, через 3 часа они практически полностью погибают (рис. 1. В). В более низких концентрациях действие пептида менее выражено.

Чтобы выяснить, вызывают ли пептиды клеточную гибель по пути некроза, или в некоторых случаях действие пептидов на клетки-мишени сопровождается инициацией апоптоза, использовали два подхода: оценивали активность каспазы 3 – ключевой эффекторной каспазы, участвующей в реализации процесса апоптоза; а также выявляли клетки, находящиеся на ранней стадии апоптоза с использованием набора реактивов, содержащего Аннексин V. После инкубации клеток U-937 в течение 3 часов в присутствии ChBac3.4 в концентрациях 40, 20, 10 и 5 мкМ активность каспазы 3 возрастает по сравнению с контрольными пробами ($p < 0,05$, t -критерий Стьюдента), причем

наиболее значительный подъем уровня активности наблюдается при использовании пептида в концентрации 20 мкМ (рис. 2 А).

В аналогичных экспериментах с клетками К-562 также наблюдается увеличение активности каспазы 3, хотя и в несколько меньшем диапазоне концентраций 10–40 мкМ (рис. 2 Б).



После обработки клеток PG1 увеличения активности каспазы 3 не наблюдается для обеих клеточных линий. Наоборот, активность фермента снижается по сравнению с активностью каспазы в клетках, инкубированных без пептида, что, вероятно, связано с их быстрой гибелью уже в первые минуты эксперимента.

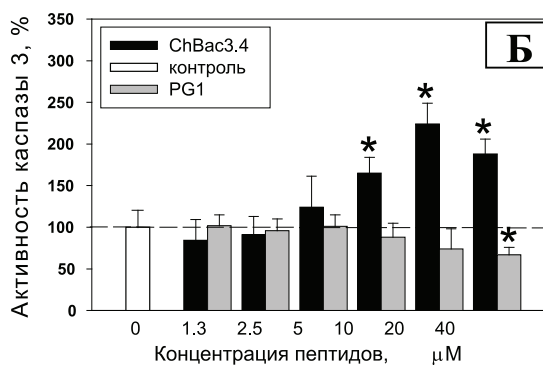


Рис. 2. Активность каспазы 3 клетках U-937 (А) и К-562 (Б) при обработке клеток протегрином 1 (PG1) или бактенецином ChBac3.4 в течение 3 часов при 37°C. За 100% принимали величину активности каспазы 3 в контроле – клетках, инкубированных в тех же условиях, но в отсутствие пептидов. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем (t -критерий Стьюдента, $n = 6$)

Таким образом, действие бактенецина ChBac3.4 на клетки гистиоцитарной лимфомы человека U-937 и клетки эритромиелоидной лейкемии человека К-562 сопровождается увеличением активности эффекторного звена процесса апоптоза каспазы 3, в то время как активность этого фермента не повышается при действии мембраноактивного пептида PG1.

Для выявления клеток, вступивших на путь апоптоза и количественной оценки их доли применяли также другой метод, предполагающий использование аннексина 5, несущего метку Су3, флуоресцирующую в красной области спектра. Аннексин 5 избирательно связывается с компонентом клеточной мембраны – фосфатидилсерин, который в нормальной клетке локализован с внутренней стороны бислоя мембраны, но при индукции апоптоза перемещается на наружную сторону, что и является одним из ранних признаков апоптоза и может быть детектировано с помощью аннексина 5. В состав набора входит также карбоксифлуоресцеин диацетат – нефлуоресцирующий реагент, который при попадании в живые клетки расщепляется с образованием флуоресцентного продукта – карбоксифлуоресцеина, флуоресцирующего в зеленой области спектра, что позволяет выявлять жизнеспособные клетки. Применение данного набора реактивов позволяет с помощью люминесцентной микроскопии оценить долю клеток, находящихся на ран-

ней стадии апоптоза и клетки, погибшие по пути некроза.

Клетки U-937 и К-562 инкубировали с разными концентрациями бактенецина ChBac3.4 или PG1 и проводили выявление клеток, находящихся на ранних стадиях апоптоза, и некротических клеток (рис. 3). Контролями служили клетки, инкубированные в тех же условиях, но без добавления пептидов. Установлено, что при инкубации клеток U-937 с бактенецином в концентрации 20 мкМ около 42% клеток находятся на ранней стадии апоптоза (рис. 3 А); около 18% клеток погибают путем некроза. Остальные клетки оказались неповрежденными. При обработке клеток К-562 этим пептидом в концентрации 20 и 10 мкМ, тоже выявлялось значительное количество клеток, находящихся на ранней стадии апоптоза (рис. 3 Б). При инкубации клеток U-937 и К-562 с протегрином 1 в концентрации 10, 5 и 2,5 мкМ обнаруживались лишь клетки, погибающие по пути некроза (рис. 3 А и Б).

Таким образом, для мембраноактивного протегрина в случае обеих клеточных линий наблюдается немедленная клеточная гибель по пути некроза как при использовании пептида в высокой концентрации (10 мкМ), так и в относительно низкой концентрации (2,5 мкМ). Цитотоксическое действие немембраноактивного бактенецина ChBac3.4 сопровождается инициацией апоптоза в исследуемых клетках линий U-937 и К-562.

К настоящему времени в литературе имеются лишь единичные работы, в которых описана способность антимикробных пептидов из нейтрофилов млекопитающих вызывать или модулировать процесс апоптоза клеток *in vitro*. Так, итальянскими учеными было показано, что линейный пептид из лейкоцитов быка ВМАР28 инициирует апоптоз опухолевых (K-562, U-937) и нормальных (активированных лимфоцитов человека) клеток, вызывая деполяризацию внутренней мембраны митохондрий вследствие открытия митохондриальных транзитных пор в ответ на действие пептида [11]. Есть данные о способности АМП человека LL-37 инициировать апоптоз в клетках эпителия дыхательных путей [3], в то время как

дефенсины человека вызывают клеточную гибель в основном не по пути апоптоза, а по пути некроза [4, 7]. С другой стороны, есть работы, в которых сообщается о способности пептида LL-37 человека, а также пептида PR-39 свиньи ингибировать процесс апоптоза нейтрофильных гранулоцитов *in vitro* [8, 10], хотя механизм наблюдаемых явлений пока ясен не до конца. Таким образом, к настоящему времени в литературе имеются противоречивые данные об апоптогенном действии АМП, по-видимому, противоречивость данных, в некоторой степени объясняется тем, что в различных работах пептиды применяли в разных диапазонах концентраций, а также с существенными различиями природы клеток-мишеней.

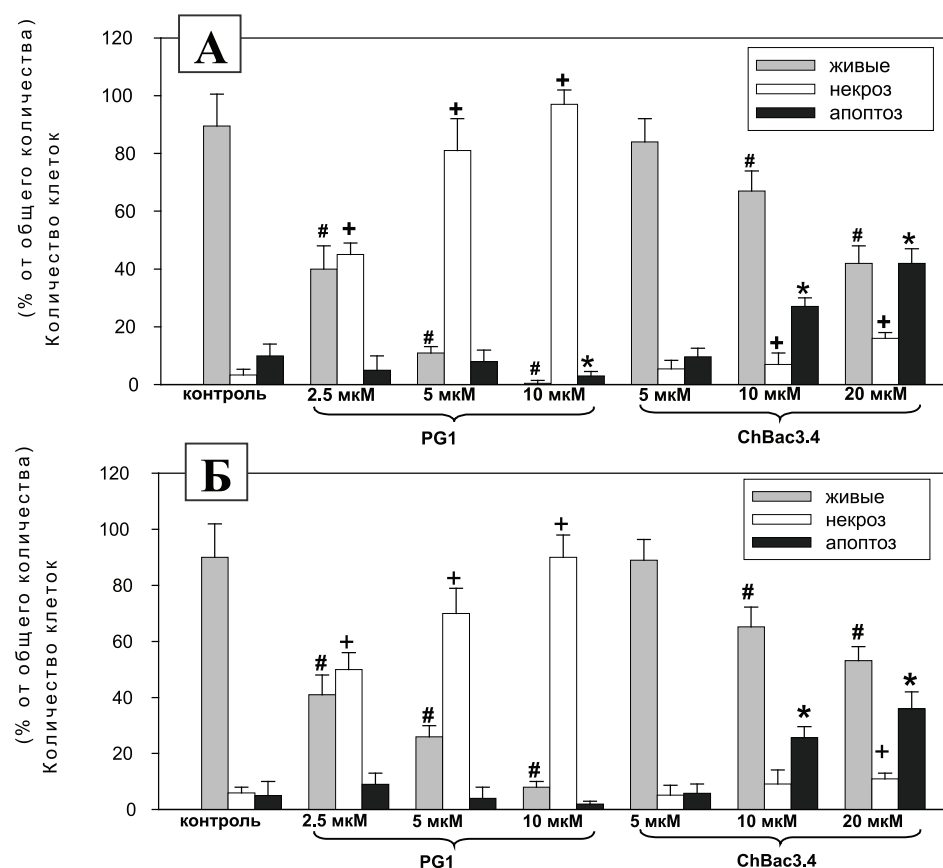


Рис. 3. Пути клеточной гибели после обработки культивируемых клеток U-937 (А) и K-562 (Б) протегрином I (PG1) или бактенецином ChBac3.4. По оси Y – количество живых клеток или клеток, гибнущих по пути некроза, или апоптоза, в процентах от общего количества клеток. Различия достоверны – по сравнению с числом живых клеток (#), клеток с признаками некроза (+) и апоптоза (*) в контрольных пробах, где клетки инкубировали в тех же условиях, но без добавления пептидов ($p < 0,05$, t -критерий Стьюдента, $n = 4$)

Заключение

Нами впервые показано, что токсическое действие пептида из семейства бактенецинов – ChBac3.4 – сопровождается инициацией процесса апоптоза в опухолевых клетках, обработанных этим пептидом. Полученные данные предоставляют инфор-

мацию, важную для понимания молекулярных механизмов функционирования эффекторных молекул врожденного иммунитета. Кроме того, результаты работы дают основание рассматривать АМП и как возможные прототипы для создания противоопухолевых препаратов.

Список литературы

1. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете. – 2006. – СПб.: Наука. – 261 с.
2. Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies // Edited by Guangshun Wang: *Advances in Molecular and Cellular Microbiology*. – 2010. – Series 18. – CABI: Oxfordshire. – UK. – 249 pp.
3. Barlow P.G., Li Y., Wilkinson T.S., Bowdish D.M., Lau Y.E., Cosseau C., Haslett C., Simpson A.J., Hancock R.E., Davidson D.J. // *J. Leukoc. Biol.* – 2006. – Vol. 80, № 3. – P. 509–520.
4. di Carlo E., Iezzi M., Pannellini T., Zaccardi F., Modesti A., Forni G., Musiani P. // *J. Hematother. Stem Cell Res.* – 2001. – Vol. 10, № 6. – P. 739–748.
5. Gennaro R., Zanetti M., Benincasa M., Podda E., Miani M. // *Curr. Pharm. Des.* – 2002. – № 8 – P. 763–778.
6. Kokryakov V.N., Harwig S.S.L., Panyutich E.A., Shevchenko A.A., Aleshina G. M., Shamova O.V., Korneva H.A., Lehrer R.I. // 1993. – *FEBS Lett.* – Vol. 327: 231–236.
7. Lichtenstein A.K. Mechanism of mammalian cell lysis mediated by peptide defensins // *J. Clin. Invest.* – 1991. – Vol. 88. – P. 93–100.
8. Nagaoka I., Tamura H., Hirata M. An antimicrobial cathelicidin peptide, human CAP18/LL-37, suppresses neutrophil apoptosis via the activation of formyl-peptide receptor-like 1 and P2X7 // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, № 5. – P. 3044–3052.
9. Podda E., Benincasa M., Pacor S., Micali F., Mattiuzzo M., Gennaro R., Scocchi M. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1760, № 11 – P. 1732–40.
10. Ramanathan B., Wu H., Ross C.R., Blecha F. PR-39, a porcine antimicrobial peptide, inhibits apoptosis: involvement of caspase-3 // *Dev. Comp. Immunol.* – 2004. – Vol. 28, № 2. – P. 163–169.
11. Risso A., Braidot E., Sordano M.C., Vianello A., Macri F., Skerlavaj B., Zanetti M., Gennaro R., Bernardi P. // *Mol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 22, № 6. – P. 1926–1935.
12. Scocchi M., Tossi A., Gennaro R. Proline-rich antimicrobial peptides: converging to a non-lytic mechanism of action // *Cell Mol. Life Sci.* – 2011. – Vol. 68, № 13. – P. 2317–30.
13. Shamova O., Orlov D., Stegemann C., Czihal P., Hoffmann R., Brogden K., Kolodkin N., Sakuta G., Tossi A., Sahl H., Kokryakov V., Lehrer R. // *Int. J. Pept. Res. Ther.* – 2009. – № 15. – P. 31–42.

References

1. Kokryakov V.N. *Ocherki o vrozhdennom immunitete* [Essay on the innate immunity], 2006, St-Petersburg, Nauka, 261 pp.
2. Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies [Edited by Guangshun Wang] *Advances in Molecular and Cellular Microbiology*, 2010, Series 18, CABI, Oxfordshire, UK, 249 pp.
3. Barlow P.G., Li Y., Wilkinson T.S., Bowdish D.M., Lau Y.E., Cosseau C., Haslett C., Simpson A.J., Hancock R.E., Davidson D.J., *J. Leukoc. Biol.*, 2006, Vol. 80, no. 3, pp. 509–520.
4. di Carlo E., Iezzi M., Pannellini T., Zaccardi F., Modesti A., Forni G., Musiani P., *J. Hematother. Stem Cell Res.*, 2001, Vol. 10, no. 6. – pp. 739–748.
5. Gennaro R., Zanetti M., Benincasa M., Podda E., Miani M., *Curr. Pharm. Des.*, 2002, no. 8, pp. 763–778.
6. Kokryakov V.N., Harwig S.S.L., Panyutich E.A., Shevchenko A.A., Aleshina G. M., Shamova O.V., Korneva H.A., Lehrer R.I., *FEBS Lett.*, 1993, Vol. 327, pp. 231–236.
7. Lichtenstein A.K., *J. Clin. Invest.*, 1991, Vol. 88, pp. 93–100.
8. Nagaoka I., Tamura H., Hirata M. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 176, no. 5, pp. 3044–3052.
9. Podda E., Benincasa M., Pacor S., Micali F., Mattiuzzo M., Gennaro R., Scocchi M., *Biochim. Biophys. Acta.*, 2006, Vol. 1760, no. 11, pp. 1732–40.
10. Ramanathan B., Wu H., Ross C.R., Blecha F., *Dev. Comp. Immunol.*, 2004, Vol. 28, no. 2, pp. 163–169.
11. Risso A., Braidot E., Sordano M.C., Vianello A., Macri F., Skerlavaj B., Zanetti M., Gennaro R., Bernardi P., *Mol. Cell Biol.*, 2002, Vol. 22, no. 6, pp. 1926–1935.
12. Scocchi M., Tossi A., Gennaro R., *Cell Mol Life Sci.*, 2011, Vol. 68, no. 13, pp. 2317–30.
13. Shamova O., Orlov D., Stegemann C., Czihal P., Hoffmann R., Brogden K., Kolodkin N., Sakuta G., Tossi A., Sahl H., Kokryakov V., Lehrer R., *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 2009, no. 15, pp. 31–42.

Рецензенты:

Янковский О.Ю., д.б.н., зав. отделом Медицинской биотехнологии ООО «Аллерготест», г. Санкт-Петербург;

Рыбакина Е.Г., д.б.н., зав. лабораторией нейроиммунотерапии, ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.

УДК 616.314.17-002.2-031.81-06:[616.329-002.2-02:616.33-008.17]-036-09:612.017.1]-07(045)

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА
НА ФОНЕ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ****Булкина Н.В., Осипова Ю.Л.***ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России,
Саратов, e-mail: meduniv@sgmu.ru*

Цель исследования изучить нейроэндокринные механизмы патогенеза заболеваний пародонта у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. Обследовано 80 больных пародонтитом на фоне ГЭРБ, группа сравнения 20 пациентов пародонтитом без заболеваний пищевода. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц. Установлено, что гингивит чаще встречается у больных катаральным эзофагитом. Пародонтит средней и тяжелой степени чаще встречается у больных эрозивным эзофагитом. Исследованы количественные показатели тучных клеток десны, продуцирующих серотонин, мелатонин и гистамин при заболеваниях пародонта и у групп сравнения. Полученные изменения морфометрических показателей и функциональной активности тучных клеток десны, определяют степень воспалительных и деструктивных поражений пародонта на фоне ГЭРБ, и коррелируют со степенью тяжести заболеваний пародонта.

Ключевые слова: пародонтит, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, серотонин, мелатонин, гистамин**CLINICAL AND IMMUNOMORPHOLOGICAL PECULIARITIES
OF THE COURSE OF CHRONIC PERIODONTITIS ON THE BACKGROUND
OF GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE****Bulkina N.V., Osipova J.L.***Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: meduniv@sgmu.ru*

The object of the research is to study neuroendocrine mechanisms of a pathogenesis of parodontium diseases in patients with gastroesophageal reflux disease. 80 patients with parodontitis on the background of the GERD were examined and a comparison group consisted of 20 patients having periodontitis without diseases of the esophagus. The control group consisted of 20 healthy persons. It was revealed that gingivitis occurred more often in patients with catarrhal esophagitis. Periodontitis of average and heavy degree of severity is more common in patients with erosive esophagitis. Quantitative indices of the gum mast cells producing serotonin, melatonin and histamine in diseases of parodontium and the comparison group were investigated. The received indices of morphometric changes and functional activity of gum mast cells determine the degree of the inflammatory and destructive periodontal lesions on the background of GERD and correlate with the degree of severity of periodontal disease.

Keywords: periodontitis, gastroesophageal reflux disease, serotonin, melatonin, histamine

По результатам эпидемиологических исследований, по частоте заболевания пародонта занимают второе место в клинике терапевтической стоматологии и часто сочетаются с расстройствами пищеварения, заболеваниями сердечно-сосудистой системы и обмена веществ [1, 5]. Одним из распространенных заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта стала гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь – ГЭРБ. Эпизоды пищевода рефлюкса в ротовую полость приводят к возникновению и усугубляют уже имеющиеся воспалительные изменения пародонта, очевидно имеется и обратная связь.

В настоящее время принята концепция единой желудочно-кишечно-мозговой диффузной эндокринной системе, принимающей участие в регуляции функций органов пищеварения [1, 2, 3]. Накоплено много данных о желудочно-кишечных гормонах, которые секретируются клетками, расположенными в тканях желудочно-кишечного тракта. Наряду со специализированными клетками диффузной эндокринной системы, продуцирующими биогенные амины

и пептидные гормоны, внимание клиницистов и морфологов привлекают тучные клетки пищеварительного тракта. По таким свойствам как синтез, накопление и выделение биологически активных веществ, а также по способности многократно повторять этот процесс тучные клетки соответствуют понятию «одноклеточные эндокринные железы» [2, 4].

Цель исследования: оценить клинические и иммуноморфологические особенности воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и выявить нейроэндокринные механизмы их патогенеза.

Материал и методы исследования

Нами были обследованы 80 пациентов с ВЗП, имеющих ГЭРБ. Больные катаральным эзофагитом составляли 39 (48,8%) человек, эрозивным эзофагитом 41 (51,2%) пациент. Группу сравнения составили 20 пациентов с ВЗП без патологии пищевода. Контрольная группа – 20 практически здоровых человека.

Формулировка диагноза болезней пародонта проводилась на основании систематики заболеваний пародонта, принятой на XVI Пленуме Всесоюзного общества стоматологов (1983). Диагноз ГЭРБ

устанавливался на основе результатов комплексного клинико-морфологического обследования и базировался на рекомендациях, принятых в 1997 г. в Генвале (Бельгия) международной группой по изучению рефлюксной болезни.

Для морфологической диагностики пародонтопатий проводили биопсию слизистой оболочки маргинального края десны, десневых сосочков, а также слизистой оболочки в области переходной складки десны. Тучные клетки (ТК) определяли гистохимическим методом, с применением окраски толуйдиновым синим после гидролиза соляной кислотой (реакция «скрытой» метахромазии). ТК давали положительную реакцию скрытой метахромазии, окрашиваясь в различные оттенки темно-фиолетового цвета.

Иммуногистохимические исследования серотонинпродуцирующих (ТКсер), гистаминпродуцирующих (ТКгист) и мелатонинпродуцирующих (ТКмел) тучных клеток пародонта проводились с использованием иммуногистохимического метода с использованием коммерческих антител (Dianova, Gamburg, Germany 1:100, CID Res. Inc., 1:200) с последующей электронной микроскопией.

Морфометрический анализ проводился с помощью компьютерной системы микроскопических изображений IMSTAR (Imstar S.A. Paris, France). Математическая обработка результатов исследования проводилась с помощью статистического пакета программ «STATGRAF» и «FOXPRO» на персональном компьютере IBM «Pentium».

Результаты исследования и их обсуждение

Хронический катаральный гингивит достоверно чаще встречался у больных катаральным эзофагитом – 64,1 % (29,3 % при эрозивном варианте). Частота встречаемости пародонтита легкой степени тяжести у больных катаральным и эрозивным эзофагитом существенных различий не имела (25,6 и 34,1 %). Необходимо отметить, что частота встречаемости пародонтита средней и тяжелой степени у больных эрозивным и катаральным эзофагитом имела существенные различия, и характеризовалась достоверным преобладанием средне-тяжелого течения у больных эрозивным эзофагитом (26,8 и 10,2 % соответственно).

Генерализованный катаральный гингивит выявлен у 37 (46,25 %) больных ГЭРБ, из них у 87 % больных признаки гингивита появлялись при обострении патологии пищевода. Больные предъявляли жалобы на кровоточивость десен, незначительную болезненность, неприятный запах изо рта. При объективном обследовании отмечались гиперемия и отек десневого края, степень кровоточивости оценивалась в 1–2 балла. УИГ-1,6, что можно расценить, как неудовлетворительный уровень гигиены полости рта. Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА), средние значения которого составили 44,58 %, что соответствует гингивиту средней степени тяжести.

У 26 (32,5 %) больных ГЭРБ выявлен хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести, у 15 (18,75 %) средней и у 2 (2,5 %) тяжелой степени тяжести.

В данной группе лиц больные предъявляли жалобы на зуд, жжение в области десен, неприятный запах изо рта, кровоточивость во время чистки зубов, при приеме твердой пищи, иногда возникающую при движении губ, языка; подвижность одного или группы зубов; гноетечение и гиперемия в области десен. При объективном обследовании выявлялась отечность десневых сосочков, гиперемия десны, кровоточивость десны, значения индекса РМА составляли от 52,43 до 88,15 %, что говорит о распространении патологического процесса на все участки десневого края. Показатели УИГ колебались от 2,2 до 2,6, что соответствовало плохому и очень плохому состоянию гигиены полости рта. При пародонтите легкой степени глубина пародонтального кармана определялась до 3,5 мм, ПИ-3,73, зубы были неподвижны, либо имели I степень подвижности. На ортопантограмме отмечалась начальная степень деструкции костной ткани межзубной перегородки, которая характеризовалась исчезновением компактной пластинки, резорбцией межальвеолярной перегородки на 1/3 ее высоты, незначительными явлениями остеопороза.

Пародонтит средней степени тяжести диагностировался при глубине пародонтальных карманов 4–5 мм, индекс ПИ-4,92, патологической подвижности зубов I–II степени. На рентгенограмме – резорбция костной ткани межзубной перегородки от 1/3 до 1/2 высоты межзубной перегородки.

У больных хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени глубина пародонтальных карманов варьировала от 4 до 8,5 мм. Подвижность зубов была значительной (II–III степень). ПИ – 6,85. У данной группы обследованных больных преобладал вертикальный тип резорбции костной ткани, отсутствие компактной пластинки, деструкция межальвеолярных перегородок до 3/4 длины корня. При обследовании у 46 (57,5 %) больных выявлена патологическая окклюзия. Продолжительность ГЭРБ (по данным анамнеза) колебалась в интервале от 1 года до 13 лет, средняя продолжительность составила $6,5 \pm 0,98$ лет. В ходе исследования установлено, что наличие воспалительных заболеваний пародонта коррелирует с длительностью заболевания: при ГЭРБ продолжительностью более 5 лет частота встречаемости и выраженность воспалительных изменений пародонта более значительны.

Анализ результатов иммуногистохимических и морфометрических исследований ТК десны, продуцирующих серотонин, ме-

латонин и гистамин, на фоне ГЭРБ и без патологии ЖКТ, при воспалительных заболеваниях пародонта, приведены в таблице.

Количественная характеристика тучных клеток десны, продуцирующих серотонин, мелатонин и гистамин у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта

Характер поражения пародонта	Пациенты с ВЗП при ГЭРБ (n = 80)				Пациенты с ВЗП (n = 20)			
	ТК (общ)	ТКсер	ТКмел	ТКгист	ТК (общ)	ТКсер	ТКмел	ТКгист
Катаральный гингивит	9,9 ± 0,7	12,3 ± 0,*	5,5 ± 0,3	9,7 ± 0,6	9,0 ± 0,5	8,9 ± 0,6	5,2 ± 0,3	9,3 ± 0,6
Пародонтит легкой ст.	10,4 ± 0,*	14,2 ± 1,**	7,4 ± 0,*	12,6 ± 0,9*	9,6 ± 0,7	9,7 ± 1,0#	5,6 ± 0,3	10,5 ± 0,8
Пародонтит средней ст.	19,4 ± 1,1***	16,2 ± 1,0***	9,4 ± 0,7***	14,8 ± 0,4**	10,4 ± 0,8#	10,1 ± 0,5#	7,2 ± 0,5	11,2 ± 0,5
Пародонтит тяжелой ст.	4,3 ± 0,6*	3,1 ± 0,1*	1,6 ± 0,1*	7,2 ± 0,7	9,0 ± 0,7#	4,4 ± 0,8	4,1 ± 0,6#	7,9 ± 0,9
Интактный пародонт	8,7 ± 0,3	5,6 ± 0,4	4,9 ± 0,3	8,5 ± 0,6	8,7 ± 0,3	5,6 ± 0,4	4,9 ± 0,3	8,5 ± 0,6

Примечание: результаты приведены на 0,1 мм слизистой оболочки десны; * – обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем в контроле, ** – по сравнению с соответствующим показателем у больных генерализованным катаральным гингивитом; *** – по сравнению с соответствующим показателем пародонтита легкой степени тяжести; # – по сравнению с соответствующим показателем ВЗП на фоне ГЭРБ.

ГКГ на фоне ГЭРБ протекал с изолированным повышением морфометрических показателей ТКсер при не отличающихся от нормы показателей общей популяции ТК, ТКмел и ТКгист. При легкой форме пародонтита наблюдалось достоверное нарастание ТКсер по сравнению с соответствующими показателями контроля и показателями ГКГ. Также нарастали значения ТКмел, ТКгист и общей популяции ТК. При средней степени тяжести ХГП происходило повышение показателей как общей популяции ТК, так и ТК, продуцирующих серотонин и мелатонин, в меньшей степени ТК, продуцирующих гистамин. Однако при ХГПт отмечено снижение количественной плотности общей популяции ТК, а также уменьшение показателей ТК, продуцирующих серотонин, мелатонин и гистамин.

Сравнивая значения у пациентов с ГЭРБ и без патологии ЖКТ, необходимо отметить, что у пациентов второй группы отмечались достоверно лучшие показатели (различие со значениями контроля статистически не достоверно $P > 0,05$).

При электронной микроскопии у пациентов с хроническим пародонтитом легкой степени и катаральном гингивите обращают на себя внимание увеличение митохондрий и количества секреторных гранул в ТК. На фоне хронического пародонтита тяжелой степени отмечено снижение численности общей популяции ТК, дегрануляция и опустошение секреторных гранул в них. Указанные морфометрические и электрон-

но-микроскопические признаки отражают гипоплазию и гипофункцию тучноклеточной популяции.

Установлена прямая корреляционная связь между величиной морфометрических показателей ТК, продуцирующих серотонин, и значениями индекса, характеризующего степень воспаления в тканях пародонта – РМА при генерализованном катаральном гингивите, легком, среднем и тяжелом вариантах пародонтита у лиц с ГЭРБ ($r = 0,73$ при $p = 0,008$). Вероятно это отражение провоспалительных эффектов биогенного амина при пародонтите, которое осуществляется за счет нарушения микроциркуляции в результате спазма сосудов и ишемии слизистой оболочки. Гиперпродукция серотонина вызывает и поддерживает моторные нарушения в верхнем этаже пищеварительного тракта, что может обеспечивать повреждающий эффект соляной кислоты и желчи на ткани пародонта при наличии у них рефлюксных проявлений со стороны желудка и двенадцатиперстной кишки.

В ходе исследования выявлена прямая корреляционная связь между величиной морфометрических показателей ТК, продуцирующих гистамин, и показателем РМА при пародонтите легкой и средней степени у лиц с ГЭРБ ($r = 0,58$ при $p = 0,006$). Повышение содержания гистамина в ротовой жидкости ведет к увеличению проницаемости сосудов микроциркуляторного русла, развитию отека и воспаления в слизистой оболочки полости рта.

При тяжелом пародонтите отмечена отрицательная корреляция между морфометрическими показателями количественной плотности ТК, продуцирующих мелатонин, и значениями индекса деструкции тканей пародонта – ПИ и РМА (соответственно $r = -0,73$ и $r = -0,53$). Возможно, это связано со способностью мелатонина замедлять пролиферацию и деление клеток, что приводит к нарушению и замедлению процессов регенерации тканей. Эти изменения создают условия для формирования и прогрессирования воспалительно-дистрофических поражений пародонта.

Заключение

Полученные изменения морфометрических показателей и функциональной активности тучных клеток десны, продуцирующих серотонин, мелатонин и гистамин, во многом определяют степень воспалительных и деструктивных поражений пародонта на фоне ГЭРБ, и коррелируют со степенью тяжести воспалительных заболеваний пародонта.

Список литературы

1. Булкина Н.В., Косачев М.А., Осадчук М.А. Заболевания пародонта при патологии органов пищеварения. – Самара: ООО «Офорт», 2006. – С. 48–85.
2. Осадчук А.М., Коган Н.Ю., Кветной И.М. Показатели пролиферации и апоптоза в патогенезе и прогнозировании течения заболеваний желудка, ассоциированных H. Pylori // Рос. журн. гастроэнтерол. Гепатол. Колопроктол. – 2007. – Т17, №4. – С. 20–24.

3. Boyd C.A. Amine uptake and peptide hormone secretion: APUD cells in a new landscape // J. Physiol. – 2001. – №15 (3). – P. 581.

4. Bordi C., D'Adda T., Azzoni C. et al. Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopical levels. Microsc. Res. Tech. – 2000. – №48 (5). – P. 258–271.

5. Lundell L. Advanced in treatment strategies for gastroesophageal refluxdisease// In: EAGE postgraduate course. – Geneva, 2002. – P. 13–22.

References

1. Bulkina N.V., Kosachev M.A., Osadchuk M.A. *Zabolevaniya parodonta pri patologii organov piwevarenija*. Samara: ООО «Ofort», 2006. pp. 48–85.

2. Osadchuk A.M., Kogan N.Ju., Kvetnoj I.M. *Pokazateli proliferacii i apoptoza v patogeneze i prognozirovanii techenija zabolevanij zheludka, associirovannyh H. Pylori* Ros.zhurn. gastrojenterol. Gepatol. Koloproktol. 2007. T17, no. 4. pp. 20–24.

3. Boyd C.A. *Amine uptake and peptide hormone secretion: APUD cells in a new landscape* – J. Physiol. 2001; 15 (3):581.

4. Bordi C., D'Adda T., Azzoni C. et al. *Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopical levels*. Microsc. Res. Tech. 2000; 48 (5): 258–271.

5. Lundell L. *Advanced in treatment strategies for gastroesophageal refluxdisease In: EAGE postgraduate course*. Geneva. 2002. pp. 13–22.

Рецензенты:

Лепилин А.В., д.м.н., профессор заведующий кафедрой хирургической стоматологии и челюстно – лицевой хирургии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ, г. Саратов;
Михальченко В.Ф., д.м.н., профессор заведующий кафедрой стоматологии терапевтической ГБОУ ВПО «Волгоградский ГМУ» Минздравсоцразвития РФ, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 16.01.2012.

(<http://www.rae.ru/fs/>)

В журнале «Фундаментальные исследования» в соответствующих разделах публикуются научные обзоры, статьи проблемного и фундаментального характера по следующим направлениям.

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| 1. Архитектура | 12. Психологические науки |
| 2. Биологические науки | 13. Сельскохозяйственные науки |
| 3. Ветеринарные науки | 14. Социологические науки |
| 4. Географические науки | 15. Технические науки |
| 5. Геолого-минералогические науки | 16. Фармацевтические науки |
| 6. Искусствоведение | 17. Физико-математические науки |
| 7. Исторические науки | 18. Филологические науки |
| 8. Культурология | 19. Философские науки |
| 9. Медицинские науки | 20. Химические науки |
| 10. Педагогические науки | 21. Экономические науки |
| 11. Политические науки | 22. Юридические науки |

При написании и оформлении статей для печати редакция журнала просит придерживаться следующих правил.

1. Заглавие статей должны соответствовать следующим требованиям:
 - заглавия научных статей должны быть информативными (*Web of Science* это требование рассматривает в экспертной системе как одно из основных);
 - в заглавиях статей можно использовать только общепринятые сокращения;
 - в переводе заглавий статей на английский язык не должно быть никаких транслитераций с русского языка, кроме непереводаемых названий собственных имен, приборов и др. объектов, имеющих собственные названия; также не используется непереводаемый сленг, известный только русскоговорящим специалистам.

Это также касается авторских резюме (аннотаций) и ключевых слов.

2. Фамилии авторов статей на английском языке представляются в одной из принятых международных систем транслитерации (см. далее раздел «Правила транслитерации»)

Буква	Транслит	Буква	Транслит	Буква	Транслит	Буква	Транслит
А	A	З	Z	П	P	Ч	CH
Б	B	И	I	Р	R	Ш	SH
В	V	Й	Y	С	S	Щ	SCH
Г	G	К	K	Т	T	Ъ, Ъ	опускается
Д	D	Л	L	У	U	Ы	Y
Е	E	М	M	Ф	F	Э	E
Ё	E	Н	N	Х	KH	Ю	YU
Ж	ZH	О	O	Ц	TS	Я	YA

На сайте <http://www.translit.ru/> можно бесплатно воспользоваться программой транслитерации русского текста в латиницу.

3. В структуру статьи должны входить: введение (краткое), цель исследования, материал и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, выводы или заключение, список литературы, сведения о рецензентах. Не допускаются обозначения в названиях статей: сообщение 1, 2 и т.д., часть 1, 2 и т.д.

4. Таблицы должны содержать только необходимые данные и представлять собой обобщенные и статистически обработанные материалы. Каждая таблица снабжается заголовком и вставляется в текст после абзаца с первой ссылкой на нее.

5. Количество графического материала должно быть минимальным (не более 5 рисунков). Каждый рисунок должен иметь подпись (под рисунком), в которой дается объяснение всех его элементов. Для построения графиков и диаграмм следует использовать программу Microsoft Office Excel. Каждый рисунок вставляется в текст как объект Microsoft Office Excel.

6. Библиографические ссылки в тексте статьи следует давать в квадратных скобках в соответствии с нумерацией в списке литературы. Список литературы для оригинальной

статьи – не менее 5 и не более 15 источников. Для научного обзора – не более 50 источников. Список литературы составляется в алфавитном порядке – сначала отечественные, затем зарубежные авторы и оформляется в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5 2008.

Списки литературы представляются в двух вариантах:

1. В соответствии с ГОСТ Р 7.0.5 2008 (русскоязычный вариант вместе с зарубежными источниками).

2. Вариант на латинице, повторяя список литературы к русскоязычной части, независимо от того, имеются или нет в нем иностранные источники

Новые требования к оформлению списка литературы на английском языке (см. далее раздел «ПРИСТАТЕЙНЫЕ СПИСКИ ЛИТЕРАТУРЫ» – ПРАВИЛ ДЛЯ АВТОРОВ).

7. Объем статьи не должен превышать 8 страниц А4 формата (1 страница – 2000 знаков, шрифт 12 Times New Roman, интервал – 1,5, поля: слева, справа, верх, низ – 2 см), включая таблицы, схемы, рисунки и список литературы. Публикация статьи, превышающей объем в 8 страниц, возможна при условии доплаты.

8. При предъявлении рукописи необходимо сообщать индексы статьи (УДК) по таблицам Универсальной десятичной классификации, имеющейся в библиотеках.

9. К рукописи должен быть приложен краткий реферат (резюме) статьи на русском и английском языках. **Новые требования к резюме (см. далее раздел «АВТОРСКИЕ РЕЗЮМЕ (АННОТАЦИИ) НА АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКЕ» – ПРАВИЛ ДЛЯ АВТОРОВ).**

Объем реферата должен включать минимум 100-250 слов (по ГОСТ 7.9-95 – 850 знаков, не менее 10 строк). Реферат объемом не менее 10 строк должен кратко излагать предмет статьи и основные содержащиеся в ней результаты. Реферат подготавливается на русском и английском языках.

Используемый шрифт – полужирный, размер шрифта – 10 пт. **Реферат на английском языке должен в начале текста содержать заголовок (название) статьи, инициалы и фамилии авторов также на английском языке.**

10. Обязательное указание **места работы всех авторов.** (Новые требования к англоязычному варианту – см. раздел «НАЗВАНИЯ ОРГАНИЗАЦИЙ» – ПРАВИЛ ДЛЯ АВТОРОВ), их должностей и контактной информации.

11. Наличие ключевых слов для каждой публикации.

12. Указывается шифр основной специальности, по которой выполнена данная работа.

13. Редакция оставляет за собой право на сокращение и редактирование статей.

14. Статья должна быть набрана на компьютере в программе Microsoft Office Word в одном файле.

15. Статьи могут быть представлены в редакцию двумя способами:

- Через «личный портфель» автора
- По электронной почте edition@rae.ru

Работы, поступившие через «Личный ПОРТФЕЛЬ» автора публикуются в первую очередь

Взаимодействие с редакцией посредством «Личного портфеля» позволяет в режиме on-line представлять статьи в редакцию, добавлять, редактировать и исправлять материалы, оперативно получать запросы из редакции и отвечать на них, отслеживать в режиме реального времени этапы прохождения статьи в редакции. Обо всех произошедших изменениях в «Личном портфеле» автор дополнительно получает автоматическое сообщение по электронной почте.

Работы, поступившие по электронной почте, публикуются в порядке очереди по мере рассмотрения редакцией поступившей корреспонденции и осуществления переписки с автором.

Через «Личный портфель» или по электронной почте в редакцию одновременно направляется полный пакет документов:

- материалы статьи;
- сведения об авторах;
- копии двух рецензий докторов наук (по специальности работы);
- сканированная копия сопроводительного письма (подписанное руководителем учреждения) – содержит информацию о тех документах, которые автор высылает, куда и с какой целью.

Правила оформления сопроводительного письма.

Сопроводительное письмо к научной статье оформляется на бланке учреждения, где выполнялась работа, за подписью руководителя учреждения.

Если сопроводительное письмо оформляется не на бланке учреждения и не подписывается руководителем учреждения, оно должно быть **обязательно** подписано всеми авторами научной статьи.

Сопроводительное письмо обязательно (!) должно содержать следующий текст.

Настоящим письмом гарантируем, что опубликование научной статьи в журнале «Фундаментальные исследования» не нарушает ничьих авторских прав. Автор (авторы) передает на неограниченный срок учредителю журнала неисключительные права на использование научной статьи путем размещения полнотекстовых сетевых версий номеров на Интернет-сайте журнала.

Автор (авторы) несет ответственность за неправомерное использование в научной статье объектов интеллектуальной собственности, объектов авторского права в полном объеме в соответствии с действующим законодательством РФ.

Автор (авторы) подтверждает, что направляемая статья негде ранее не была опубликована, не направлялась и не будет направляться для опубликования в другие научные издания.

Также удостоверяем, что автор (авторы) согласен с правилами подготовки рукописи к изданию, утвержденными редакцией журнала «Фундаментальные исследования», опубликованными и размещенными на официальном сайте журнала.

Сопроводительное письмо сканируется и файл загружается в личный портфель автора (или пересылается по электронной почте – если для отправки статьи не используется личный портфель).

- копия экспертного заключения – содержит информацию о том, что работа автора может быть опубликована в открытой печати и не содержит секретной информации (подписи руководителя учреждения). Для нерезидентов РФ экспертное заключение не требуется;

- копия документа об оплате.

Оригиналы запрашиваются редакцией при необходимости.

Редакция убедительно просит статьи, размещенные через «Личный портфель», не отправлять дополнительно по электронной почте. В этом случае сроки рассмотрения работы удлиняются (требуется время для идентификации и удаления копий).

16. В одном номере журнала может быть напечатана только одна статья автора (первого автора).

17. В конце каждой статьи указываются сведения о рецензентах: ФИО, ученая степень, звание, должность, место работы, город, рабочий телефон.

18. Журнал издается на средства авторов и подписчиков. **Плата с аспирантов (единственный автор) за публикацию статьи не взимается.** Обязательное представление справки об обучении в аспирантуре, заверенной руководителем учреждения. Оригинал справки с печатью учреждения высылается по почте по адресу: 105037, Москва, а/я 47, Академия естествознания. Сканированные копии справок не принимаются.

19. Представляя текст работы для публикации в журнале, автор гарантирует правильность всех сведений о себе, отсутствие плагиата и других форм неправомерного заимствования в рукописи произведения, надлежащее оформление всех заимствований текста, таблиц, схем, иллюстраций. Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведенных фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений.

Редакция не несет ответственность за достоверность информации, приводимой авторами. Автор, направляя рукопись в Редакцию, принимает личную ответственность за оригинальность исследования, поручает Редакции обнародовать произведение посредством его опубликования в печати.

Плагиатом считается умышленное присвоение авторства чужого произведения науки или мыслей или искусства или изобретения. Плагиат может быть нарушением авторско-правового законодательства и патентного законодательства и в качестве таковых может повлечь за собой юридическую ответственность Автора.

Автор гарантирует наличие у него исключительных прав на использование переданного Редакции материала. В случае нарушения данной гарантии и предъявления в связи с этим претензий к Редакции Автор самостоятельно и за свой счет обязуется урегулировать все претензии. Редакция не несет ответственности перед третьими лицами за нарушение данных Автором гарантий.

Редакция оставляет за собой право направлять статьи на дополнительное рецензирование. В этом случае сроки публикации продлеваются. Материалы дополнительной экспертизы предъявляются автору.

20. Направление материалов в редакцию для публикации означает согласие автора с приведенными выше требованиями.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЬИ

УДК 615.035.4

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРИОДА ТИТРАЦИИ ДОЗЫ ВАРФАРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ. ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ¹Шварц Ю.Г., ¹Артанова Е.Л., ¹Салеева Е.В., ¹Соколов И.М.

¹ГОУ ВПО «Саратовский Государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия (410012, Саратов, ГСП ул. Большая Казачья, 112), e-mail: kateha007@bk.ru

Проведен анализ взаимосвязи особенностей индивидуального подбора терапевтической дозы варфарина и клинических характеристик у больных фибрилляцией предсердий. Учитывались следующие характеристики периода подбора дозы: окончательная терапевтическая доза варфарина в мг, длительность подбора дозы в днях и максимальное значение международного нормализованного отношения (МНО), зарегистрированная в процессе титрования. При назначении варфарина больным с фибрилляцией предсердий его терапевтическая доза, длительность ее подбора и колебания при этом МНО, зависят от следующих клинических факторов – инсульта в анамнезе, наличие ожирения, поражения щитовидной железы, курения, и сопутствующей терапии, в частности, применение амиодарона. Однако у пациентов с сочетанием ишемической болезни сердца и фибрилляции предсердий не установлено существенной зависимости особенностей подбора дозы варфарина от таких характеристик, как пол, возраст, количество сопутствующих заболеваний, наличие желчнокаменной болезни, сахарного диабета II типа, продолжительность аритмии, стойкости фибрилляции предсердий, функционального класса сердечной недостаточности и наличия стенокардии напряжения. По данным непараметрического корреляционного анализа изучаемые нами характеристики периода подбора терапевтической дозы варфарина не были значимо связаны между собой.

Ключевые слова: варфарин, фибрилляция предсердий, международное нормализованное отношение (МНО)

CHARACTERISTICS OF THE PERIOD DOSE TITRATION WARFARIN IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION. RELATIONSHIP WITH CLINICAL FACTORS¹Shvarts Y.G., ¹Artanova E.L., ¹Saleeva E.V., ¹Sokolov I.M.

¹Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, Russia (410012, Saratov, street B. Kazachya, 112), e-mail: kateha007@bk.ru

We have done the analysis of the relationship characteristics of the individual selection of therapeutic doses of warfarin and clinical characteristics in patients with atrial fibrillation. Following characteristics of the period of selection of a dose were considered: a definitive therapeutic dose of warfarin in mg, duration of selection of a dose in days and the maximum value of the international normalised relation (INR), registered in the course of titration. Therapeutic dose of warfarin, duration of its selection and fluctuations in thus INR depend on the following clinical factors – a history of stroke, obesity, thyroid lesions, smoking, and concomitant therapy, specifically, the use of amiodarone, in cases of appointment of warfarin in patients with atrial fibrillation. However at patients with combination Ischemic heart trouble and atrial fibrillation it is not established essential dependence of features of selection of a dose of warfarin from such characteristics, as a sex, age, quantity of accompanying diseases, presence of cholelithic illness, a diabetes of II type, duration of an arrhythmia, firmness of fibrillation of auricles, a functional class of warm insufficiency and presence of a stenocardia of pressure. According to the nonparametric correlation analysis characteristics of the period of selection of a therapeutic dose of warfarin haven't been significantly connected among themselves.

Keywords: warfarin, atrial fibrillation, an international normalized ratio (INR)

Введение

Фибрилляция предсердий (ФП) – наиболее встречаемый вид аритмии в практике врача [7]. Инвалидизация и смертность больных с ФП остается высокой, особенно от ишемического инсульта и системные эмболии [4]...

Список литературы

1....

References

1...

Рецензенты: ФИО, ученая степень, звание, должность, место работы, город.

**Единый формат оформления приставных библиографических ссылок в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5 2008 «Библиографическая ссылка»
(Примеры оформления ссылок и приставных списков литературы на русском языке)**

Статьи из журналов и сборников:

Адорно Т.В. К логике социальных наук // Вопр. философии. – 1992. – № 10. – С. 76-86.

Crawford P.J. The reference librarian and the business professor: a strategic alliance that works / P.J. Crawford, T.P. Barrett // Ref. Libr. – 1997. – Vol. 3, № 58. – P. 75–85.

Заголовок записи в ссылке может содержать имена одного, двух или трех авторов документа. Имена авторов, указанные в заголовке, могут не повторяться в сведениях об ответственности.

Crawford P.J., Barrett T.P. The reference librarian and the business professor: a strategic alliance that works // Ref. Libr. – 1997. – Vol. 3, № 58. – P. 75–85.

Если авторов четыре и более, то заголовок не применяют (ГОСТ 7.80-2000).

Корнилов В.И. Турбулентный пограничный слой на теле вращения при периодическом вдуве/отсосе // Теплофизика и аэромеханика. – 2006. – Т. 13, №. 3. – С. 369–385.

Кузнецов А.Ю. Консорциум – механизм организации подписки на электронные ресурсы // Российский фонд фундаментальных исследований: десять лет служения российской науке. – М.: Науч. мир, 2003. – С. 340–342.

Монографии:

Тарасова В.И. Политическая история Латинской Америки: учеб. для вузов. – 2-е изд. – М.: Проспект, 2006. – С. 305–412

Допускается предписанный знак точку и тире, разделяющий области библиографического описания, заменять точкой.

Философия культуры и философия науки: проблемы и гипотезы: межвуз. сб. науч. тр. / Саратов. гос. ун-т; [под ред. С. Ф. Мартыновича]. – Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1999. – 199 с.

Допускается не использовать квадратные скобки для сведений, заимствованных не из предписанного источника информации.

Райзберг Б.А. Современный экономический словарь / Б.А. Райзберг, Л.У. Лозовский, Е.Б. Стародубцева. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: ИНФРА-М, 2006. – 494 с.

Заголовок записи в ссылке может содержать имена одного, двух или трех авторов документа. Имена авторов, указанные в заголовке, не повторяются в сведениях об ответственности. Поэтому:

Райзберг Б.А., Лозовский Л.Ш., Стародубцева Е.Б. Современный экономический словарь. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: ИНФРА-М, 2006. – 494 с.

Если авторов четыре и более, то заголовок не применяют (ГОСТ 7.80-2000).

Авторефераты

Глухов В.А. Исследование, разработка и построение системы электронной доставки документов в библиотеке: автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Новосибирск, 2000. – 18 с.

Диссертации

Фенухин В.И. Этнополитические конфликты в современной России: на примере Северокавказского региона : дис. ... канд. полит. наук. – М., 2002. – С. 54–55.

Аналитические обзоры:

Экономика и политика России и государств ближнего зарубежья : аналит. обзор, апр. 2007 / Рос. акад. наук, Ин-т мировой экономики и междунар. отношений. – М. : ИМЭМО, 2007. – 39 с.

Патенты:

Патент РФ № 2000130511/28, 04.12.2000.

Еськов Д.Н., Бонштедт Б.Э., Корешев С.Н., Лебедева Г.И., Серегин А.Г. Оптико-электронный аппарат // Патент России № 2122745.1998. Бюл. № 33.

Материалы конференций

Археология: история и перспективы: сб. ст. Первой межрегион. конф. – Ярославль, 2003. – 350 с.

Марьинских Д.М. Разработка ландшафтного плана как необходимое условие устойчивого развития города (на примере Тюмени) // Экология ландшафта и планирование землепользования: тезисы докл. Всерос. конф. (Иркутск, 11-12 сент. 2000 г.). – Новосибирск, 2000. – С. 125–128.

Интернет-документы:

Официальные периодические издания : электронный путеводитель / Рос. нац. б-ка, Центр правовой информации. [СПб.], 2005/2007. URL:

<http://www.nlr.ru/lawcenter/izd/index.html> (дата обращения: 18.01.2007).

Логинова Л. Г. Сущность результата дополнительного образования детей // Образование: исследовано в мире: междунар. науч. пед. интернет-журн. 21.10.03. URL:

<http://www.oim.ru/reader.asp?nomers=366> (дата обращения: 17.04.07).

<http://www.nlr.ru/index.html> (дата обращения: 20.02.2007).

Рынок тренингов Новосибирска: своя игра [Электронный ресурс]. – Режим доступа:

<http://nsk.adme.ru/news/2006/07/03/2121.html> (дата обращения: 17.10.08).

Литчфорд Е.У. С Белой Армией по Сибири [Электронный ресурс] // Восточный фронт Армии Генерала А.В. Колчака: сайт. – URL: <http://east-front.narod.ru/memo/latchford.htm> (дата обращения 23.08.2007).

Примеры оформления ссылок и пристатейных списков литературы на латинице:
На библиографические записи на латинице не используются разделительные знаки, применяемые в российском ГОСТе («//» и «—»).

Составляющими в библиографических ссылках являются фамилии всех авторов и названия журналов.

Статьи из журналов:

Zagurenko A.G., Korotovskikh V.A., Kolesnikov A.A., Timonov A.V., Kardymon D.V. *Neftyanoe khozyaistvo – Oil Industry*, 2008, no. 11, pp. 54–57.

Dyachenko, V.D., Krivokolysko, S.G., Nesterov, V.N., and Litvinov, V.P., *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1996, no. 9, p. 1243

Статьи из электронных журналов описываются аналогично печатным изданиям с дополнением данных об адресе доступа.

Пр и м е р описания статьи из электронного журнала:

Swaminathan V., Lepkoswka-White E., Rao B.P., *Journal of Computer-Mediated Communication*, 1999, Vol. 5, No. 2, available at: www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2.

Материалы конференций:

Usmanov T.S., Gusmanov A.A., Mullagalin I.Z., Muhametshina R.Ju., Chervyakova A.N., Sveshnikov A.V. *Trudy 6 Mezhdunarodnogo Simpoziuma «ovye resursosberegayushchie tekhnologii nedropol'zovaniya i povysheniya neftegazootdachi»* (Proc. 6th Int. Technol. Symp. «New energy saving subsoil technologies and the increasing of the oil and gas impact»). Moscow, 2007, pp. 267–272.

Главное в описаниях конференций – название конференции на языке оригинала (в транслитерации, если нет ее английского названия), выделенное курсивом. В скобках дается перевод названия на английский язык. Выходные данные (место проведения конференции, место издания, страницы) должны быть представлены на английском языке.

Книги (монографии, сборники, материалы конференций в целом):

Belaya kniga po nanotekhnologiyam: issledovaniya v oblasti nanochastits, nanostruktur i nanokompozitov v Rossiiskoi Federatsii (po materialam Pervogo Vserossiiskogo soveshchaniya uchenykh, inzhenerov i proizvoditelei v oblasti nanotekhnologii [White Book in Nanotechnologies: Studies in the Field of Nanoparticles, Nanostructures and Nanocomposites in the Russian Federation: Proceedings of the First All-Russian Conference of Scientists, Engineers and Manufacturers in the Field of Nanotechnology]. Moscow, LKI, 2007.

Nenashev M.F. *Poslednee pravitel'tvo SSSR* [Last government of the USSR]. Moscow, Krom Publ., 1993. 221 p.

From disaster to rebirth: the causes and consequences of the destruction of the Soviet Union [Ot katastrofy k vrozozhdeniju: prichiny i posledstviya razrusheniya SSSR]. Moscow, HSE Publ., 1999. 381 p.

Kanevskaya R.D. *Matematicheskoe modelirovanie gidrodinamicheskikh protsessov razrabotki mestorozhdenii uglevodorodov* (Mathematical modeling of hydrodynamic processes of hydrocarbon deposit development). Izhevsk, 2002. 140 p.

Latyshev, V.N., *Tribologiya rezaniya. Kn. 1: Friksionnye protsessy pri rezanie metallov* (Tribology of Cutting, Vol. 1: Frictional Processes in Metal Cutting), Ivanovo: Ivanovskii Gos. Univ., 2009.

Ссылка на Интернет-ресурс:

APA Style (2011), Available at: <http://www.apastyle.org/apa-style-help.aspx> (accessed 5 February 2011).

Pravila Tsitirovaniya Istochnikov (Rules for the Citing of Sources) Available at: <http://www.scribd.com/doc/1034528/> (accessed 7 February 2011)

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ РЕЦЕНЗИИ

РЕЦЕНЗИЯ

на статью (Фамилии, инициалы авторов, полное название статьи)

Научное направление работы. Для мультидисциплинарных исследований указываются не более 3 научных направлений.

Класс статьи: оригинальное научное исследование, новые технологии, методы, фундаментальные исследования, научный обзор, дискуссия, обмен опытом, наблюдения из практики, практические рекомендации, рецензия, лекция, краткое сообщение, юбилей, информационное сообщение, решения съездов, конференций, пленумов.

Научная новизна: 1) Постановка новой проблемы, обоснование оригинальной теории, концепции, доказательства, закономерности 2) Фактическое подтверждение собственной концепции, теории 3) Подтверждение новой оригинальной заимствованной концепции 4) Решение частной научной задачи 5) Констатация известных фактов

Оценка достоверности представленных результатов.

Практическая значимость. Предложены: 1) Новые методы 2) Новая классификация, алгоритм 3) Новые препараты, вещества, механизмы, технологии, результаты их апробации 4) Даны частные или слишком общие, неконкретные рекомендации 5) Практических целей не ставится.

Формальная характеристика статьи.

Стиль изложения – хороший, (не) требует правки, сокращения.

Таблицы – (не) информативны, избыточны.

Рисунки – приемлемы, перегружены информацией, (не) повторяют содержание таблиц.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Статья актуальна, обладает научной и практической новизной, рекомендуется для печати.

Рецензент Фамилия, инициалы

Полные сведения о рецензенте: Фамилия, имя, отчество полностью, ученая степень и звание, должность, сведения об учреждении (название с указанием ведомственной принадлежности), адрес, с почтовым индексом, номер, телефона и факса с кодом города).

Дата

Подпись

Подлинность подписи рецензента подтверждаю: Секретарь

Печать учреждения

ПРАВИЛА ТРАНСЛИТЕРАЦИИ

Произвольный выбор транслитерации неизбежно приводит к многообразию вариантов представления фамилии одного автора и в результате затрудняет его идентификацию и объединение данных о его публикациях и цитировании под одним профилем (идентификатором – ID автора)

Представление русскоязычного текста (кириллицы) по различным правилам транслитерации (или вообще без правил) ведет к потере необходимой информации в аналитической системе SCOPUS.

НАЗВАНИЯ ОРГАНИЗАЦИЙ

Использование общепринятого переводного варианта названия организации является наиболее предпочтительным. Употребление в статье официального, без сокращений, названия организации на английском языке позволит наиболее точно идентифицировать принадлежность авторов, предотвратит потери статей в системе анализа организаций и авторов. Прежде всего, это касается названий университетов и других учебных заведений, академических и отраслевых институтов. Это позволит также избежать расхождений между вариантами названий организаций в переводных, зарубежных и русскоязычных журналах. Исключение составляют не переводимые на английский язык наименований фирм. Такие названия, безусловно, даются в транслитерированном варианте.

Употребление сокращений или аббревиатур способствует потере статей при учете публикаций организации, особенно если аббревиатуры не относятся к общепринятым.

Излишним является использование перед основным названием принятых в последние годы составных частей названий организаций, обозначающих принадлежность ведомству, форму собственности, статус организации («Учреждение Российской академии наук...», «Федеральное государственное унитарное предприятие...», «ФГОУ ВПО...», «Национальный исследовательский...» и т.п.), что затрудняет идентификацию организации.

В свете постоянных изменений статусов, форм собственности и названий российских организаций (в т.ч. с образованием федеральных и национальных университетов, в которые в настоящее время вливаются большое количество активно публикующихся государственных университетов и институтов) существуют определенные опасения, что еще более усложнится идентификация и установление связей между авторами и организациями. В этой ситуации **желательно в статьях указывать полное название организации**, включенной, например, в федеральный университет, **если она сохранила свое прежнее название**. В таком случае она будет учтена и в своем профиле, и в профиле федерального университета:

Например, варианты Таганрогский технологический институт Южного федерального университета:

Taganrogsckij Tekhnologicheskij Institut Yuzhnogo Federal'nogo Universiteta;
Taganrog Technological Institute, South Federal University

В этот же профиль должны войти и прежние названия этого университета.

Для национальных исследовательских университетов важно сохранить свое основное название.

(В соответствии с рекомендациями О.В. Кирилловой, к.т.н., заведующей отделением ВИНТИ РАН члена Экспертного совета (CSAB) БД SCOPUS)

АВТОРСКИЕ РЕЗЮМЕ (АННОТАЦИИ) НА АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКЕ

Необходимо иметь в виду, что аннотации (рефераты, авторские резюме) на английском языке в русскоязычном издании являются для иностранных ученых и специалистов основным и, как правило, единственным источником информации о содержании статьи и изложенных в ней результатах исследований. Зарубежные специалисты по аннотации оценивают публикацию, определяют свой интерес к работе российского ученого, могут использовать ее в своей публикации и сделать на неё ссылку, открыть дискуссию с автором,

запросить полный текст и т.д. Аннотация на английском языке на русскоязычную статью по объему может быть больше аннотации на русском языке, так как за русскоязычной аннотацией идет полный текст на этом же языке.

Аналогично можно сказать и об аннотациях к статьям, опубликованным на английском языке. Но даже в требованиях зарубежных издательств к статьям на английском языке указывается на объем аннотации в размере 100-250 слов.

Перечислим обязательные качества аннотаций на английском языке к русскоязычным статьям. Аннотации должны быть:

- информативными (не содержать общих слов);
- оригинальными (не быть калькой русскоязычной аннотации);
- содержательными (отражать основное содержание статьи и результаты исследований);
- структурированными (следовать логике описания результатов в статье);
- «англоязычными» (написаны качественным английским языком);
- компактными (укладываться в объем от 100 до 250 слов).

В аннотациях, которые пишут наши авторы, допускаются самые элементарные ошибки. Чаще всего аннотации представляют прямой перевод русскоязычного варианта, изобилуют общими ничего не значащими словами, увеличивающими объем, но не способствующими раскрытию содержания и сути статьи. А еще чаще объем аннотации составляет всего несколько строк (3-5). При переводе аннотаций не используется англоязычная специальная терминология, что затрудняет понимание текста зарубежными специалистами. В зарубежной БД такое представление содержания статьи совершенно неприемлемо.

Опыт показывает, что самое сложное для российского автора при подготовке аннотации – представить кратко результаты своей работы. Поэтому одним из проверенных вариантов аннотации является краткое повторение в ней структуры статьи, включающей введение, цели и задачи, методы, результаты, заключение. Такой способ составления аннотаций получил распространение и в зарубежных журналах.

В качестве помощи для написания аннотаций (рефератов) можно рекомендовать, по крайней мере, два варианта правил. Один из вариантов – российский ГОСТ 7.9-95 «Реферат и аннотация. Общие требования», разработанные специалистами ВИНТИ.

Второй – рекомендации к написанию аннотаций для англоязычных статей, подаваемых в журналы издательства Emerald (Великобритания). При рассмотрении первого варианта необходимо учитывать, что он был разработан, в основном, как руководство для референтов, готовящих рефераты для информационных изданий. Второй вариант – требования к аннотациям англоязычных статей. Поэтому требуемый объем в 100 слов в нашем случае, скорее всего, нельзя назвать достаточным. Ниже приводятся выдержки из указанных двух вариантов. Они в значительной степени повторяют друг друга, что еще раз подчеркивает важность предлагаемых в них положений. Текст ГОСТа незначительно изменен с учетом специфики рефератов на английском языке.

КРАТКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО НАПИСАНИЮ АВТОРСКИХ РЕЗЮМЕ (АННОТАЦИЙ, РЕФЕРАТОВ К СТАТЬЯМ) (подготовлены на основе ГОСТ 7.9-95)

Авторское резюме ближе по своему содержанию, структуре, целям и задачам к реферату. Это – краткое точное изложение содержания документа, включающее основные фактические сведения и выводы описываемой работы.

Текст авторского резюме (в дальнейшем – реферата) должен быть лаконичен и четок, свободен от второстепенной информации, отличаться убедительностью формулировок.

Объем реферата должен включать минимум 100-250 слов (по ГОСТу – 850 знаков, не менее 10 строк).

Реферат включает следующие аспекты содержания статьи:

- предмет, тему, цель работы;
- метод или методологию проведения работы;
- результаты работы;
- область применения результатов;
- выводы.

Последовательность изложения содержания статьи можно изменить, начав с изложения результатов работы и выводов.

Предмет, тема, цель работы указываются в том случае, если они не ясны из заглавия статьи.

Метод или методологию проведения работы целесообразно описывать в том случае, если они отличаются новизной или представляют интерес с точки зрения данной работы. В рефератах документов, описывающих экспериментальные работы, указывают источники данных и характер их обработки.

Результаты работы описывают предельно точно и информативно. Приводятся основные теоретические и экспериментальные результаты, фактические данные, обнаруженные взаимосвязи и закономерности. При этом отдается предпочтение новым результатам и данным долгосрочного значения, важным открытиям, выводам, которые опровергают существующие теории, а также данным, которые, по мнению автора, имеют практическое значение.

Выводы могут сопровождаться рекомендациями, оценками, предложениями, гипотезами, описанными в статье.

Сведения, содержащиеся в заглавии статьи, не должны повторяться в тексте реферата. Следует избегать лишних вводных фраз (например, «автор статьи рассматривает...»). Исторические справки, если они не составляют основное содержание документа, описание ранее опубликованных работ и общеизвестные положения в реферате не приводятся.

В тексте реферата следует употреблять синтаксические конструкции, свойственные языку научных и технических документов, избегать сложных грамматических конструкций (не применимых в научном английском языке).

В тексте реферата на английском языке следует применять терминологию, характерную для иностранных специальных текстов. Следует избегать употребления терминов, являющихся прямой калькой русскоязычных терминов. Необходимо соблюдать единство терминологии в пределах реферата.

В тексте реферата следует применять значимые слова из текста статьи.

Сокращения и условные обозначения, кроме общеупотребительных (в том числе в англоязычных специальных текстах), применяют в исключительных случаях или дают их определения при первом употреблении.

Единицы физических величин следует приводить в международной системе СИ.

Допускается приводить в круглых скобках рядом с величиной в системе СИ значение величины в системе единиц, использованной в исходном документе.

Таблицы, формулы, чертежи, рисунки, схемы, диаграммы включаются только в случае необходимости, если они раскрывают основное содержание документа и позволяют сократить объем реферата.

Формулы, приводимые неоднократно, могут иметь порядковую нумерацию, причем нумерация формул в реферате может не совпадать с нумерацией формул в оригинале.

В реферате не делаются ссылки на номер публикации в списке литературы к статье.

Объем текста реферата в рамках общего положения определяется содержанием документа (объемом сведений, их научной ценностью и/или практическим значением).

ВЫДЕРЖКА ИЗ РЕКОМЕНДАЦИЙ

АВТОРАМ ЖУРНАЛОВ ИЗДАТЕЛЬСТВА EMERALD

(<http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm>)

Авторское резюме (реферат, abstract) является кратким резюме большей по объему работы, имеющей научный характер, которое публикуется в отрыве от основного текста и, следовательно, само по себе должно быть понятным без ссылки на саму публикацию. Оно должно излагать существенные факты работы, и не должно преувеличивать или содержать материал, который отсутствует в основной части публикации.

Авторское резюме выполняет функцию справочного инструмента (для библиотеки, реферативной службы), позволяющего читателю понять, следует ли ему читать или не читать полный текст.

Авторское резюме включает:

1. Цель работы в сжатой форме. Предыстория (история вопроса) может быть приведена только в том случае, если она связана контекстом с целью.

2. Кратко излагая основные факты работы, необходимо помнить следующие моменты:

– необходимо следовать хронологии статьи и использовать ее заголовки в качестве руководства;

– не включать несущественные детали (см. пример «Как не надо писать реферат»);

– вы пишете для компетентной аудитории, поэтому вы можете использовать техническую (специальную) терминологию вашей дисциплины, четко излагая свое мнение и имея также в виду, что вы пишете для международной аудитории;

– текст должен быть связным с использованием слов «следовательно», «более того», «например», «в результате» и т.д. («consequently», «moreover», «for example», «the benefits of this study», «as a result» etc.), либо разрозненные излагаемые положения должны логично вытекать один из другого;

– необходимо использовать активный, а не пассивный залог, т.е. «The study tested», но не «It was tested in this study» (частая ошибка российских аннотаций);

– стиль письма должен быть компактным (плотным), поэтому предложения, вероятнее всего, будут длиннее, чем обычно.

Примеры, как не надо писать реферат, приведены на сайте издательства

(<http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=3&>). Как

видно из примеров, не всегда большой объем означает хороший реферат.

На сайте издательства также приведены примеры хороших рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи)

<http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESID=hdac5rtdk73ae013ofk4g8nrv1>.

*(В соответствии с рекомендациями О.В. Кирилловой, к.т.н., заведующей отделением
ВИНИТИ РАН члена Экспертного совета (CSAB) БД SCOPUS)*

ПРИСТАТЕЙНЫЕ СПИСКИ ЛИТЕРАТУРЫ

Списки литературы представляются в двух вариантах:

1. В соответствии с ГОСТ Р 7.0.5 2008 (русскоязычный вариант вместе с зарубежными источниками).

2. Вариант на латинице, повторяя список литературы к русскоязычной части, независимо от того, имеются или нет в нем иностранные источники.

Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов, следовательно (по цепочке) – организации, региона, страны. По цитированию журнала определяется его научный уровень, авторитетность, эффективность деятельности его редакционного совета и т.д. Из чего следует, что наиболее значимыми составляющими в библиографических ссылках являются фамилии авторов и названия журналов. Причем для того, чтобы все авторы публикации были учтены в системе, необходимо в описание статьи вносить всех авторов, не сокращая их тремя, четырьмя и т.п. Заглавия статей в этом случае дают дополнительную информацию об их содержании и в аналитической системе не используются, поэтому они могут опускаться.

Zagurenko A.G., Korotovskikh V.A., Kolesnikov A.A., Timonov A.V., Kardymon D.V. *Neftyanoe khozyaistvo – Oil Industry*, 2008, no. 11, pp. 54–57.

Такая ссылка позволяет проводить анализ по авторам и названию журнала, что и является ее главной целью.

Ни в одном из зарубежных стандартов на библиографические записи не используются разделительные знаки, применяемые в российском ГОСТе («//» и «—»).

В Интернете существует достаточно много бесплатных программ для создания общепринятых в мировой практике библиографических описаний на латинице.

Ниже приведены несколько ссылок на такие сайты:

<http://www.easybib.com/>

<http://www.bibme.org/>

<http://www.sourceaid.com/>

При составлении списков литературы для зарубежных БД важно понимать, что чем больше будут ссылки на российские источники соответствовать требованиям, предъявляемым к иностранным источникам, тем легче они будут восприниматься системой. И чем лучше в ссылках будут представлены авторы и названия журналов (и других источников), тем точнее будут статистические и аналитические данные о них в системе SCOPUS.

Ниже приведены примеры ссылок на российские публикации в соответствии с вариантами описанными выше.

Статьи из журналов:

Zagurenko A.G., Korotovskikh V.A., Kolesnikov A.A., Timonov A.V., Kardymon D.V. *Neftyanoe khozyaistvo – Oil Industry*, 2008, no. 11, pp. 54–57.

Dyachenko, V.D., Krivokolysko, S.G., Nesterov, V.N., and Litvinov, V.P., *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1996, no. 9, p. 1243

Статьи из электронных журналов описываются аналогично печатным изданиям с дополнением данных об адресе доступа.

Пр и м е р описания статьи из электронного журнала:

Swaminathan V., Lepkoswka-White E., Rao B.P., *Journal of Computer-Mediated Communication*, 1999, Vol. 5, No. 2, available at: www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2.

Материалы конференций:

Usmanov T.S., Gusmanov A.A., Mullagalin I.Z., Muhametshina R.Ju., Chervyakova A.N., Sveshnikov A.V. *Trudy 6 Mezhdunarodnogo Simpoziuma «ovyе resursosberegayushchie tekhnologii nedropol'zovaniya i povysheniya neftegazootdachi»* (Proc. 6th Int. Technol. Symp. «New energy saving subsoil technologies and the increasing of the oil and gas impact»). Moscow, 2007, pp. 267–272.

Главное в описаниях конференций – название конференции на языке оригинала (в транслитерации, если нет ее английского названия), выделенное курсивом. В скобках дается перевод названия на английский язык. Выходные данные (место проведения конференции, место издания, страницы) должны быть представлены на английском языке.

Книги (монографии, сборники, материалы конференций в целом):

Belaya kniga po nanotekhnologiyam: issledovaniya v oblasti nanochastits, nanostruktur i nanokompozitov v Rossiiskoi Federatsii (po materialam Pervogo Vserossiiskogo soveshchaniya uchenykh, inzhenerov i proizvoditelei v oblasti nanotekhnologii [White Book in Nanotechnologies: Studies in the Field of Nanoparticles, Nanostructures and Nanocomposites in the Russian Federation: Proceedings of the First All-Russian Conference of Scientists, Engineers and Manufacturers in the Field of Nanotechnology]. Moscow, LKI, 2007.

Nenashev M.F. *Poslednee pravitel'tvo SSSR* [Last government of the USSR]. Moscow, Krom Publ., 1993. 221 p.

From disaster to rebirth: the causes and consequences of the destruction of the Soviet Union [Ot katastrofy k vrozozhdeniju: prichiny i posledstviya razrusheniya SSSR]. Moscow, HSE Publ., 1999. 381 p.

Kanevskaya R.D. *Matematicheskoe modelirovanie gidrodinamicheskikh protsessov razrabotki mestorozhdenii uglevodorodov* (Mathematical modeling of hydrodynamic processes of hydrocarbon deposit development). Izhevsk, 2002. 140 p.

Latyshev, V.N., *Tribologiya rezaniya. Kn. 1: Friksionnye protsessy pri rezanie metallov* (Tribology of Cutting, Vol. 1: Frictional Processes in Metal Cutting), Ivanovo: Ivanovskii Gos. Univ., 2009.

Ссылка на Интернет-ресурс:

APA Style (2011), Available at: <http://www.apastyle.org/apa-style-help.aspx> (accessed 5 February 2011).

Pravila Tsitirovaniya Istochnikov (Rules for the Citing of Sources) Available at: <http://www.scribd.com/doc/1034528/> (accessed 7 February 2011)

Как видно из приведенных примеров, чаще всего, название источника, независимо от того, журнал это, монография, сборник статей или название конференции, выделяется курсивом. Дополнительная информация – перевод на английский язык названия источника приводится в квадратных или круглых скобках шрифтом, используемым для всех остальных составляющих описания.

Из всего выше сказанного можно сформулировать следующее краткое резюме в качестве рекомендаций по составлению ссылок в романском алфавите в англоязычной части статьи и пристатейной библиографии, предназначенной для зарубежных БД:

1. Отказаться от использования ГОСТ 5.0.7. Библиографическая ссылка;
2. Следовать правилам, позволяющим легко идентифицировать 2 основных элемента описаний – авторов и источник.
3. Не перегружать ссылки транслитерацией заглавий статей, либо давать их совместно с переводом.
4. Придерживаться одной из распространенных систем транслитерации фамилий авторов, заглавий статей (если их включать) и названий источников.
5. При ссылке на статьи из российских журналов, имеющих переводную версию, лучше давать ссылку на переводную версию статьи.

*(В соответствии с рекомендациями О.В. Кирилловой, к.т.н., заведующей отделением
ВИНИТИ РАН члена Экспертного совета (CSAB) БД SCOPUS)*

Оплата издательских расходов составляет:

3500 руб. – для физических лиц;

4200 руб. – для юридических лиц.

Для оформления финансовых документов на юридические лица просим предоставлять ФИО директора или иного лица, уполномоченного подписывать договор, телефон (обязательно), реквизиты организации.

Банковские реквизиты:

Получатель: ООО «Организационно-методический отдел Академии Естествознания» или ООО «Оргметодотдел АЕ»*

* Иное сокращение наименования организации получателя не допускается. При ином сокращении наименования организации денежные средства не будут получены на расчетный счет организации!!!

ИНН 6453117343

КПП 645301001

р/с 40702810300540002324

Банк получателя: Саратовский филиал ОАО «Банк Москвы»

к/с 30101810300000000836

БИК 046311836

Назначение платежа*: Издательские услуги. Без НДС. ФИО автора.

***В случае иной формулировки назначения платежа будет осуществлен возврат денежных средств!**

Копия платежного поручения высылается по e-mail: edition@rae.ru или по факсу +7 (8412) 56-17-69.

**Библиотеки, научные и информационные организации,
получающие обязательный бесплатный экземпляр печатных изданий**

№	Наименование получателя	Адрес получателя
1.	Российская книжная палата	121019, г. Москва, Кремлевская наб., 1/9
2.	Российская государственная библиотека	101000, г. Москва, ул.Воздвиженка, 3/5
3.	Российская национальная библиотека	191069, г. Санкт-Петербург, ул. Садовая, 18
4.	Государственная публичная научно-техническая библиотека Сибирского отделения Российской академии наук	630200, г. Новосибирск, ул. Восход, 15
5.	Дальневосточная государственная научная библиотека	680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 1/72
6.	Библиотека Российской академии наук	199034, г. Санкт-Петербург, Биржевая линия, 1
7.	Парламентская библиотека аппарата Государственной Думы и Федерального собрания	103009, г. Москва, ул.Охотный ряд, 1
8.	Администрация Президента Российской Федерации. Библиотека	103132, г. Москва, Старая пл., 8/5
9.	Библиотека Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова	119899, г. Москва, Воробьевы горы
10.	Государственная публичная научно-техническая библиотека России	103919, г. Москва, ул.Кузнецкий мост, 12
11.	Всероссийская государственная библиотека иностранной литературы	109189, г. Москва, ул. Николяямская, 1
12.	Институт научной информации по общественным наукам Российской академии наук	117418, г. Москва, Нахимовский пр-т, 51/21
13.	Библиотека по естественным наукам Российской академии наук	119890, г. Москва, ул.Знаменка 11/11
14.	Государственная публичная историческая библиотека Российской Федерации	101000, г. Москва, Центр, Старосадский пер., 9
15.	Всероссийский институт научной и технической информации Российской академии наук	125315, г. Москва, ул.Усиевича, 20
16.	Государственная общественно-политическая библиотека	129256, г. Москва, ул.Вильгельма Пика, 4, корп. 2
17.	Центральная научная сельскохозяйственная библиотека	107139, г. Москва, Орликов пер., 3, корп. В
18.	Политехнический музей. Центральная политехническая библиотека	101000, г. Москва, Политехнический пр-д, 2, п.10
19.	Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова, Центральная научная медицинская библиотека	117418, г. Москва, Нахимовский пр-кт, 49
20.	ВИНИТИ РАН (отдел комплектования)	125190, г. Москва, ул. Усиевича,20, комн. 401.

ОБРАЗЕЦ КВИТАНЦИИ



Извещение	СБЕРБАНК РОССИИ <i>Форма № ПД-4</i>		
	ООО «Издательский Дом «Академия Естествознания»		
	(наименование получателя платежа)		
	ИНН 5836621480	40702810500001022115	
	(ИНН получателя платежа)	(номер счёта получателя платежа)	
	в Московский филиал ЗАО «Райффайзенбанк» г. Москва		
	(наименование банка получателя платежа)		
	БИК 044552603	30101810400000000603	
		(№ кор./сч. банка получателя платежа)	
	Ф.И.О. плательщика _____		
	Адрес плательщика _____		
	Издательские услуги. Без НДС. ФИО		
	(наименование платежа)		
	Кассир	Сумма платежа _____ руб. _____ коп.	Сумма оплаты за услуги _____ руб. _____ коп.
Итого _____ руб. _____ коп.		«_____» _____ 201__ г.	
С условиями приёма указанной в платёжном документе суммы, в т.ч. суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен			
Подпись плательщика _____			
Квитанция		СБЕРБАНК РОССИИ <i>Форма № ПД-4</i>	
		ООО «Издательский Дом «Академия Естествознания»	
		(наименование получателя платежа)	
		ИНН 5836621480	40702810500001022115
		(ИНН получателя платежа)	(номер счёта получателя платежа)
		в Московский филиал ЗАО «Райффайзенбанк» г. Москва	
		(наименование банка получателя платежа)	
		БИК 044552603	30101810400000000603
			(№ кор./сч. банка получателя платежа)
		Ф.И.О. плательщика _____	
	Адрес плательщика _____		
	Издательские услуги. Без НДС. ФИО		
	(наименование платежа)		
	Кассир	Сумма платежа _____ руб. _____ коп.	Сумма оплаты за услуги _____ руб. _____ коп.
Итого _____ руб. _____ коп.		«_____» _____ 201__ г.	
С условиями приёма указанной в платёжном документе суммы, в т.ч. суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен			
Подпись плательщика _____			

