

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ № 12 2013
ИССЛЕДОВАНИЯ Часть 1
Научный журнал

Электронная версия
www.fr.rae.ru
12 выпусков в год
Импакт фактор
РИНЦ – 0,193

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

ГЛАВНАЯ РЕДАКЦИЯ
д.м.н., профессор Ледванов М.Ю.
д.м.н., профессор Курзанов А.Н.
д.ф.-м.н., профессор Бичурин М.И.
д.б.н., профессор Юров Ю.Б.
д.б.н., профессор Ворсанова С.Г.
к.ф.-м.н., доцент Меглинский И.В.

АДРЕС РЕДАКЦИИ
440026, г. Пенза,
ул. Лермонтова, 3
Тел/Факс редакции 8 (8452)-47-76-77
e-mail: edition@rae.ru

Директор
к.м.н. Стукова Н.Ю.

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

Подписано в печать 03.12.2013

Формат 60x90 1/8
Типография
ИД «Академия Естествознания»
440000, г. Пенза,
ул. Лермонтова, 3

Технический редактор
Кулакова Г.А.
Корректор
Песчаскина Ю.А.

Усл. печ. л. 18,75.
Тираж 1000 экз. Заказ ФИ 2013/12
Подписной индекс
33297

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 Казимилова 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 Максимов В.Ю. (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)

Химические науки

д.х.н., профессор Брайнина Х.З. (Екатеринбург)
д.х.н., профессор Дубоносов А.Д. (Ростов-на-Дону)
д.х.н., профессор Полещук О.Х. (Томск)

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)

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 Бошенятов Б.В. (Москва)
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 Корячкина 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)

Геолого-минералогические науки

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

Искусствоведение

д. искусствоведения Казанцева Л.П. (Астрахань)

Филологические науки

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

Физико-математические науки

д.ф.-м.н., профессор Криштоп В.В. (Хабаровск)

Экономические науки

д.э.н., профессор Безрукова Т.Л. (Воронеж)
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)
д.э.н., профессор Щукин О.С. (Воронеж)

THE PUBLISHING HOUSE «ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

THE FUNDAMENTAL RESEARCHES

№ 12 2013
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

EDITORS-IN-CHIEF

Ledvanov M.Yu. *Russian Academy of Natural History (Moscow, Russian Federation)*

Kurzanov A.N. *Kuban' Medical Academy (Krasnodar Russian Federation)*

Bichurin M.I. *Novgorodskij Gosudarstvennyj Universitet (Nizhni Novgorod, Russian Federation)*

Yurov Y.B. *Moskovskij Gosudarstvennyj Universitet (Moscow, Russian Federation)*

Vorsanova S.G. *Moskovskij Gosudarstvennyj Universitet (Moscow, Russian Federation)*

Meglinskiy I.V. *University of Otago, Dunedin (New Zealand)*

Senior Director and Publisher

Bizenkova M.N.

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)
Maksimov V.Y. (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)

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)

Chemical sciences

Braynina H.Z. (Ekaterinburg)
Dubonosov A.D. (Rostov-na-Donu)
Poleschuk O.H. (Tomsk)

Foreign members of an editorial board

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

Technical sciences

Antonov A.V. (Obninsk)
Aryutov B.A. (Lower Novrogod)
Bichurin M.I. (Veliky Novgorod)
Boshenyatov B.V. (Moscow)
Vazhenin A.N. (Lower Novrogod)
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)

Art criticism

Kazantseva L.P. (Astrakhan)

Economic sciences

Bezruqova T.L. (Voronezh)
Zaretskij A.D. (Krasnodar)
Knyazeva E.G. (Ekaterinburg)
Kulikov N.I. (Tambov)
Savin K.N. (Tambov)
Shukin O.S. (Voronezh)

Philological sciences

Gadzhiahmedov A.E. (Dagestan)

Geologo-mineralogical sciences

Lebedev V.I. (Kyzyl)

Physical and mathematical sciences

Krishtop V.V. (Khabarovsk)

СОДЕРЖАНИЕ

Медицинские науки

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ШКАЛЫ «CAPRINI» ДЛЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЙ У ХИРУРГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ <i>Баринов В.Е., Лобастов К.В., Бояринцев В.В., Счастливец И.В.</i>	11
КОЛЕБАНИЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И КОРТИЗОЛА У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА <i>Баурина Ю.О., Майскова Е.А., Федотов Э.А., Шварц Ю.Г.</i>	17
АНТИОКСИДАНТНАЯ КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ <i>Брюханов В.М., Мирошниченко А.Г.</i>	22
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И ПРИЗНАКАМИ ВЕНОЗНОЙ ДИСФУНКЦИИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ СОСУДОВ <i>Буйлова Е.В., Котовицкова Е.Ф., Сютьжина Е.Н., Акимцева Е.А., Дугенец Г.В., Чудимов В.Ф.</i>	27
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ИНСУЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АТФ КРОВИ НА ФОНЕ ДИСЛИПИДЕМИИ У ДЕТЕЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ <i>Гурина А.Е., Микаелян Н.П., Кулаева И.О., Микаелян А.В., Терентьев А.А.</i>	30
ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У БОЛЬНЫХ ПОДАГРОЙ И ГИПЕРУРИКЕМИЕЙ <i>Иванова К.В., Майко О.Ю.</i>	35
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ГОЛЕНЕЙ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ДО И ПОСЛЕ ПАЛЛИАТИВНЫХ РЕВАСКУЛЯРИЗИРУЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ <i>Коровин А.Я., Базлов С.Б., Трифанов Н.А., Зайцева Т.А., Каримова Ю.Е., Лизогубов К.И.</i>	40
СОДЕРЖАНИЕ ДУБЛЬ-ПОЗИТИВНЫХ CD4+CD8+ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ТЯЖЕЛОБОЖЖЕННЫХ И БОЛЬНЫХ С ОСТЕОМИЕЛИТОМ <i>Лебедев М.Ю., Шолкина М.Н., Живцов О.П.</i>	45
ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ПРИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЯХ РАЗВИТИЯ СЕРДЦА <i>Логинова Н.П., Четвертных В.А., Семченко В.В., Чемурзиева Н.В., Хромцова Г.А.</i>	49
ТОННЕЛЬНАЯ ОСТЕОТОМИЯ ПРИ КОРРЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РИНОСКОЛИОЗА <i>Медведев В.А.</i>	54

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРИОЗНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАННЕЙ СТАДИИ КАРИЕСА И ПРОЦЕССА ЕГО НЕИНВАЗИВНОГО СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ	
<i>Русаков С.В., Беляев А.Ю., Гилева О.С., Изюмов Р.И., Муравьева М.А., Терпугов В.Н.</i>	58
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ЭДИЦИН» НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ	
<i>Сергеева Е.О., Терехов А.Ю., Доркина Е.Г., Саджая Л.А., Реккандт С.А., Скульте И.В., Папаяни О.И.</i>	65
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУР НЕЙРОМОТОРНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЛОКАЛЬНОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ И В УСЛОВИЯХ ДИСТРАКЦИОННОГО КРАНИООСТЕОСИНТЕЗА	
<i>Скрипников А.А., Криворучко Г.А., Шейн А.П.</i>	70
КАЧЕСТВО ЖИЗНИ КАК ПРЕДИКТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПОСТИНСУЛЬТНЫХ БОЛЬНЫХ	
<i>Солонец И.Л., Ефремов В.В.</i>	76
УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА И АДРЕНОКОРТИКОТРОПНОГО ГОРМОНА У ЛИЦ С КРИМИНАЛЬНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ	
<i>Тоцакова В.А., Вялова Н.М., Бойко А.С., Гусев С.И., Иванова С.А., Бохан Н.А.</i>	81
ХРОНИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ ПОЛОСТИ РТА КАК ФАКТОР РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ И НИЗКОГО ВЕСА ПЛОДА	
<i>Тригolos Н.Н., Фирсова И.В., Македонова Ю.А., Ергиева С.И.</i>	85
ВЫБОР ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННЫМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ ГРУДИ И СЕГМЕНТОВ КОНЕЧНОСТЕЙ	
<i>Хмара А.Д., Норкин И.А., Хмара Т.Г.</i>	89
ВЛИЯНИЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕРДЦА НА ПОДВИЖНОСТЬ НЕРВНЫХ ПРОЦЕССОВ	
<i>Черкасова С.А., Шварц Ю.Г.</i>	93
ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ И ПОЗДНИМ НЕЙРОСИФИЛИСОМ	
<i>Шепило С.А., Разнатовский К.И., Александров Н.Ю.</i>	99
СОДЕРЖАНИЕ МУЦИНОВ (MUC 5 AC, MUC 6) И ТРЕФОИЛОВОГО ПЕПТИДА-3 (TFF-3) В ЭНДОМЕТРИИ И ЦЕРВИКО-ВАГИНАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ У ЖЕНЩИН С ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ	
<i>Шестопалов А.В., Мирошниченко Ю.А., Рымашевский А.Н.</i>	104
Биологические науки	
ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА PIP5K2A С ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ	
<i>Вялова Н.М., Федоренко О.Ю., Лосенков И.С., Симуткин Г.Г., Иванова С.А., Бохан Н.А.</i>	107

ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СИНАПСОВ МЫШЦЫСТЫХ ВОЛОКОН ГИППОКАМПОВОЙ ФОРМАЦИИ В НОРМЕ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ЦИНК-ЙОД-ОСМИЕВОЙ ИМПРЕГНАЦИИ <i>Журавлева З.Н., Ермаков А.А., Журавлев Г.И.</i>	111
МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИПОТИРЕОИДНОГО СОСТОЯНИЯ У КРЫСЫ ПОСРЕДСТВОМ КОАГУЛЯЦИИ ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ ЩИТОВИДНОЙ АРТЕРИИ СПРАВА <i>Каде А.Х., Смянова Л.А., Лиева К.А., Занин С.А., Трофименко А.И., Джиджихия К.М.</i>	116
ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИПАЗЫ, ЭКСПРЕССИРОВАННОЙ В <i>ESCHERICHIA COLI</i> <i>Кригер А.В., Дышлок Л.С., Долганюк В.Ф., Зимица М.И., Асякина Л.К.</i>	122
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ РЯДА ЕНАМИНОВ И ИХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНАЛОГОВ В ОТНОШЕНИИ РЕФЕРЕНС-ШТАММОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ <i>Нечаева О.В., Шуриалова Н.Ф., Заярский Д.А., Тихомирова Е.И., Сорокин В.В., Вакараева М.М., Веденева Н.В.</i>	127
ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ ПАТОГЕННОСТИ СТАФИЛОКОККОВ КОЖИ <i>Фалова О.Е., Потатуркина-Нестерова Н.И., Ильина Е.Н.</i>	131
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ	135

CONTENTS
Medical sciences

CLINICAL VALIDATION OF CAPRINI VENOUS THROMBOEMBOLISM RISK ASSESMENT MODEL IN HIGH RISK SURGICAL PATIENTS <i>Barinov V.E., Lobastov K.V., Boyarintsev V.V., Schastlivtsev I.V.</i>	11
DAILY CHANGES IN THYROID HORMONE AND CORTISOL LEVELS IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION AND CORONARY HEART DISEASE <i>Baurina Y.O., Mayskova E.A., Fedotov E.A., Shvarts Y.G.</i>	17
ANTIOXIDANT CORRECTION OF TOXICITY OF ANTIBACTERIAL AGENTS AND THEIR EFFECTS ON FREE RADICAL OXIDATION <i>Bryukhanov V.M., Miroshnichenko A.G.</i>	22
OCCURRENCE OF GENETIC DEFECTS OF HEMOSTASIS SYSTEM AT PATIENTS WITH CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA AGAINST A CEREBRAL VENOUS DYSFUNCTION <i>Buylova E.V., Kotovschikova E.F., Syulzhina E.N., Akimseva E.A., Dugenes G.V., Chudimov V.F.</i>	27
RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF THE INSULIN RECEPTOR AND ATP BLOOD ON THE BACKGROUND OF CHILDREN DYSLIPIDEMIA IN DIABETES MELLITUS <i>Gurina A.E., Mikaelyan N.P., Kulayeva I.O., Mikaelyan A.V., Terentyev A.A.</i>	30
THE RELATIONSHIP OF HYPERTENSION, METABOLIC DISORDERS IN PATIENTS WITH GOUT AND ASYMPTOMATIC HYPERURICEMIA <i>Ivanova K.V., Mayko O.Y.</i>	35
MORPHOLOGICAL CHANGE MUSCULAR FABRICS SHANKS BESIDE SICK WITH CHRONIC ISCHEMIA OF THE LOWER LIMBS BEFORE AND AFTER PALLIATIVE REVASCULARIZING OPERATION <i>Korovin A.Y., Bazlov S.B., Trifanov N.A., Zaytceva T.A., Karimova Y.E., Lizogubov K.I.</i>	40
CONTENT OF DOUBLE-POSITIVE CD4+CD8+ LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH SEVERE BURNS AND PATIENTS WITH OSTEITIS <i>Lebedev M.Y., Sholkina M.N., Zhivshov O.P.</i>	45
IMMUNOCYTOCHEMICAL PECULIARITIES OF DIFFERENTIATION OF EPITHELIAL CELLS OF THE THYMUS IN INFANTS WITH FETAL DISORDERS OF THE HEART <i>Loginova N.P., Chetvertnykh V.A., Semchenko V.V., Chemurzieva N.V., Kxromtsova G.A.</i>	49
TUNNEL OSTEOTOMY WITH THE CORRECTION OF DIFFERENT TYPES OF RHINOSCOLIOSIS <i>Medvedev V.A.</i>	54
MATHEMATICAL MODELING OF PROCESSES IN THE EARLY CARIOUS STAGES OF DENTAL CARIES AND PROCESS OF NON-INVASIVE WAY TREATMENT <i>Rusakov S.V., Belyaev A.Y., Gileva O.S., Izyumov R.I., Muraveva M.A., Terpugov V.N.</i>	58

STUDYING OF INFLUENCE OF THE PREPARATION «EDICIN» ON INDICATORS OF PERIPHERAL BLOOD <i>Sergeeva E.O., Terekhov A.Y., Dorkina E.G., Sadzhaya L.A., Rekkandt S.A., Skulte I.V., Papayany O.I.</i>	65
FUNCTIONAL STATUS OF VARIOUS NEUROMOTOR SYSTEM STRUCTURES IN PATIENTS IN THE LATE PERIOD OF FOCAL CEREBRAL LESIONS AND UNDER DISTRACTION CRANIOOSTEOSYNTHESIS <i>Skripnikov A.A., Krivoruchko G.A., Shein A.P.</i>	70
QUALITY OF LIFE – AS A PREDICTOR OF EFFICIENCY OF REHABILITATION POST-STROKE PATIENTS <i>Solonets I.L., Efremov V.V.</i>	76
CORTISOL AND ADRENOCORTICOTROPIC HORMONE LEVEL IN MALE CRIMINALS <i>Toshchakova V.A., Vyalova N.M., Boyko A.S., Gusev S.I., Ivanova S.A., Bokhan N.A.</i>	81
CHRONIC INFECTIONS OF THE MOUTH AS A FACTOR THE RISK OF PREMATURE BIRTH AND LOW BIRTH WEIGHT <i>Trigolos N.N., Firsova I.V., Makedonova Y.A., Ergieva S.I.</i>	85
SELECT TREATMENT POLICY IN PATIENTS WITH COMBINED CHEST INJURIES AND LIMB SEGMENTS <i>Hmara A.D., Norkin I.A., Hmara T.G.</i>	89
THE INFLUENCE OF THE HEART' BIOELECTRIC ACTIVITY ON THE NERVOUS SYSTEM MOBILITY <i>Cherkasova S.A., Shvarts Y.G.</i>	93
CEREBRAL HEMODYNAMICS AT PATIENTS WITH EARLY AND LATE NEUROSYPHILIS <i>Shepilo S.A., Raznatovskiy K.I., Aleksandrov N.Y.</i>	99
THE CONCENTRATION OF MUCIN (MUC 5 AC, MUC 6) AND TREFOIL PEPTIDE-3 (TFF-3) IN THE ENDOMETRIUM AND CERVICO-VAGINAL SECRETIONS OF WOMEN WITH PHYSIOLOGICAL PREGNANCY <i>Shestopalov A.V., Miroshnichenko Y.A., Rymashevskiy A.N.</i>	104

Biological sciences

STUDY OF ASSOCIATION OF PIP5K2A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE DISORDERS <i>Vyalova N.M., Fedorenko O.Y., Losenkov I.S., Simutkin G.G., Ivanova S.A., Bokhan N.A.</i>	107
CYTOCHEMICAL STUDY OF MOSSY FIBER SYNAPSES IN INTACT HIPPOCAMPAL FORMATION AND AFTER TRANSPLANTATION BY THE ZINC- IODIDE-OSMIUM IMPREGNATION <i>Zhuravleva Z.N., Ermakov A.A., Zhuravlev G.I.</i>	111
GIPOTIREOID MODELLING OF THE CONDITION AT THE RAT BY MEANS OF COAGULATION OF THE TOP AND BOTTOM THYROID ARTERY ON THE RIGHT <i>Kade A.K., Smeyanova L.A., Liyeva K.A., Zanin S.A., Trofimenko A.I., Dzhidzhikhiya K.M.</i>	116

ALLOCATION, CLEANING AND STUDYING OF PROPERTIES OF THE RECOMBINANT LIPASE, EXPRESSED IN ESCHERICHIA COLI <i>Kruger A.V., Dyshlyuk L.S., Dolganyuk V.F., Zimina M.I., Asyakina L.K.</i>	122
THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE ENAMINE COMPOUNDS AND THEIR MODIFIED ANALOGUES IN RESPECT OF THE REFERENCE STRAINS AND CLINICAL ISOLATES OF BACTERIA TO <i>Nechaeva O.V., Shurshalova N.F., Zayarskiy D.A., Tikhomirova E.I., Sorokin V.V., Vakaraeva M.M., Vedeneva N.V.</i>	127
INTERRELATION OF INTRASPECIFIC VARIETY AND GENETIC DETERMINANTS OF SKIN'S STAPHYLOCOCCUS PATHOGENICITY <i>Falova O.E., Potaturkina-Nesterova N.I., Ilina E.N.</i>	131
<i>RULES FOR AUTHORS</i>	135

УДК 617-089

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ШКАЛЫ «CAPRINI» ДЛЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЙ У ХИРУРГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Баринов В.Е., Лобастов К.В., Бояринцев В.В., Счастливцев И.В.

*Клиническая больница № 1 Управления делами президента РФ, Москва,
e-mail: lobastov_kv@mail.ru*

Цель исследования: оценить клиническую значимость модели Caprini в прогнозировании вероятности развития послеоперационных венозных тромбозов (ВТЭО) у пациентов из группы высокого риска. Материал и методы: проведено проспективное клиническое наблюдательное исследование с включением 140 пациентов хирургического профиля. Все больные подвергались большому абдоминальному (48%) или нейрохирургическому (52%) вмешательству и имели высокий риск развития послеоперационных ВТЭО в соответствии со стандартной стратификацией. При оценке по шкале Caprini больные получили 5–15 (в среднем $9,5 \pm 2,7$) баллов. Стандартная профилактика ВТЭО включала использование эластичной компрессии и введение прямых антикоагулянтов в различные сроки послеоперационного периода. С целью оценки проходимости венозной системы в первые 12 часов после операции и далее каждые 3–5 суток вплоть до выписки из стационара проводили компрессионное ультразвуковое ангиосканирование. Результаты: всего венозный тромбоз был диагностирован в 27,9% (95% ДИ: 20,5–35,3%) случаев. При этом была обнаружена средней силы достоверная корреляция между количеством баллов Caprini и частотой обнаружения тромбоза как среди всех больных ($\tau = 0,575 \pm 0,067, p < 0,0001$), так и внутри подгрупп общехирургических ($\tau = 0,586 \pm 0,059, p < 0,0001$) и нейрохирургических пациентов ($\tau = 0,537 \pm 0,091, p < 0,0001$). Также было выявлено, что среди больных с 10 и менее баллами тромбоз диагностировался достоверно реже, чем у пациентов с 11 и более баллами: 2,6% (95% ДИ: 0,7–9,0%) против 58,7% (95% ДИ: 46,4–70,0%, $p < 0,0001$). Заключение: количество баллов по шкале Caprini достоверно коррелирует с частотой развития послеоперационных венозных тромбозов в группе высокого риска. Наличие 11 и более баллов позволяет отнести пациента в группу «крайне высокого риска», в которой стандартная профилактика оказывается недостаточно эффективной.

Ключевые слова: венозный тромбоз, легочная эмболия, венозный тромбоземболизм, индивидуальная оценка риска, модель Caprini

CLINICAL VALIDATION OF CAPRINI VENOUS THROMBOEMBOLISM RISK ASSESMENT MODEL IN HIGH RISK SURGICAL PATIENTS

Barinov V.E., Lobastov K.V., Boyarintsev V.V., Schastlitssev I.V.

*Clinical Hospital no.1 of President's Administration of Russian Federation, Moscow,
e-mail: lobastov_kv@mail.ru*

The aim of the study was to make a clinical validation of Caprini venous thromboembolism risk assessment model in high risk surgical patients. Material and methods: it was a prospective observational study enrolled 140 patients after abdominal (48%) or cranial/spinal (52%) interventions with high risk of postoperative VTE according to a standard stratification models. Also all patients were assessed with Caprini model and had 5–15 (mean – $9,5 \pm 2,7$) scores. According to a standard protocols all patients had complex prevention of postoperative VTE, that included elastic compression of lower limbs and administration of heparins. Duplex ultrasound was performed at baseline and then every 3–5 days after surgery until discharge to assess the venous capacity. Results. The rate of postoperative DVT was 27,9% (95%CI: 20,5–35,3%). A middle strength significant correlation was found between the Caprini scores and the incidence of DVT among all patients ($\tau = 0,575 \pm 0,067, p < 0,0001$), patients after abdominal ($\tau = 0,586 \pm 0,059, p < 0,0001$) and spinal/cranial ($\tau = 0,537 \pm 0,091, p < 0,0001$) interventions. Also it was found that patients with less than 10 scores had lower rate of DVT in comparison with others who had 11 and more scores: 2,6% (95%CI: 0,7–9,0%) vs 58,7% (95% CI: 46,4–70,0%, $p < 0,0001$). Conclusion: there is a middle strength significant correlation between Caprini scores and rate of DVT in high risk surgical patients. Patients with 11 and more scores have very high («incredible») risk of VTE against the background of standard prophylaxis.

Keywords: venous thrombosis, pulmonary embolism, venous thromboembolism, prophylaxis, individual risk assessment, Caprini scores

Адекватное определение риска развития послеоперационных венозных тромбозов (ВТЭО), включающих венозный тромбоз (ВТ) и тромбоземболию легочной артерии (ТЭЛА), является одним из краеугольных камней их успешной профилактики. При этом стратификация риска может осуществляться как путем отнесения пациента к известным группам, демонстрирующим одинаковую

частоту развития ВТЭО без профилактики и сходную эффективность превентивных методик [1, 6, 11], так и путем учета индивидуальных предрасполагающих к тромбозу состояний. На сегодняшний день имеется несколько моделей индивидуальной оценки риска [5, 7, 8, 12], из которых наиболее удобной и проверенной является шкала американского профессора Joseph Caprini [4]. Данная система учитывает, как

предрасполагающие факторы, связанные с самим пациентом, так и провоцирующие, характеризующие оперативное вмешательство или основное заболевание, а также интеграцию и кумуляцию факторов риска (табл. 1). Шкала Caprini на сегодняшний день является наиболее подтвержденной. Ее валидность была оценена ретроспективными регистровыми исследованиями пациентов общехирургического, сосудистого, урологического, оториноларингологического профилей, а также подвергающихся пластической и реконструктивной хирургии и получающих интенсивную терапию общим количеством более 16 тысяч наблюдений [3, 9, 1013]. При этом во всех исследованиях была найдена четкая корреляция между количеством баллов и частотой верификации венозного тромбоза. Между тем в традиционной группе высокого риска проспективная оценка клинической ценности данной шкалы до сих пор не проводилась.

Цель исследования: оценить клиническую значимость модели Caprini в прогнозировании вероятности развития послеоперационных венозных тромбозных осложнений у пациентов из группы высокого риска.

Материалы и методы исследования

Проведено проспективное клиническое наблюдательное исследование в период 2008–2013 гг. В исследование включались пациенты из группы традиционно высокого риска развития послеоперационных ВТЭО, стратифицированные в соответствии с «Российскими клиническими рекомендациями по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозных осложнений» [1]. Критериями исключения из исследования были: необходимость применения лечебных доз прямых антикоагулянтов, постоянный дооперационный прием антикоагулянтов, коагулопатия, тромбоцитопения, геморрагический синдром (не связанные с ДВС-синдромом), перенесенная парциальная окклюзия нижней полой вены, инфекции мягких тканей нижних конечностей, лодыжечно-плечевой индекс менее 0,9 или более 1,3, летальный исход в течение первых 5 суток наблюдения.

Таблица 1

Модель индивидуальной оценки риска развития ВТЭО по Caprini

1 балл	2 балла
<input type="checkbox"/> Возраст 41–60 лет <input type="checkbox"/> Отек нижних конечностей <input type="checkbox"/> Варикозные вены <input type="checkbox"/> Индекс массы тела более 25 кг/м ² <input type="checkbox"/> Малое хирургическое вмешательство <input type="checkbox"/> Сепсис (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Серьезное заболевание легких (в т.ч. пневмония давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Прием оральных контрацептивов, гормонозаместительная терапия <input type="checkbox"/> Беременность и послеродовой период (до 1 мес.) <input type="checkbox"/> В анамнезе: необъяснимые мертворождения, выкидыши (≥ 3), преждевременные роды с токсикозом или задержка внутриутробного развития <input type="checkbox"/> Острый инфаркт миокарда <input type="checkbox"/> Хроническая сердечная недостаточность (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Постельный режим у нехирургического пациента <input type="checkbox"/> Воспалительные заболевания толстой кишки в анамнезе <input type="checkbox"/> Большое хирургическое вмешательство давностью до 1 мес. в анамнезе <input type="checkbox"/> Хроническая обструктивная болезнь легких	<input type="checkbox"/> Возраст 61–74 года <input type="checkbox"/> Артроскопическая хирургия <input type="checkbox"/> Злокачественное новообразование <input type="checkbox"/> Лапароскопическое вмешательство (длительностью более 45 мин.) <input type="checkbox"/> Постельный режим более 72 часов <input type="checkbox"/> Имобилизация конечности (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Катетеризация центральных вен <input type="checkbox"/> Большая хирургия (длительностью более 45 мин)
	3 балла
	<input type="checkbox"/> Возраст старше 75 лет <input type="checkbox"/> Личный анамнез ВТЭО <input type="checkbox"/> Семейный анамнез ВТЭО <input type="checkbox"/> Мутация типа Лейден <input type="checkbox"/> Мутация протромбина 20210А <input type="checkbox"/> Гипергомоцистеинемия <input type="checkbox"/> Гепарин-индуцированная тромбоцитопения <input type="checkbox"/> Повышенный уровень антител к кардиолипину <input type="checkbox"/> Волчаночный антикоагулянт
	5 баллов
<input type="checkbox"/> Стратификация риска: <input type="checkbox"/> Низкий риск: 0–1 балл <input type="checkbox"/> Умеренный риск: 2 балла <input type="checkbox"/> Высокий риск: 3–4 балла <input type="checkbox"/> Крайне высокий риск: 5 и более баллов	<input type="checkbox"/> Инсульт (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Множественная травма (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Эндопротезирование крупных суставов <input type="checkbox"/> Перелом костей бедра и голени (давностью до 1 мес.) <input type="checkbox"/> Травма спинного мозга/паралич (давностью до 1 мес.)

Всего было включено 140 пациентов: 68 мужчин и 72 женщины в возрасте от 40 до 83 лет (средний возраст – $62,9 \pm 12,2$ лет), имевших общехирургическую (67 случаев) или нейрохирургическую (73 случая) патологию. Характер основного заболевания

представлен в табл. 2. Всем пациентам выполнялось «большое» оперативное вмешательство продолжительностью от 1 до 8 часов (в среднем $3,0 \pm 1,5$ часа) под эндотрахеальным наркозом. Характер оперативных пособий представлен в табл. 3.

Таблица 2

Распределение пациентов по характеру основного заболевания

Характер основной патологии	<i>n</i>
Опухоль головного мозга и мозговых оболочек	7
Паренхиматозное внутричерепное кровоизлияние	24
Нетравматическое субарахноидальное, субарахноидально-паренхиматозное кровоизлияние	23
Травматическое внутричерепное кровоизлияние	19
Гангрена тонкой кишки различной этиологии	12
Разлитой фибринозно-гнойный перитонит различной этиологии	13
Злокачественные новообразования пищеварительного тракта	38
Проникающие ранения органов грудной и брюшной полости	4
Всего	140

Таблица 3

Характеристика выполненных оперативных вмешательств

Характер перенесенного оперативного вмешательства	<i>n</i>
Костно-пластическая трепанация, удаление внутричерепной опухоли	7
Костно-пластическая трепанация, клипирование аневризмы	22
Костно-пластическая или фрезевая трепанация, удаление гематомы	34
Наружное вентрикулярное дренирование	10
Лапаротомия с резекцией отделов пищеварительного тракта	44
Лапаротомия с удалением воспаленного органа	9
Лапаротомия с наложением дигестивного анастомоза	10
Лапаротомия и/или торакотомия, восстановление целостности паренхиматозных органов	4
Всего	140

Помимо стандартной стратификации риска развития ВТЭО все пациенты были оценены по балльной системе Carini (табл. 1) и получили от 5 до 15 баллов, в среднем $9,5 \pm 2,7$ баллов, что определило их принадлежность к группе «крайне высокого риска» по Carini.

Всем пациентам проводили комплексную профилактику ВТЭО, которая включала в себя использование прямых антикоагулянтов и эластичную компрессию. Эластичную компрессию нижних конечностей проводили с использованием госпитального противоэмболического трикотажа с давлением 18–21 мм рт. ст. на уровне лодыжки в 45,7% случаев, а у оставшихся 54,3% пациентов применяли компрессионный бандаж из бинтов длинной растяжимости.

Прямые антикоагулянты в стандартных профилактических дозах (гепарин 5000 ЕД п/к 3 р/день, эноксапарин 40 мг п/к 1 р/день, надропарин 0,6 мл п/к 1 р/день) начинали вводить либо с первых суток послеоперационного периода (через 6 часов после операции для НФГ или в течение 12–24 часов для НМГ) в 49,3% случаев. У 31,4% пациентов первую инъекцию препарата производили на 2–5-е сутки послеоперационного периода в связи с нестабильностью гемостаза в зоне оперативного вмешательства. В отдельных случаях (19,3%) пациенты имели крайне высокий риск геморрагических осложнений, что требовало отказа от введения гепаринов на протяжении всего срока наблюдения. В большинстве случаев использовали мини-дозы нефракционированного гепарина (74,3%), в меньшей степени применяли НМГ (25,7%).

Комплексная превентивная программа по предотвращению ВТЭО продолжалась на протяжении всего срока пребывания в стационаре, что соответствовало

сроку наблюдения, медиана которого равна 16 суткам с интерквартильным размахом 14–25,5 суток.

Частоту развития послеоперационных ВТЭО оценивали путем выполнения скринингового ультразвукового ангиосканирования в течение первых 12 часов после операции и далее каждые 3–5 суток до выписки из стационара. В случае обнаружения венозного тромбоза легочную эмболию исключали выполнением статической перфузионной сцинтиграфии легких и/или ЭХО-кардиографии. Скончавшимся пациентам проводили секционное исследование.

Статистическую обработку данных проводили в программном пакете SPSS Statistic 21.0. Все абсолютные величины приведены в виде средних значений со стандартным отклонением или медианы с интерквартильным размахом (25–75 перцентиль). Относительные величины приведены в виде процентов с 95% доверительным интервалом (ДИ), рассчитанным стандартным способом или методом Вилсона. Сравнение относительных величин произведено с помощью критерия хи-квадрат с поправкой на непрерывность. Корреляцию оценивали с помощью критерия Кендалла. Значимыми признавали отличия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

На фоне проведенных стандартных профилактических мероприятий венозный тромбоз был зарегистрирован у 39 пациентов, что составило 27,9% (95% ДИ: 20,5–35,3%). Проксимальную тромботическую окклюзию наблюдали у 12 больных

(8,6; 95% ДИ: 3,9–13,2%), легочную эмболию – в 13 случаях (9,3; 95% ДИ: 4,5–14,1%).

Взаимосвязь между баллами Carini и частотой развития ВТ представлена в табл. 4. Была выявлена средней силы и высокой достоверности корреляция

между количеством баллов и частотой верификации тромбоза как среди всей выборки ($\tau = 0,575 \pm 0,067$, $p < 0,0001$), так и внутри подгрупп общехирургических ($\tau = 0,586 \pm 0,059$, $p < 0,0001$) и нейрохирургических пациентов ($\tau = 0,537 \pm 0,091$, $p < 0,0001$).

Таблица 4

Частота верификации послеоперационных тромбозов в зависимости от количества баллов Carini

Кол-во факторов риска	Баллы шкалы Carini			
	5–7	8–10	11–12	13–15
<i>n</i>	41	37	41	22

Подгруппа пациентов	Частота развития ВТ							
	%	95% ДИ	%	95% ДИ	%	95% ДИ	%	95% ДИ
Вся выборка	2,5	0,4–12,9	2,7	0,5–13,8	51,2	36,4–65,7	72,7	51,8–86,8
Нейрохирургия	4,5	0,8–21,7	9,1	1,6–37,8	60,0	40,7–76,6	60,0	40,7–76,6
Общая хирургия	0	0–16,1	0	0–22,8	41,2	40,7–76,6	100	70,0–100

Примечание. $P < 0,0001$ при сравнении внутри всех подгрупп.

Было обнаружено, что критической величиной, значительно повышающей вероятность развития венозного тромбоза внутри всей популяции, стал уровень в 10 баллов по шкале Carini: у пациентов, имеющих 10 и менее баллов, частота ВТ составила 2,6% (95% ДИ: 0,7–9,0%) против 58,7% (95% ДИ: 46,4–70,0%) у пациентов с 11-ю и более баллами ($p < 0,0001$). У больных общехирургического профиля тромбозы вообще не диагностировались при числе баллов менее 10. У пациентов нейрохирургического профиля различия между подгруппами с 5–7 баллами и 8–10 достигли уровня статической значимости.

Таким образом, критическим уровнем, значительно увеличивающим риск развития послеоперационного ВТ на фоне проведения стандартной профилактики, стала величина в 11 и более баллов шкалы Carini как для общехирургических, так и для нейрохирургических пациентов. В то же время у больных с меньшим числом баллов тромбозы развивались достоверно реже, что свидетельствует о высокой эффективности проведенных профилактических мероприятий. На основании этого можно заключить, что наличие у пациента 11 + баллов по шкале Carini можно считать достаточным для причисления его к группе крайне высокого риска в соответствии со стандартной стратификацией или «incredible risk» в соответствии со стратификацией Carini, у которой стандартные превентивные подходы оказываются недостаточно эффективными.

По данным литературы, пациенты с высоким риском венозных тромбозов

составляют до 41% популяции хирургического стационара [2]. Однако категория высокого риска весьма неоднородная. В соответствии с «Российскими клиническими рекомендациями...» [1] к этой группе относятся все пациенты старше 60 лет, перенесшие большое хирургическое вмешательство, а также пациенты в возрасте 40–60 лет с дополнительными факторами риска после аналогичной операции. Между тем риск венозных тромбозов у пациента 62 лет после открытой холецистэктомии продолжительностью 65 минут и пациента 82 лет с внутримозжечковым кровоизлиянием, перенесшего интракраниальное вмешательство длительностью более 6 часов, находящегося пять дней в отделении реанимации в бессознательном состоянии на аппарате ИВЛ и имеющего паралич нижних конечностей в реальности не может быть одинаковым. Именно поэтому вопрос индивидуальной стратификации риска развития ВТЭО на протяжении многих лет остается актуальной проблемой.

Стандартные системы стратификации риска предполагают причисление пациента к определенной группе, характеризующейся сходной частотой развития послеоперационных тромбозов и известной на основании проведенных клинических исследований эффективностью профилактических мероприятий. Так, например, пациенты нейрохирургического профиля характеризуются крайне высоким риском развития послеоперационных ВТЭО при отсутствии профилактики и высокой эффективностью применения методов

активного ускорения кровотока, например, интермиттирующей пневматической компрессии. В то же время пациенты после операций по поводу злокачественных новообразований также демонстрируют высокую частоту выявления венозных тромбозов без профилактики, которая существенно снижается при назначении прямых антикоагулянтов. Но к какой группе отнести пациента со злокачественным новообразованием внутричерепной локализации? На этот вопрос стандартная система стратификации риска не может дать ответ, поэтому ответственность за принятое решение падает на врача. В то же время этот вопрос может быть разрешен с использованием индивидуальных моделей оценки риска. На наш взгляд, наиболее приемлемой и удобной системой является использованная модель Caprini. Она учитывает не только удельный вес каждого предрасполагающего к тромбозу состояния, известный из многочисленных широких эпидемиологических исследований, но и кумуляцию и интеграцию факторов риска. Так, например, пациент в возрасте 41–60 лет с наличием еще трех дополнительных факторов риска (ожирение, варикозные вены, сердечная недостаточность), подвергаясь малому хирургическому вмешательству, набирает 5 баллов и попадает в группу крайне высокого риска с вероятностью развития фатальной легочной эмболии, достигающей 5% [4]. В то же время по стандартной стратификации такой пациент должен попасть в группу умеренного риска с вероятностью фатальной эмболии в 10 раз меньше [1, 6, 11]. Соответственно, использование стандартной для группы умеренного риска схемы профилактики может привести к недостаточной ее эффективности. Как пишет в своей работе профессор Joseph Caprini: «Разве купит человек билет на самолет, зная, что у него есть 5% шанс разбиться?» [4].

Между тем у модели Caprini в классическом варианте есть одно важное ограничение. Группа «крайне высокого риска» (5 и более баллов), в которую попали все обследованные нами пациенты с традиционным «высоким риском», оказалась весьма неоднородной. В ее составе встречались больные с относительно невысокой частотой верификации ВТ, что свидетельствует о достаточной эффективности превентивной программы, так и лица с чрезмерно высоким риском тромбоза, у которых стандартная профилактика оказалась недостаточно эффективной. При этом шкала Caprini позволила произвести четкую идентификацию данной наиболее тромбоопасной популяции внутри группы высокого риска. Ею оказались больные с 11-ю и более баллами,

вне зависимости от хирургического профиля. На наш взгляд, таких пациентов в связи с крайне высокой частотой развития послеоперационных тромбозов и сопряженной недостаточной эффективностью комплексной профилактики необходимо выделять в отдельную группу «крайне высокого риска» (или «incrediblerisk» в рамках модели Caprini) и в дальнейшем целенаправленно разрабатывать более эффективные профилактические методы и подходы с учетом данного контингента больных.

Выводы

1. Количество баллов по шкале Caprini умеренно и достоверно коррелирует с частотой развития послеоперационных ВТЭО у пациентов из группы высокого риска по стандартной стратификации.

2. Наличие 11 и более баллов Caprini достоверно повышает риск развития венозного тромбоза на фоне реализации стандартной превентивной программы, что позволяет выделить группу больных «крайне высокого риска» развития ВТЭО, у которой стандартная профилактика демонстрирует недостаточную эффективность.

Список литературы

1. Савельев В.С. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений / В.С. Савельев, Е.И. Чазов, Е.И. Гусев, А.И. Кириенко и др. // Флебология. – 2010. – № 1(2). – С. 5–6.
2. Anderson F.A. Jr. Estimated annual numbers of US acute-care hospital patients at risk for venous thromboembolism / Anderson F.A. Jr, Zayaruzny M., Heit J.A., et al. // Am J Hematol. 2007. – Sep. – № 82(9). – P. 777–82.
3. Bahl V.A. validation study of a retrospective venous thromboembolism risk scoring method / Bahl V., Hu H.M., Henke P.K., et al. // Ann Surg. – 2010 Feb. – № 251(2). – P. 344–50.
4. Caprini J.A. Thrombotic Risk Assessment: A Hybrid Approach [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.venousdisease.com / Publications / J.A. Caprini-Hybrid Approach 3-10-05.pdf](http://www.venousdisease.com/Publications/J.A.Caprini-Hybrid-Approach-3-10-05.pdf) (дата обращения: 20.11.13)
5. Cohen A.T. Assessment of venous thromboembolism risk and the benefit of thromboprophylaxis in medical patients. Cohen A.T., Alikhan R., Arcelus, et al. // Thromb Haemost. – 2005. – № 94. – P. 750–759.
6. Guyatt GH. American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel. Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines / Guyatt G.H., Akl E.A., Crowther M., et al // Chest. 2012 Feb; 141(2 Suppl):7S-47S.
7. Kucher N. Electronic alerts to prevent venous thromboembolism among hospitalized patients / Kucher N., Koo S., Quiroz R., et al. // N Engl J Med. – 2005. – № 352. – P. 969–977.
8. McCaffrey R. Development and testing of a DVT risk assessment tool: providing evidence of validity and reliability / McCaffrey R., Bishop M., Adonis-Rizzo M., et al. // Worldviews Evid Based Nurs. – 2007. – № 4(1). – P. 14–20.
9. Obi A. T. Venous Thromboembolism Risk Assessment Scoring in the Critically Ill: The Impact of Misclassification. PS156. / Obi A. T., Alvarez R., Pannucci C., et al. // The

Abstracts of 2013 Annual Vascular meeting. URL: <http://www.vascularweb.org/educationandmeetings/2013-Vascular-Annual-Meeting/programdetail/Pages/Friday%20May%2031/PS156-Venous-Thromboembolism-Risk-Assessment-Scoring-in-the-Critically-Ill-The-Impact-of-Misclassification.aspx>.

10. Pannucci C.J. Validation of the Caprini risk assessment model in plastic and reconstructive surgery patients. / Pannucci C.J., Bailey S.H., Dreszer G., et al. // *J Am Coll Surg.* – 2011 Jan. – № 212(1). – P. 105–12.

11. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement. // *International Angiology.* – 2013 Apr. – № 32(2). – P. 111–260.

12. Rogers S.O. Multivariable predictors of postoperative venous thromboembolic events after general and vascular surgery: results from the Patient Safety in Surgery study / Rogers S.O., Kilaru R.K., Hosokawa P., et al. // *Am Coll Surg.* – 2007. – № 204. – P. 1211–1221.

13. Shuman A.G. Stratifying the risk of venous thromboembolism in otolaryngology / Shuman A.G., Hu H.M., Pannucci C.J., et al. // *Otolaryngol Head Neck Surg.* – 2012 May. – № 146(5). – P. 719–24.

References

1. Saveliev V.S., Chazov E.I., Gusev E.I., Kirienko A.I. *Flebologiya*, 2010, no. 1(2), pp. 5–6.

2. Anderson F.A. Jr, Zayaruzny M, Heit J.A., Fidan D., Cohen A.T. Estimated annual numbers of US acute-care hospital patients at risk for venous thromboembolism. *Am J Hematol.* 2007 Sep;82(9):777–82.

3. Bahl V., Hu H.M., Henke P.K., Wakefield T.W., Campbell D.A. Jr, Caprini J.A. A validation study of a retrospective venous thromboembolism risk scoring method. *Ann Surg.* 2010 Feb;251(2):344–50. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181b7fca6.

4. Caprini J.A. Thrombotic Risk Assessment: A Hybrid Approach. Available at: <http://www.venousdisease.com/Publications/JACaprini-HybridApproach3-10-05.pdf> (assessed 20 November 2013).

5. Cohen A.T., Alikhan R., Arcelus, et al. Assessment of venous thromboembolism risk and the benefit of thromboprophylaxis in medical patients. *Thromb Haemost.* 2005;94:750–759.

6. Guyatt G.H., Akl E.A., Crowther M., Gutterman D.D., Schünemann H.J.; American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel. Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians

Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012 Feb;141(2 Suppl):7S–47S.

7. Kucher N., Koo S., Quiroz R., et al. Electronic alerts to prevent venous thromboembolism among hospitalized patients. *N Engl J Med.* 2005;352:969–977.

8. McCaffrey R, Bishop M, Adonis-Rizzo M, et al. Development and testing of a DVT risk assessment tool: providing evidence of validity and reliability. *Worldviews Evid Based Nurs* 2007; 4(1):14–20.

9. Obi A T., Alvarez R., Pannucci C., Arya S., Nackashi A., Abdullah N., Bahl V., Napolitano L., Wakefield T.W., Henke P.K. Venous Thromboembolism Risk Assessment Scoring in the Critically Ill: The Impact of Misclassification. PS156. The Abstracts of 2013 Annual Vascular meeting. Available at: <http://www.vascularweb.org/educationandmeetings/2013-Vascular-Annual-Meeting/programdetail/Pages/Friday%20May%2031/PS156-Venous-Thromboembolism-Risk-Assessment-Scoring-in-the-Critically-Ill-The-Impact-of-Misclassification.aspx> (assessed 20 November 2013).

10. Pannucci C.J., Bailey S.H., Dreszer G., Fisher Wachtman C., Zumsteg J.W., Jaber R.M., Hamill J.B., Hume K.M., Rubin J.P., Neligan P.C., Kalliaian L.K., Hoxworth R.E., Pusic A.L., Wilkins E.G. Validation of the Caprini risk assessment model in plastic and reconstructive surgery patients. *J Am Coll Surg.* 2011 Jan;212(1):105–12.

11. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement. *International Angiology* 2013 April;32(2)111–260.

12. Rogers S.O., Kilaru R.K., Hosokawa P., et al. Multivariable predictors of postoperative venous thromboembolic events after general and vascular surgery: results from the Patient Safety in Surgery study. *Am Coll Surg.* 2007;204:1211–1221.

13. Shuman A.G., Hu H.M., Pannucci C.J., Jackson C.R., Bradford C.R., Bahl V. Stratifying the risk of venous thromboembolism in otolaryngology. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012 May; 146(5):719–24.

Рецензенты:

Брехов Е.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургии с курсами эндоскопии и урологии УНМЦ УДП РФ, г. Москва;
Калинников В.В., д.м.н., профессор кафедры хирургии с курсами эндоскопии и урологии УНМЦ УДП РФ, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.12-005.4:616.12-008.313.2:577.175.44:577.175.534]-07(045)

КОЛЕБАНИЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И КОРТИЗОЛА У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

¹Баурина Ю.О., ¹Майскова Е.А., ²Федотов Э.А., ¹Шварц Ю.Г.

¹ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского» Минздрава РФ, Саратов, e-mail: jul235@mail.ru;

²ООО «Медицинский Ди-центр», Саратов

Цель исследования. Изучить особенности изменений суточной секреции тиреоидных гормонов и кортизола у пациентов с пароксизмальной и персистирующей фибрилляцией предсердий на фоне ишемической болезни сердца и артериальной гипертонии. Материалы и методы. Исследовали уровень тиреотропного гормона, свободного трийодтиронина, кортизола пациентов ИБС, АГ и персистирующей ФП (основная группа) два раза в сутки (утром и вечером). Сравнивали колебания уровня гормонов в крови в течение дня у пациентов с различной длительностью ФП, частотой пароксизмов, датой последнего пароксизма. Группу сравнения составили 15 больных без нарушений ритма. Результаты. Изменения уровня ТТГ у пациентов основной группы совпадают с колебаниями кортизола, и достигают высоких значений утром и низких – вечером, при этом, не выходя за пределы нормы. Для свободного трийодтиронина характерна некоторая инверсия колебаний в течение дня. Характер описанных изменений зависит от наличия фибрилляции предсердий, а диапазон уровней тиреоидных гормонов в течение дня взаимосвязан с промежутком времени, прошедшим от последнего срыва ритма. У пациентов с недавним развитием пароксизма диапазон колебаний был более узким.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, щитовидная железа, биоритмы

DAILY CHANGES IN THYROID HORMONE AND CORTISOL LEVELS IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION AND CORONARY HEART DISEASE

¹Baurina Y.O., ¹Mayskova E.A., ²Fedotov E.A., ¹Shvarts Y.G.

¹Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: jul235@mail.ru;

²ООО «Meditsinskiy Di-tsentr», Saratov

We studied the particularities of the daily secretion of thyroid hormones and cortisol in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation (AF) against coronary heart disease and hypertension. Materials and methods. Examined the level of thyroid stimulating hormone (TSH), free triiodothyronine (T3) and cortisol levels in patients with coronary artery disease, hypertension and persistent AF (main group) twice a day (morning and evening). Compared the changes of hormone levels in the blood during the day in patients with different AF chronic, different frequency of paroxysms and the date of the last paroxysm. The comparison group consisted of 15 patients without arrhythmias. Results. Changes in the level of TSH in patients of the main group coincide with fluctuations of cortisol, and reach high values in the morning and the lowest – in the evening. At the same time, its value not departing from the norm. Free triiodothyronine has some typical inversion fluctuations during the day. The nature of these changes depends on the presence of atrial fibrillation. The range of levels of thyroid hormones during the day correlated with the time elapsed from the last failure rate. The fluctuation range of thyroid hormones was narrower in patients with a recent development paroxysm.

Keywords: thyroid, atrial fibrillation, biorhythms

В настоящее время ФП по-прежнему остается одним из самых распространенных и опасных нарушений ритма сердца [7]. Наиболее часто ФП развивается у больных ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией. Существует также достаточно данных о том, что тиреоидная дисфункция является одной из основных внекардиальных причин возникновения ФП [2].

Необходимо отметить, что обычно при оценке функции щитовидной железы проводят однократное определение уровня тиреоидных гормонов крови в утренние часы, хотя очевидно, что их значения могут в течение дня значительно колебаться. Известно также, что нарушения суточного ритма секреции могут быть одним из начальных проявлений субклинической патологии щитовидной железы.

По данным литературы, в норме ритм суточной секреции ТТГ и Т3 сходен с суточным ритмом кортизола и имеет высокие значения утром (между 6 и 10 часами) и низкие вечером и ночью (между 20 и 2 часами). Для тироксина достоверных данных о какой-либо ритмичности в течение суток не получено [1, 6].

Однако исследования колебаний гуморального статуса у пациентов с фибрилляцией предсердий практически не проводились. Можно предположить, что гормональные изменения в течение суток, влияя на адаптивные возможности организма, могут играть определенную роль в развитии нарушений сердечного ритма.

Таким образом, выдвинутая нами гипотеза о значении суточных изменений гуморального статуса в возникновении ФП требует специального анализа.

Цель исследования: изучить особенности изменений суточной секреции тиреотропина (ТТГ), свободного трийодтиронина (Т3св) и кортизола у пациентов ишемической болезнью сердца (ИБС) и артериальной гипертензией (АГ) с пароксизмальной и персистирующей фибрилляцией предсердий (ФП), но без клинических признаков тиреоидной дисфункции.

Материалы и методы исследования

В исследование включались пациенты моложе 75 лет, страдающие АГ, ИБС, осложненных пароксизмальной или персистирующей формой фибрилляции предсердий, находящиеся на лечении в отделениях кардиологии и терапии Клинической больницы им. С.Р. Миротворцева СГМУ. Из исследования исключались пациенты, имеющие активные воспалительные заболевания любой локализации, клинически манифестные гипотиреоз, тиреотоксикоз и аутоиммунный тиреоидит, декомпенсированную сердечную недостаточность; страдающие сахарным диабетом, онкологическими заболеваниями, перенесшие ОНМК в анамнезе. Пациенты, имеющие в анамнезе заболевания щитовидной железы, в том числе прооперированные, не исключались из исследования в случае, если они находились в состоянии эутиреоза и не требовали заместительной терапии.

Группу контроля составили пациенты, страдающие ИБС и АГ без явных нарушений ритма при тех же критериях исключения.

Всего в исследование включено 42 пациента, 30 из которых имели ФП (группа исследования) и 13 пациентов не имели нарушений ритма (группа сравнения). Возраст пациентов варьировался от 51 до 75 лет (средний возраст 64,8 лет). Длительность анамнеза ИБС и артериальной гипертензии в обеих группах была сопоставима.

Для характеристики клинического течения фибрилляции предсердий пациентов основной группы учитывались такие параметры, как частота пароксизмов, дата последнего пароксизма.

При анализе частоты развития пароксизмов ФП все больные основной группы были разделены на 3 подгруппы. Первую подгруппу составили пациенты с редкими (реже 1 раза в месяц) пароксизмами. Во вторую вошли пациенты, у которых эпизоды срыва ритма отмечались чаще, чем 1 раз в месяц, но не каждую неделю; третью составили лица с частыми (более 1 раза в неделю либо ежедневными) пароксизмами.

При учете даты последнего пароксизма пациенты также разделены на подгруппы. В первую вошли лица, у которых последний срыв ритма отмечался менее недели назад от момента осмотра (в основном пациенты, причиной госпитализации которых явился пароксизм ФП – 16 человек, 53 % от пациентов основной группы). Во вторую – пациенты с датой последнего срыва ритма более недели назад, в третью – более месяца назад.

Всем пациентам после стабилизации состояния на фоне синусового ритма выполняли лабораторный анализ крови и трансторакальную ЭХО-КГ.

Лабораторное исследование крови включало в себя определение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), свободного трийодтиронина (Т3св) и кортизола в сыворотке, взятой дважды в сутки (в 8.00

и 18.00) с использованием иммунохемилюминесцентного метода – на автоматическом анализаторе IMMULITE 1000 (Siemens, США). За нормальные значения ТТГ принимался уровень, входящий в рамки диапазона 0,4–4,0 мМЕ/л, референсный интервал для Т3св. 2,76–6,45 пмоль/л, для кортизола – утром 138–690 нмоль/л, вечером 69–345 нмоль/л. Выбор времени забора крови был обусловлен уже описанным характером суточных колебаний изучаемых гормонов с целью получения представления об их максимальных и минимальных значениях.

Для оценки диапазона колебаний уровня гормонов в течение суток определяли разницу между утренней и вечерней концентрациями ТТГ, Т3 и кортизола и выражали ее в % от утренней концентрации.

Трансторакальную ЭхоКГ выполняли по стандартной методике с помощью аппарата Philips iU22. Учитывали размеры камер сердца, фракцию выброса (ФВ) ЛЖ, уровень систолического давления в легочной артерии.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 6. Для сравнения групп пациентов использовали средние значения и однофакторный дисперсионный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение

Явных нарушений функции щитовидной железы у пациентов обеих групп выявлено не было. Представители основной и контрольной групп имели практически сходные эхокардиографические параметры, в том числе ФВ, размеры предсердий, уровень давления в легочной артерии. При этом данные существенно не отличались от характеристик, полученных у подобного контингента больных [3, 4, 9].

Обнаружено, что у всех исследуемых пациентов основной и контрольной групп секреция ТТГ и кортизола имеет сходные колебания с высокими значениями утром и низкими вечером, что совпадает с данными литературы [6, 8]. Значения не выходили за пределы нормы. Для трийодтиронина в обеих группах закономерных колебаний не получено. Вместе с тем отмечена тенденция к инверсии суточной секреции Т3 с более высокими значениями вечером у пациентов обеих групп. (табл. 1)

При изучении зависимости изменения уровня ТТГ от наличия ФП определено, что в группе пациентов с аритмией диапазон колебаний данного гормона несколько меньше ($p = 0,1$), чем в группе сравнения. При этом диапазон изменений Т3 и кортизола у пациентов двух групп различался не достоверно.

При сравнении колебаний уровня гормонов у пациентов с различной частотой рецидивирования пароксизмов достоверных различий не получено. При рассмотрении изменений тиреоидного статуса в зависимости от даты последнего пароксизма выявлены следующие особенности (табл. 2, рис. 1 и 2).

Таблица 1

Средние значения ТТГ, Т3, кортизола у пациентов с ФП и без нее (M ± SD)

	ТТГ утро	ТТГ вечер	ТТГ колебания (%)	Т3 утро	Т3 вечер	Т3% колеб.	Кортизол утро	Кортизол вечер	Корт.% колеб.
ФП n = 30	2,7 ± 3,0	2,3 ± 3,2	13 ± 0,21	4,5 ± 0,8	4,8 ± 1,4	-8,9 ± 0,42	438 ± 175	241 ± 104	40 ± 0,26
Группа сравнения n = 13	3,6 ± 2,6	2,7 ± 2,0	24 ± 0,22	4,9 ± 0,8	5,1 ± 1,0	-1,7 ± 0,19	366 ± 76	245 ± 129	30 ± 0,34
Значимость различий (p)	0,46	0,77	0,1	0,25	0,51	0,58	0,21	0,83	0,4

Таблица 2

Изменение значений ТТГ и кортизола в зависимости от давности последнего пароксизма ФП (M ± SD)

	Менее недели назад, n = 12	Более недели назад, n = 18	Группа сравнения, n = 13	Значимость различий (p)
ТТГ утро	3 ± 3,7	2,43 ± 1,3	3,61 ± 2,6	0,68
ТТГ вечер	2,79 ± 2,9	1,68 ± 1,1	2,72 ± 2,0	0,64
Колебания ТТГ (%)	4 ± 0,2	28 ± 0,2	26 ± 0,21	0,007
Т3 утро	4,61 ± 0,7	4,4 ± 1,1	4,92 ± 0,8	0,45
Т3 вечер	4,65 ± 0,9	5,28 ± 1,2	5,17 ± 1,4	0,36
Колебания Т3 (%)	3,6 ± 0,4	-31,1 ± 0,6	-1,7 ± 0,2	0,06
Кортизол утро	425,7 ± 173,9	455,8 ± 188,2	363,9 ± 76,0	0,42
Кортизол вечер	241,1 ± 118,9	237,1 ± 79,8	248,3 ± 129,7	0,97
Кортизол колебания (%)	40,7 ± 0,27	40,2 ± 0,26	31,5 ± 0,34	0,71

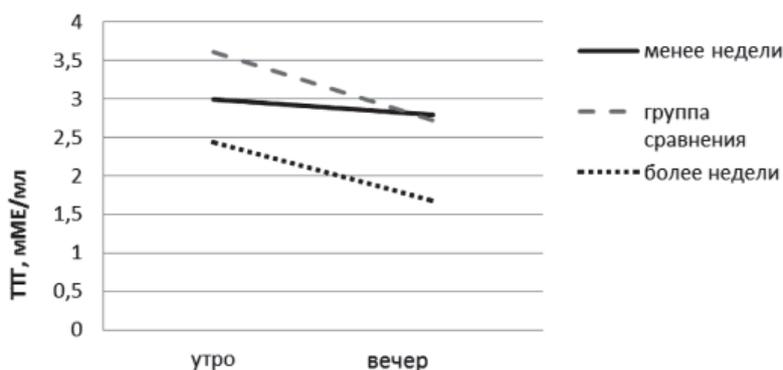


Рис. 1. Суточные колебания уровня ТТГ у пациентов с различной давностью последнего срыва ритма

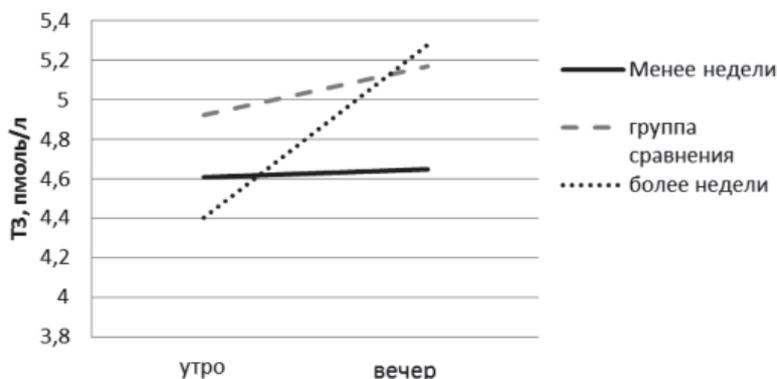


Рис. 2. Суточные колебания уровня Т3 св. у пациентов с различной давностью последнего срыва ритма

У лиц с последним срывом ритма позже недели от момента госпитализации обнаружены более низкие показатели ТТГ по сравнению с подгруппой пациентов, пароксизм у которых развился за несколько дней до включения в исследование. Однако при этом диапазон суточных изменений секреции ТТГ у пациентов с недавним пароксизмом был значительно меньше по сравнению с пациентами других подгрупп. У больных без аритмии, как и у больных с относительно давним пароксизмом, колебания суточных значений ТТГ были весьма существенными.

Колебания Т3 практически отсутствовали в подгруппах пациентов без аритмии и с недавним срывом ритма. У больных с более отдаленным срывом ритма отмечалась достоверная инверсия ритма Т3.

Таким образом, характер секреции тиреотропного гормона меняется в течение дня и имеет сходство с секрецией кортикостероидов. У пациентов с ИБС, АГ и фибрилляцией предсердий суточные колебания выделения ТТГ и кортизола сохраняются. Однако имеют место некоторые изменения, которые выражаются в более узком диапазоне различий между утренними и вечерними значениями ТТГ, не выходящими за пределы нормы, у пациентов с ФП. В основном это касалось больных с недавним приступом ФП.

Почти у всех обследованных обнаружена некоторая инверсия значений Т3 с более низкими показателями утром и высокими вечером, что отличается от данных литературы. [6] Полученные изменения биоритмической активности, возможно, связаны с тем, что в исследование включались пациенты, страдающие коронарной болезнью сердца и артериальной гипертензией. И наличие данной патологии, видимо, накладывает отпечаток на колебания гормонального статуса, являясь одной из причин изменения суточного ритма. Кроме того, инверсия концентраций Т3 при сохранении нормальных колебаний уровня ТТГ может быть следствием развития функциональной автономии щитовидной железы, наблюдаемой у подобного контингента больных [4].

Наиболее узкий диапазон суточных колебаний ТТГ и Т3 достоверно связан с недавним эпизодом фибрилляции предсердий. Пациенты, поводом для госпитализации которых послужил именно возникший эпизод аритмии, имеют наименьшие различия между утренними и вечерними значениями тиреотропного гормона и свободного трийодтиронина, т.е. значимые колебания последних у них практически отсутствуют. Не исключено, что сужение диапазона суточных колебаний ТТГ и, как следствие, Т3,

может расцениваться как один из косвенных маркеров риска срывов сердечного ритма. Иными словами, полученные данные могут иметь определённую ценность в плане прогнозирования новых эпизодов аритмии.

Учитывая то, что тиреоидные гормоны так же, как и катехоламины, защищают организм от неблагоприятных стрессорных воздействий, то любое, даже небольшое сужение диапазона колебаний гормонов ЩЖ может существенно ограничить адаптивные возможности организма [3]. Развивающееся при этом нарушение метаболизма, повышение потребности миокарда в кислороде, в свою очередь, приводит к электрофизиологической нестабильности миокарда и может быть субстратом для развития пароксизма мерцательной аритмии.

Выводы

Уровни ТТГ у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией и фибрилляцией предсердий совпадают с колебаниями уровней кортизола и достигают высоких значений утром и низких – вечером, при этом не выходя за пределы нормы. Для свободного трийодтиронина характерна некоторая инверсия колебаний в течение дня.

Характер описанных колебаний зависит от наличия фибрилляции предсердий, а диапазон изменений тиреоидных гормонов в течение дня взаимосвязан с промежутком времени, прошедшим от последнего срыва ритма. У пациентов с недавним развитием пароксизма диапазон колебаний был более узким.

Список литературы

1. Дедов И.И., Дедов В.И. Биоритмы гормонов. – М.: Медицина, 1992. – 256 с.
2. Диагностика и лечение нарушений ритма сердца: общие принципы: учеб. пособие / Н.А. Новикова, М.Ю. Гиляров, М.Г. Полтавская, А.Л. Сыркин. – Минск: Изд-во ООО «Белпринт», 2006. – 104 с.
3. Изменение гемодинамических и электрофизиологических показателей сердца под влиянием субклинической дисфункции щитовидной железы у больных ИБС с пароксизмами фибрилляции предсердий / Ю.Б. Беляева, С.В. Прохорова, С.А. Пчелинцева [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII, № 1. – С. 16–17.
4. Майскова Е.А. Структурно-функциональные особенности щитовидной железы у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и фибрилляцией предсердий в условиях йодной эндемии / Е.А. Майскова, Ю.Г. Шварц // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 1. – С. 197–204.8
5. Cardiac consequences of clinical dysthyroidism. Pathophysiological, clinical, and epidemiologic data / S. Vinzio [et al.] // Presse Med. – 2005. – Vol. 34. – P. 1153–1160.
6. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels / W. Russell [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – P. 124–132.
7. Guidelines for the management of atrial fibrillation. The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the

European Society of Cardiology (developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association, endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery) / A.J. Camm [et al.] // *European Heart Journal*. – 2010. – P. 1–61.

8. Neuro-endocrine correlations of hypothalamic-pituitary-thyroid axis in healthy humans / G. Mazzoccoli [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. – 2011. – Vol. 25 (2). – P. 249–257.

9. Chugh S.S. Epidemiology and natural history of atrial fibrillation: clinical implications / S. S. Chugh [et al.] – *J. Am. Coll. Cardiol*. – 2001. – Vol. 37. – P. 371–378.

References

1. Dedov I.I., Dedov V.I. Bioritmy gormonov. M.: Medicina, 1992. 256 p.

2. Diagnostika i lechenie narusheniy ritma serdtsa: obshchie printsipy: uchebnoe posobie / N.A. Novikova, M.YU. Gilyarov, M.G. Poltavskaya, A.L. Syrkin. Minsk: «Belprint», 2006. pp. 104.

3. Ismenenie gemodinamicheskikh parametrov i elektrokardiograficheskikh pokazateley serdtsa pod vliyaniem subklinicheskoy disfunkcii schitovidnoy zhelezy u bolnykh IBS s paroksizmami fibrillyatsii predserdiy / Y.B. Belyaeva, S.V. Prochorova, S.A. Pchelintseva [et. al.] // *Vestnik novych meditsinskikh technologiy* 2010. T. XVII, no. 1. pp. 16–17.

4. Mayskova E.A. Strukturno-funktsionalnye osobennosti zhitovidnoy zhelezy u patsientov s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami i fibrillyatsii predserdiy v usloviyakh yodnoy endemii / Mayskova E.A, Shvarts YU.G. // «*Fundamntalnye issledovaniya*» 2011. no. 1. pp. 197–204.

5. Cardiac consequences of clinical dysthyroidism. Pathophysiological, clinical, and epidemiologic data / S. Vinzio [et al.] // *Presse Med*. 2005. Vol. 34. pp. 1153–1160.

6. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels / W. Russell [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2008. pp. 124–132.

7. Guidelines for the management of atrial fibrillation. The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association, endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery) / A.J. Camm [et al.] // *European Heart Journal*. 2010. pp. 1–61.

8. Neuro-endocrine correlations of hypothalamic-pituitary-thyroid axis in healthy humans / G. Mazzoccoli [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. 2011. Vol. 25 (2). pp. 249–257.

9. Chugh S.S. Epidemiology and natural history of atrial fibrillation: clinical implications / S.S. Chugh [et al.] – *J. Am. Coll. Cardiol*. 2001. Vol. 37. pp. 371–378.

Рецензенты:

Родионова Т.И., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой эндокринологии, ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовско-го» Минздрава России, г. Саратов;

Лямина Н.П., д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт кардиологии» Минздрава России, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 615.015.1

АНТИОКСИДАНТНАЯ КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

Брюханов В.М., Мирошниченко А.Г.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Барнаул, e-mail: ag@asmu.ru

В настоящем исследовании изучалось влияние веществ с антиоксидантными свойствами (аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол, N-ацетилцистеин) на токсичность антибактериальных средств (гентамицин, ципрофлоксацин, цефтазидим, хлорамфеникол, тетрациклин) у крыс линии Вистар массой 190–290 г. Дозы препаратов устанавливались в соответствии с правилами межвидового переноса на основании терапевтических доз, применяемых у человека. Изученные антибактериальные средства за исключением цефтазидима обладают прооксидантными свойствами разной выраженности. Цефтазидим обладает антиоксидантным действием. Применение антиоксидантов не уменьшает степень токсических поражений, вызываемых гентамицином (нефротоксичность) и тетрациклином (гепатотоксичность). Метилэтилпиридинол способен усиливать нефротоксическое влияние гентамицина. Это свидетельствует о небольшом вкладе процессов свободнорадикального окисления в патогенез токсических поражений, вызванных антибактериальными средствами. Полученные данные необходимо учитывать при совместном применении антибактериальных средств и антиоксидантов.

Ключевые слова: антибактериальные средства, антиоксиданты, свободнорадикальное окисление, токсичность

ANTIOXIDANT CORRECTION OF TOXICITY OF ANTIBACTERIAL AGENTS AND THEIR EFFECTS ON FREE RADICAL OXIDATION

Bryukhanov V.M., Miroshnichenko A.G.

Altai state medical university, Barnaul, e-mail: ag@asmu.ru

The present study investigated the effects antioxidants (ascorbic acid, methylethylpyridinol, N-acetylcysteine) on toxicity of antibacterial agents (gentamicin, ciprofloxacin, ceftazidime, chloramphenicol, tetracycline) in Wistar rats weighing 190–290 g. Doses were set in accordance with interspecific transfer rules based therapeutic doses used in humans. Antibacterial agents studied, except ceftazidime have prooxidant properties of different severity. Ceftazidime has an antioxidant effect. Antioxidants do not reduce the degree of toxic lesions caused by gentamicin (nephrotoxicity) and tetracycline (hepatotoxicity). Methylethylpyridinol potentiate the nephrotoxic effect of gentamicin. This indicates a small contribution of free radical oxidation in the pathogenesis of toxic lesions caused by antibacterial agents. The data obtained should be considered when the joint application of antibacterial agents and antioxidants.

Keywords: antibacterial agents, antioxidants, free radical oxidation, toxicity

В связи с широким распространением заболеваний, вызываемых бактериями, совершенствование лечения соответствующих больных остается актуальным. Многие антибактериальные средства вызывают ряд побочных эффектов, значительно затрудняющих проведение химиотерапии. Ряд антибактериальных препаратов способен вызывать дозозависимые токсические поражения печени, которые могут возникать как на фоне приема высокой однократной дозы, так и высокой кумулятивной дозы, накапливающейся в организме при длительном применении препарата [7]. Все антибиотики группы аминогликозидов являются нефротоксичными и могут вызывать серьезные поражения почек – вплоть до тубулярного некроза с развитием острой почечной недостаточности [5]. Для некоторых бактерицидных средств доказан значимый вклад усиления процессов свободнорадикального окисления в патогенез токсических поражений различных органов [11]. В связи с этим представляют собой определенный интерес

возможности фармакологической коррекции соответствующих нежелательных эффектов при помощи антиоксидантов.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния антиоксидантов (аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол, N-ацетилцистеин) на токсичность антибактериальных средств (гентамицин, ципрофлоксацин, цефтазидим, хлорамфеникол, тетрациклин).

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 105 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 2–3 месяцев массой 190–290 г, выращенных в питомнике НИИ цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Содержание крыс соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.), Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986 г.).

Эксперимент был разделен на 5 серий в соответствии с изучаемыми антибактериальными средствами. Для каждой серии из 35 животных формировались группы (1–5) по 7 особей в каждой. Животным группы № 1 ежедневно в течение 5 дней внутривенно

вводился стерильный изотонический раствор хлорида натрия, № 2 – раствор антибактериального средства, № 3 – последовательно раствор антибактериального средства и аскорбиновой кислоты, № 4 – раствор антибактериального средства и метилэтилпиридинола, № 5 – раствор антибактериального средства и N-ацетилцистеина. Дозы препаратов устанавливались в соответствии с правилами межвидового переноса на основании терапевтических доз, применяемых у человека [6]. Растворы для инъекций готовились из субстанций (за исключением метилэтилпиридинола) в асептических условиях непосредственно перед введением (табл. 1).

Таблица 1
Характеристика лекарственных средств

Вещество	Производитель	Доза, мг/кг
Аскорбиновая кислота	Panreac, Испания	80
Метилэтилпиридинол («Эмоксипин»)	Sigma-Aldrich, США	80
N-ацетилцистеин	ФГУП МЭЗ, Россия	80
Гентамицин	AppliChem, Германия	30
Ципрофлоксацин	Sigma-Aldrich, США	50
Цефтазидим	Sigma-Aldrich, США	120
Хлорамфеникол	Panreac, Испания	70
Тетрациклин	AppliChem, Германия	80

На 6-е сутки эксперимента в плазме крови экспериментальных животных с помощью диагностических наборов (ООО «Витал Диагностика СПб», Россия) в качестве маркеров поражения печени определялись активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, маркеров поражения почек – концентрации мочевины и креатинина. Для оценки оксидантного статуса определяли активность каталазы [4] и глутатионпероксидазы эритроцитов [3], а также плазменные концентрации восстановленного глутатиона [9] и тиобарбитурат-реактивных продуктов [1].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни с помощью программы SigmaStat 3.5 (Systat Software, Inc., США), различия считали значимыми при $P < 0,05$ [2].

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 представлены результаты оценки гепато- и нефротоксического влияния антибактериальных средств. Из представленных данных видно, что гентамицин оказывает статистически значимое повышение концентраций мочевины и кре-

атинина, что свидетельствует об угнетении функции почек. Нефротоксический эффект гентамицина не уменьшается совместным применением с антиоксидантами, несмотря на прооксидантное действие антибиотика (табл. 3). Обращает на себя внимание взаимодействие метилэтилпиридинола и гентамицина. Совместное введение этих двух препаратов вызывает еще большее повышение креатинина плазмы крови, при этом метилэтилпиридинол не проявляет выраженные антиоксидантные свойства и не компенсирует прооксидантное действие гентамицина.

Введение ципрофлоксацина в дозе 50 мг/кг не вызывает статистически значимого повышения маркеров поражения печени и почек. При этом фиксируется увеличение концентрации тиобарбитурат-реактивных продуктов плазмы с одновременным снижением содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах, что служит проявлением прооксидантного влияния ципрофлоксацина. Совместное введение с антиоксидантами статистически значимо уменьшает указанное влияние. Аналогичная картина наблюдается при введении хлорамфеникола, что согласуется с данными Farombi E.O. и соавт., изучавших влияние антиоксидантов на маркеры оксидативного стресса и микросомальное окисление в печени в условиях введения антибиотика [10]. Цефтазидим обладает антиоксидантным эффектом (табл. 3), который может быть связан с его способностью инактивировать синглетный кислород [8].

Ожидаемо наиболее выраженное поражение печени и почек вызывает тетрациклин. Его введение вызывает повышение плазменной активности АЛТ в 2 раза. При этом совместное применение с антиоксидантами не уменьшает, а в случае N-ацетилцистеина – усиливает гепатотоксическое влияние антибиотика. Следует отметить, что при этом активность щелочной фосфатазы статистически значимо не изменяется во всех группах серии «Тетрациклин». Тетрациклин также вызывает угнетение функции почек – концентрация мочевины плазмы повышается в 5 раз, креатинина – в 2 раза. При этом введение антиоксидантов не влияет на нефротоксическое действие антибиотика. Причиной отсутствия эффекта антиоксидантной фармакологической коррекции может быть небольшой вклад процессов свободнорадикального окисления в патогенез органо-токсических эффектов тетрациклина, оказывающего слабое прооксидантное действие (табл. 3).

Таблица 2

Токсичность антибактериальных средств и ее коррекция антиоксидантами

Группа	АЛТ, мкмоль/(с·л)	ЩФ, нмоль/(с·л)	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
Серия «Гентамицин»				
1	1,23 (1,14;1,49)	1409,5 (1246,5;1629,7)	2,07 (1,48;2,30)	57,83 (38,99;62,21)
2	1,10 (0,87;1,41)	1190,1 (1089,5;1530,5)	4,02 (3,40;4,43)*	77,86 (60,15;111,72)*
3	1,24 (1,01;1,33)	1217,2 (1118,8;1610,9)	2,80 (2,42;3,78)*	83,12 (77,61;91,57)*
4	1,24 (1,00;1,40)	1283,3 (1130,8;1525,2)	3,22 (2,82;3,61)*	103,65 (91,82;120,23)*
5	1,16 (0,98;1,40)	1298,3 (1166,1;1442,6)	3,58 (3,21;3,66)*	97,63 (85,06;109,78)*
Серия «Ципрофлоксацин»				
1	0,84 (0,68;1,02)	1809,3 (1720,6;1934,7)	2,86 (2,40;3,03)	50,57 (43,62;59,65)
2	1,16 (0,73;1,30)	1547,8 (1237,5;1680,8)	3,37 (2,82;3,51)	54,83 (50,20;65,34)
3	1,29 (1,17;1,32)	1698,1 (1471,1;1782,2)	2,53 (2,40;2,82)	55,82 (48,07;58,27)
4	0,96 (0,80;1,20)	1680,0 (1543,3;1738,6)	3,17 (2,80;3,37)	58,33 (46,32;62,84)
5	1,07 (0,84;1,17)	1490,7 (1358,4;1988,1)	2,93 (2,90;3,35)	56,33 (54,51;66,16)
Серия «Цефтазидим»				
1	0,87 (0,77;0,94)	1668,0 (1400,5;1700,3)	2,70 (2,55;2,96)	54,83 (49,69;57,77)
2	0,78 (0,75;0,89)	1514,7 (1361,5;1615,4)	2,57 (2,44;3,07)	49,07 (47,88;57,46)
3	0,79 (0,65;0,84)	1496,7 (1464,4;1598,9)	2,57 (2,42;2,93)	54,33 (51,20;62,09)
4	0,92 (0,85;1,08)	1496,7 (1384,0;1,666,5)	2,66 (2,59;3,05)	55,08 (49,13;61,21)
5	0,89 (0,85;1,07)	1541,8 (1259,3;1690,5)	2,88 (2,35;3,24)	59,33 (56,33;62,09)
Серия «Хлорамфеникол»				
1	0,99 (0,77;1,01)	1622,9 (1108,2;1837,1)	2,24 (2,09;2,73)	54,58 (49,32;64,72)
2	1,23 (1,02;1,29)	1544,8 (1309,6;1842,3)	2,11 (2,00;2,92)	60,34 (51,95;71,41)
3	1,06 (0,77;1,46)	1409,5 (1249,5;1662,7)	2,56 (2,47;2,99)	55,83 (48,38;62,34)
4	1,06 (0,83;1,10)	1439,6 (1290,1;1607,9)	2,41 (2,21;3,03)	56,08 (48,57;62,71)
5	1,08 (0,85;1,10)	1499,7 (1356,2;1595,9)	2,57 (1,80;3,01)	62,09 (52,57;66,34)
Серия «Тетрацилин»				
1	0,99 (0,87;1,12)	1457,6 (1260,0;1595,1)	2,02 (1,91;2,47)	56,58 (49,32;64,72)
2	1,80 (1,64;1,85)*	1565,8 (1413,3;1949,8)	10,32 (10,09;11,36)*	128,43 (105,71;136,63)*
3	1,88 (1,77;1,92)*	1325,4 (1265,3;1764,2)	9,68 (8,79;10,62)*	103,15 (94,45;127,43)*
4	1,65 (1,61;1,65)*	1565,8 (1272,8;1870,1)	11,57 (7,73;13,94)*	111,41 (84,31;119,92)*
5	2,12 (2,01;2,26)*	1391,5 (1204,4;1662,0)	10,48 (9,63;11,88)*	114,66 (102,71;127,24)*

Примечание. * – значимое различие с контрольной группой серии ($p < 0,05$).

Таблица 3

Влияние антибактериальных средств на свободнорадикальное окисление и его коррекция антиоксидантами

Группа	КАТ, % на мг Нв	ВГ, мкмоль/г Нв	ГПО, мкмоль/(мин·л)	ТБРП, мкМ
1	2	3	4	5
Серия «Гентамицин»				
1	0,024 (0,007;0,033)	0,87 (0,73;0,96)	24,36 (19,54;27,21)	3,99 (3,55;4,61)
2	0,036 (0,031;0,044)*	0,70 (0,62;0,95)	22,05 (21,35;22,43)	6,63 (5,61;8,88)*
3	0,048 (0,022;0,059)	0,92 (0,79;1,06)	19,62 (18,84;26,43)	3,99 (3,52;4,41)
4	0,051 (0,045;0,053)*	0,87 (0,84;0,91)	21,41 (19,26;22,22)	5,42 (4,73;6,63)*
5	0,054 (0,050;0,057)*	0,75 (0,66;0,81)	20,43 (19,97;21,20)	4,34 (3,64;5,48)

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5
Серия «Ципрофлоксацин»				
1	0,027 (0,023;0,030)	0,83 (0,69;0,95)	19,44 (18,20;20,34)	3,49 (3,16;4,51)
2	0,033 (0,026;0,039)	0,60 (0,53;0,71)*	17,12 (11,86;21,85)	4,96 (3,90;5,10)*
3	0,036 (0,028;0,042)	0,67 (0,56;0,71)	18,31 (15,47;18,67)	3,56 (2,94;4,24)
4	0,040 (0,035;0,043)*	0,70 (0,63;0,79)	20,45 (17,52;20,86)	4,53 (4,32;4,68)
5	0,042 (0,040;0,044)*	0,66 (0,58;0,74)	19,12 (18,16;19,78)	2,91 (2,50;4,14)
Серия «Цефтазидим»				
1	0,033 (0,024;0,034)	0,92 (0,78;0,97)	18,50 (17,06;20,78)	3,49 (3,16;4,51)
2	0,032 (0,027;0,036)	0,82 (0,73;0,93)	17,02 (15,98;17,95)	2,64 (2,29;2,99)*
3	0,044 (0,042;0,050)*	0,67 (0,62;0,76)	18,69 (16,58;18,80)	3,41 (2,98;4,82)
4	0,037 (0,028;0,042)	0,74 (0,67;0,91)	20,11 (18,92;22,97)	3,49 (3,21;4,12)
5	0,044 (0,031;0,047)	0,87 (0,78;0,92)	17,98 (17,47;20,34)	3,37 (2,55;3,89)
Серия «Хлорамфеникол»				
1	0,033 (0,021;0,045)	0,79 (0,62;0,85)	16,50 (15,35;18,89)	3,80 (3,09;4,74)
2	0,054 (0,049;0,055)*	0,45 (0,41;0,56)*	19,47 (18,22;20,62)	5,04 (4,39;5,62)*
3	0,039 (0,037;0,046)	0,56 (0,48;0,71)	18,04 (16,48;20,71)	4,38 (3,87;4,45)
4	0,038 (0,031;0,044)	0,66 (0,55;0,73)	15,63 (15,14;18,11)	3,68 (3,39;4,46)
5	0,041 (0,033;0,044)	0,62 (0,57;0,77)	18,07 (15,38;19,03)	4,34 (4,00;4,99)
Серия «Тетрациклин»				
1	0,033 (0,030;0,040)	0,83 (0,73;0,87)	17,48 (16,81;18,90)	3,33 (3,27;3,71)
2	0,025 (0,023;0,027)*	0,77 (0,76;0,84)	20,20 (19,28;21,14)*	3,49 (3,06;3,79)
3	0,027 (0,024;0,030)*	0,83 (0,76;0,88)	18,76 (15,83;19,61)	3,49 (3,32;4,02)
4	0,030 (0,022;0,034)	0,83 (0,75;0,95)	17,71 (16,32;20,81)	3,68 (3,39;4,08)
5	0,018 (0,017;0,023)*	0,72 (0,67;0,80)	19,82 (18,93;21,37)*	4,92 (3,89;5,21)*

Примечание. * – значимое различие с контрольной группой серии ($p < 0,05$).

Заключение

На основании вышеизложенного можно утверждать, что изучаемые антибактериальные средства за исключением цефтазидима обладают прооксидантными свойствами разной выраженности. Цефтазидим обладает антиоксидантными свойствами. Совместное применение с антиоксидантами не уменьшает степень выраженности органотоксических поражений, вызываемых гентамицином и тетрациклином.

Метилэтилпиридинол в отличие от других изученных нами антиоксидантов способен усиливать нефротоксическое влияние гентамицина. Это свидетельствует о том, что наличие антиоксидантных свойств у вещества однозначно не определяет его влияние на токсичность антибактериального средства.

Список литературы

1. Гаврилов В.Б. Определение ТБК-реагирующих продуктов в тканях / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, М.Л. Мажуль // Вопр. мед. химии. – 1987. – Т. 33. – № 1. – С. 117–123.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990 – 352 с.
3. Минаева Л.В. Экспериментальная оценка роли изменения системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.20, 03.00.04. – СПб, 2007. – 178 с.
4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Постников, С.С. Токсические эффекты антибиотиков / С.С. Постников // Педиатрия. – 2008. – Т. 87. – № 2. – С. 111–116.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

7. Ушкалова Е.А. Лекарственные поражения печени при применении антибактериальных средств / Е.А. Ушкалова, Э.А. Корвякова // *Лечащий врач*. – 2012. – № 2. – С. 84–88.

8. Deby-Dupont G. The antibiotic ceftazidime is a singlet oxygen quencher as demonstrated by ultra-weak chemiluminescence and by inhibition of AAP consumption / G. Deby-Dupont, C. Deby, A. Mouithys-Mickalad, M. Hoebeke, M. Mathy-Hartert, L. Jadoul, A. Vandenberghe, M. Lamy // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1998. – Vol. 1379(1). – P. 61–68.

9. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – № 1. – P. 70–77.

10. Farombi E.O. Influence of chloramphenicol on rat hepatic microsomal components and biomarkers of oxidative stress: protective role of antioxidants / E.O. Farombi, O.A. Adaramoye, G.O. Emerole // *Pharmacol. Toxicol.* – 2002. – Vol. 91(3). – P. 129–134.

11. Kalghatgi S. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells / S. Kalghatgi, C.S. Spina, J.C. Costello, M. Liesa M, J.R. Morones-Ramirez, S. Slomovic, A. Molina, O.S. Shirihai, J.J. Collins // *Sci Transl Med*. – 2013. – Vol. 5(192) – режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23825301> (дата обращения: 20.11.2013).

References

1. Gavrilov V.B. Opredelenie TBK-reagirujushih produktov v tkanjah / V.B. Gavrilov, A.R. Gavrilova, M.L. Mazhul' // *Vopr. med. himii*. 1987. T. 33. no. 1. pp. 117–123.

2. Lakin G.F. Biometrija: Ucheb. posobie dlya biol. spec. vuzov / G.F. Lakin 4-e izd., pererab. i dop. M.: Vyssh. shk., 1990 352 p.

3. Minaeva L.V. Eksperimental'naja ocenka roli izmeneniya sistemy glutationa v realizacii pobochnyh citotoksicheskikh jeffektov povtornogo vvedeniya ciklofosfana : diss. kand. med. nauk: 14.00.20, 03.00.04 / L.V. Minaeva. SPb, 2007. 178 p.

4. Koroljuk M.A. Metod opredelenija aktivnosti katalazy / M.A. Koroljuk // *Lab. delo*. 1988. no. 1. pp. 16–19.

5. Postnikov S.S. Toksicheskie jeffekty antibiotikov / S.S. Postnikov // *Pediatrics*. 2008. T. 87. no. 2. pp. 111–116.

6. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakolo-gicheskikh veshhestv / Pod obshhej redakciej chlena-korrespondenta RAMN, professora R.U. Habrieva. 2-izd., pererab. i dop. M.: OAO «Izdatel'stvo «Medicina», 2005. 832 p.

7. Ushkalova, E.A. Lekarstvennye porazhenija pečeni pri primenenii antibakterial'nyh sredstv / E.A. Ushkalova, Je.A. Korovjakova // *Lechashij vrach*. 2012. no. 2. pp. 84–88.

8. Deby-Dupont, G. The antibiotic ceftazidime is a singlet oxygen quencher as demonstrated by ultra-weak chemiluminescence and by inhibition of AAP consumption / G. Deby-Dupont, C. Deby, A. Mouithys-Mickalad, M. Hoebeke, M. Mathy-Hartert, L. Jadoul, A. Vandenberghe, M. Lamy // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. Vol. 1379(1). pp. 61–68.

9. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol.82. no. 1. pp. 70–77.

10. Farombi, E.O. Influence of chloramphenicol on rat hepatic microsomal components and biomarkers of oxidative stress: protective role of antioxidants / E.O. Farombi, O.A. Adaramoye, G.O. Emerole // *Pharmacol. Toxicol.* 2002. Vol. 91(3). pp. 129–134.

11. Kalghatgi, S. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells / S. Kalghatgi, C.S. Spina, J.C. Costello, M. Liesa M, J.R. Morones-Ramirez, S. Slomovic, A. Molina, O.S. Shirihai, J.J. Collins // *Sci Transl Med*. 2013. Vol. 5(192) режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23825301> (дата обращения: 20.11.2013).

Рецензенты:

Смирнов И.В., д.м.н., зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники, ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул;

Галактионова Л.П., д.б.н., профессор кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616-005.2:616-007.17:616.145.11:575

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И ПРИЗНАКАМИ ВЕНОЗНОЙ ДИСФУНКЦИИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ СОСУДОВ

**Буйлова Е.В., Котовщикова Е.Ф., Сюльжина Е.Н., Акимцева Е.А.,
Дугенец Г.В., Чудимов В.Ф.**

*ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»
Минздравообразования России, Барнаул, e-mail: RZRZRZ555@mail.ru*

У 153 больных (64,3%) ДСТ выявлена венозная дисфункция церебральных сосудов, подтвержденная дуплексным исследованием мозговых и позвоночных сосудов. Выявлены мутации генов системы свертывания крови (FV Leiden, FII, MTHFR, FVII, PAI-1): сочетанные – 61,4%, самостоятельные группы мутаций – 23,5%. Наряду с этим у 23 пациентов (19,6%) нарушения в гемостазе представлены в виде дефицита фактора Виллебранда, у 105 (89,7%) – снижения агрегационной функции тромбоцитов и нарушений конечного коагуляционного этапа свертывания крови. Результаты исследования указывают на одинаково частый риск тромботических и геморрагических осложнений у пациентов с ДСТ.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, система гемостаза, венозные дисфункции, генетические дефекты, диагностика

OCCURRENCE OF GENETIC DEFECTS OF HEMOSTASIS SYSTEM AT PATIENTS WITH CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA AGAINST A CEREBRAL VENOUS DYSFUNCTION

**Buylova E.V., Kotovschikova E.F., Syulzhina E.N., Akimseva E.A.,
Dugenes G.V., Chudimov V.F.**

*GBOU VPO «Altay State Medical University» Minzdravotsrazvitya RF,
Barnaul, e-mail: RZRZRZ555@mail.ru*

Cerebral venous dysfunction confirmed with duplex research of brain and vertebral vessels is revealed at 153 patients (64,3%) CTD. Gene mutations of coagulation system (FV Leiden, FII, MTHFR, FVII, PAI-1): a combined – 61,4%, independent groups of mutations – 23,5% are revealed. Along with it hemostasis disorders are presented in the form of Will brand factor's insufficiency at 23 patients (19,6%), decrease of platelets aggregative function and disorder of final coagulatory phase of fibrillation at 105 (89,7%) patients. The research results point out the equal risk of thrombotic and hemorrhagic complications at patients with CTD.

Keywords: connective tissue dysplasia, hemostasis system, venous dysfunctions, genetic defects, diagnostic

Под термином «дисплазия соединительной ткани» (ДСТ) подразумевается генетически обусловленный системный процесс, характеризующийся поражением волокон и основного вещества соединительной ткани, что приводит к нарушению формы и функционирования различных органов и систем организма человека [8, 9].

Особое внимание среди проявлений ДСТ по частоте и значимости привлекает краниовертебральная область (КВО) и шейный отдел позвоночника, что создает предпосылки для развития дисциркуляций в сосудах вертебробазиллярного бассейна у детей и лиц молодого возраста [2, 5, 7]. По данным экспертов ВОЗ, распространенность вертебральных деформаций у детей составляет 5–9%, а у взрослого населения достигает 40–80%.

Среди клинических проявлений ДСТ одними из наиболее важных являются симптомы, обусловленные нарушениями в разных звеньях гемостаза. Так, наиболее изучены при ДСТ нарушения в системе ге-

мостаза в виде геморрагического синдрома, обусловленного нарушением структуры и функции сосудистой стенки, дисфункцией тромбоцитов, а также некоторыми коагуляционными сдвигами [3, 4, 10, 11].

Выявлены сочетания диспластических синдромов с рецидивирующими тромбозами кровеносных сосудов и ишемиями органов, связанные как с дефектами сосудистой стенки и снижением ее тромборезистентности, так и с гематогенными тромбофилиями, чаще – с резистентностью фактора Va к активированному протеину C, гипергомоцистеинемией и гиперагрегационным синдромом [1, 6, 12]. Большая группа соединительнотканых аномалий была детально изучена в исследованиях под руководством члена-корреспондента РАМН З.С. Баркагана (1980–1988 гг.).

Вместе с тем более углубленное обследование больных с ДСТ и тромбоэмболическим синдромом позволили выявить в отдельных случаях наряду с тромбоэмболическим анамнезом наличие кровоточивости [3].

Поэтому описание подобных сочетаний, учитывая возрастающий процент населения молодого возраста с наличием дисплазии КВО, потенциально входящего в группу риска по нарушениям мозгового кровообращения, поможет разобраться в сложных диагностических ситуациях и особенностях дифференцированной медикаментозной коррекции этих нарушений.

В настоящее время появилась возможность более детального исследования нарушений гемостаза на генетическом уровне по молекулярно-генетическому тестированию ДНК методом ПЦР.

Цель работы: изучить частоту встречаемости генетических дефектов в виде мутаций в генах системы свертывания крови у пациентов с ДСТ и признаками венозной дисфункции церебральных сосудов.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное исследование 238 больных с неврологической симптоматикой при ДСТ. В группу обследования вошли лица молодого возраста

от 7 до 30 лет. Средний возраст составил $18,6 \pm 1,0$. У 153 больных (64,3%) была выявлена венозная дисфункция церебральных сосудов. Нарушение флебогемодинамики в системе позвоночных вен подтверждалось дуплексным исследованием мозговых и позвоночных сосудов. Данный метод был использован как «экспресс-диагностика» исходного состояния флебогемодинамики.

Обследование пациентов проводилось по единой схеме, которая включала: классическое исследование системы гемостаза, уровня гомоцистеина и молекулярно-генетическое тестирование ДНК методом ПЦР.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования больных с ДСТ наряду с изменениями в системе гемостаза выявлены мутации, нарушающие функционирование факторов свертывания, физиологических антикоагулянтов и фибринолиза.

Из таблицы видно, что частота встречаемости генотипов, являющихся потенциальными факторами риска тромбозов, преобладала у больных с ДСТ и венозной дисфункцией церебральных сосудов.

Распределение полиморфизмов ДНК у обследованных групп пациентов

Генетические дефекты		Частота встречаемости генотипа среди больных ДСТ ($n = 238$)	
Полиморфизм	Генотип	С венозной дисфункцией церебральных сосудов ($n = 153$)	Без венозной дисфункции церебральных сосудов ($n = 85$)
F II 20210 G/A	20210 (G/A)*	34 (22,2%)	9 (10,6%)
	20210 (A/A)*	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	20210 (G/G)	119 (77,8%)	76 (89,4%)
FV Leiden 1691 G/A	1691 (G/A)*	34 (22,2%)	6 (7,0%)
	1691 (A/A)*	2 (1,3%)	1 (1,2%)
	1691 (G/G)	117 (76,5%)	8 (91,8%)
PAI-1 -675 4G/5G	-675 (4G/4G)*	37 (24,2%)	14 (16,5%)
	-675 (4G/5G)	56 (36,6%)	52 (61,2%)
	-675 (5G/5G)	60 (39,2%)	19 (22,3%)
MTHFR 677 C/T	677 (T/T)*	10 (6,5%)	1 (1,2%)
	677 (C/T)	85 (55,5%)	51 (60,0%)
	677 (C/C)	58 (38,0%)	34 (40,0%)
F VII 10976 G/A	10976 (G/A)**	42 (27,5%)	15 (17,6%)
	10976 (G/G)**	1 (0,6%)	2 (2,4%)
	10976 (A/A)	110 (71,9%)	68 (80,0%)

Примечания:

* генотип, являющийся потенциальным фактором риска тромбозов;

** генотип, являющийся защитным фактором в развитии тромбозов.

Так, самостоятельные группы мутаций обнаружены у 36 больных (23,5%) с ДСТ и венозной дисфункцией церебральных сосудов и у 28 (32,9%) – с ДСТ без венозной дисфункции церебральных сосудов. Сочетание двух и более мутаций у больных с ДСТ и венозной дисфункцией церебральных сосудов составили 94 больных (61,4%), с ДСТ без венозной дисфункции церебральных сосудов – 52 (61,2%).

Наиболее частыми ассоциируемыми генетическими маркерами у больных с ДСТ

и венозной дисфункцией церебральных сосудов являлись MTHFR (Ala222Val) – 35,3%, F.V. Leiden (Arg506Gln) – 14,3%, реже PAI-1 (675 4G/5G) и FII (20210 G/A) – по 5,9% случаев. У всех больных с гомозиготной формой полиморфизма гена MTHFR (Ala222Val) отмечалось повышение уровня гомоцистеина в крови ($21,4 \pm 0,12$ мкмоль/л при норме менее 11,0 мкмоль/л).

Наряду с этим у 23 (19,6%) пациентов с ДСТ и венозной дисфункцией церебральных сосудов и у 12 (20,7%) – с ДСТ без

венозной дисфункции церебральных сосудов нарушения в гемостазе были представлены в виде дефицита фактора Виллебранда, у 105 (89,7%) и 49 (84,5%) пациентов соответственно – снижения агрегационной функции тромбоцитов, у 57 (48,7%) и 26 (44,8%) – нарушений конечного коагуляционного этапа свертывания крови (полимеризации фибрин-мономера).

Результаты исследования указывают на одинаково частый риск тромботических и геморрагических осложнений у пациентов с ДСТ.

Выводы

В патогенезе клинического течения венозной дисфункции церебральных сосудов у пациентов с ДСТ играют роль нарушения в разных звеньях гемостаза, сочетающиеся с генетическими полиморфизмами. Эти данные обосновывают необходимость учета генетической предрасположенности к спонтанной и/или при медицинских вмешательствах кровоточивости, и/или тромбозам. Требуется постоянное наблюдение, а также коррекция нарушений системы гемостаза при комплексном лечении пациентов с данной патологией.

Список литературы

1. Бакулина Е.Г. Особенности костного и гомоцистеинового метаболизма при соединительнотканной дисплазии костной ткани: автореф. дис. ... канд. мед.наук. – Россия, 2006.
2. Ветрилэ С.Т., Колесов С.В. Дисплазия краниовертебральной области // Краниовертебральная патология. – М.: Медицина, 2007. – С. 73–311.
3. Гладких Н.Н., Ягода А.В. Клинико-патогенетические аспекты изменений в системе гемостаза при врожденной дисплазии соединительной ткани // Гематология и трансфузиология. – 2007. – № 3. – С. 42–47.
4. Дубов С.К. Система гемостаза у пациентов с синдромом соединительнотканной дисплазии: автореф. дис. ... канд. мед.наук. – Владивосток, 2004.
5. Долгих Г.Б. Церебральные артериальные и венозные дистонии у детей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Казань, 2009.
6. Зорилова И.В. Наследственно обусловленная гипергомоцистеинемия в патогенезе ишемического инсульта у лиц молодого возраста // Неврологический журнал. – 2005. – Т. 10. – № 2. – С. 14–17.
7. Куприянова О.Н., Михеев А.П., Штамм А.М., Пузин М.Н. / Патология краниовертебрального перехода у больных с лицевыми болями и дисплазией соединительной ткани // Российский стоматологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 25–26.
8. Нечаева Г.И., Викторова И.А. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов. – Омск, 2007. – С. 10.
9. Нечаева Г.И. Дисплазия соединительной ткани: материалы симпозиума, Омск, 1 ноября 2002 г. – Омск: ОГМА, 2002. – 167с.

10. Стуров В.Г., Чупрова А.В., Антонов А.Р. Геморрагические дисфибриногемии и другие нарушения эффективности конечного этапа свертывания крови у детей с синдромом системной мезенхимальной дисплазии // Педиатрия. – 2005. – № 3. – С. 11–16.

11. Стуров В. Г. Нарушения конечного этапа свертывания крови у детей и подростков с синдромом системной мезенхимальной дисплазии: автореф. дис. ... д-ра мед.наук. – Новосибирск, 2008.

12. Суханова Г.А., Баркаган З.С., Котовщикова Е.Ф. и др. / Тромботические мезенхимальные дисплазии и их связь с другими тромбофилиями // Гематология и трансфузиология. – 2003. – Т. 48. – № 6. – С. – 13-14.

References

1. Bakulina E.G. Osobennosti kostnogo i gomocisteinového metabolizma pri soedinitel'notkannoj displazii kostnoj tkani: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Rossiya, 2006.
2. Vetrile' S.T., Kolesov S.V. Displaziya kraniovertebral'noj oblasti // Kraniovertebral'naya patologiya. M.: «Medicina», 2007. pp. 73–311.
3. Gladkix N.N., Yagoda A.V. Kliniko-patogeneticheskie aspekty izmenenij v sisteme gemostaza pri vrozhdennoj displazii soedinitel'noj tkani // Gematologiya i transfuziologiya. 2007. no. 3. pp. 42–47.
4. Dubov S.K. Sistemagemostaza u pacientov s sindromom soedinitel'notkannoj displazii: Avtoref. ... kand. med. nauk. Vladivostok, 2004.
5. Dolgix G.B. Cerebral'nye arterial'nye i venoznye distonii u detej: Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. Kazan', 2009.
6. Zorilova I.V. Nasledstvenno obuslovlennaya giperhomocisteinemiya v patogeneze ishemicheskogo insul'ta u licmolodogo vozrasta // Nevrologicheskij zhurnal. 2005. T. 10. no. 2. pp. 14–17.
7. Kupriyanova O.N., Mixeev A.P., Shtamm A.M., Puzin M.N. Patologiya kraniovertebral'nogo perexoda u bol'nyx s licevymibolyami i displaziej soedinitel'nojtkani // Rossijskij stomatologicheskij zhurnal. 2007. no. 1. pp. 25–26.
8. Nechaeva G.I., Viktorova I.A. Displaziya soedinitel'nojtkani: terminologiya, diagnostika, taktikavedeniya pacientov. Omsk, 2007. pp. 10.
9. Nechaeva G.I. Displaziya soedinitel'nojtkani: Materialy simpoziuma, Omsk, 1 noyabrya 2002 g. Omsk: OGMA, 2002. 167p.
10. Sturov V.G., Chuprova A.V., Antonov A.R. Gemorragicheskie disfibrinogenemii i drugie narusheniya e'ffektivnosti konechnogo e'tapa svertyvaniya krovi u detej s sindromom sistemojmezenximal'nojdisplazii // Pediatriya. 2005. no. 3. pp. 11–16.
11. Sturov V.G. Narusheniya konechnogo e'tapa svertyvaniya krovi u detej i podrostkov s sindromom sistemoj mezenximal'noj displazii: Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. Novosibirsk, 2008.
12. Suxanova G.A., Barkagan Z.S., Kotovshhikova E.F. i dr. Tromboticheskie mezenximal'nye displazii i ix svyaz' sdrugimitrom bofiliyami // Gematologiya i transfuziologiya. 2003. T. 48. no. 6. pp. 13–14.

Рецензенты:

Буевич Е.И., д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО АГМУ Минздравсоцразвития России, г. Барнаул;

Белых В.И., д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО АГМУ Минздравсоцразвития России, г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 577.169:618.36 + 577.15: 577.17+577.164.1

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ИНСУЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АТФ КРОВИ НА ФОНЕ ДИСЛИПИДЕМИИ У ДЕТЕЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Гурина А.Е., Микаелян Н.П., Кулаева И.О., Микаелян А.В., Терентьев А.А.

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, e-mail: ninmik@yandex.ru

Проведен анализ особенностей взаимосвязи энергетического обмена от состояния инсулиновых рецепторов на фоне дислипидемии у больных сахарным диабетом (СД) детей. Изучались следующие параметры у 70 детей, больных СД I и II типов: липидный и липопротеидный спектры, инсулинсвязывающая активность мембран лимфоцитов и эритроцитов, уровень АТФ, активность мембраносвязанного фермента Na^+ K^+ -АТФазы, концентрация малонового диальдегида и другие показатели. Установлена прямая зависимость между активностью функции инсулиновых рецепторов и уровнями АТФ. Выраженность метаболических нарушений у пациентов с СД I зависела от длительности диабета, стадии компенсации углеводного обмена и наличия сосудистых осложнений: было отмечено выраженное повышение содержания общего ХС у пациентов с течением заболевания более 5 лет или с сосудистыми осложнениями. Пациенты с СД 2 характеризовались более выраженными и разнообразными отклонениями показателей липидного обмена. Повышение содержания общего холестерина и триацилглицеридов в сыворотке крови сопровождалось снижением холестерина ЛПВП. В основе метаболической недостаточности у детей, больных сахарным диабетом, лежит дислипидемия, нарушение структурно-функциональных свойств в мембрано-рецепторном аппарате клеток, сопровождающееся снижением уровня АТФ, угнетением активности мембраносвязанного фермента Na^+ K^+ -АТФазы, резким снижением инсулинсвязывающей активности рецепторов и уменьшением потребления глюкозы клетками, что свидетельствует о снижении чувствительности клеток к инсулину. Пациенты с СД 2 характеризовались более выраженными и разнообразными отклонениями показателей липидного обмена.

Ключевые слова: АТФ, инсулинсвязывающая активность, сахарный диабет, дислипидемия, энергетический обмен

RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF THE INSULIN RECEPTOR AND ATP BLOOD ON THE BACKGROUND OF CHILDREN DYSLIPIDEMIA IN DIABETES MELLITUS

Gurina A.E., Mikaelyan N.P., Kulayeva I.O., Mikaelyan A.V., Terentyev A.A.

Government, fiscal institution of higher professional education

«Russian National Research Medical University them. Pirogov», Moscow, e-mail: ninmik@yandex.ru

In the study of the of the interplay between the state of the energy metabolism of insulin receptors on the background of dyslipidemia in patients with diabetes mellitus (DM) children. The following parameters were studied in 70 children with diabetes type I and II: lipid and lipoprotein spectral insulinbinding active membrane cells and red blood cells, ATP levels, the activity of membrane-bound enzyme Na^+ , K^+ -ATPase, the concentration of malondialdehyde and other indicators. Is a direct correlation between the activity of the insulin receptor function and levels of ATP. Of metabolic abnormalities in patients with type 1 diabetes depend on the duration of diabetes, the stage of compensation of carbohydrate metabolism and the presence of vascular complications has been a marked increase in the content of total cholesterol in patients over 5 years of disease or vascular complications. Patients with type 2 diabetes characterized by more open and diverse abnormalities in lipid metabolism. Elevated levels of total cholesterol and triacylglycerides in the serum was associated with decreased HDL cholesterol. At the heart of the metabolic deficiency in children with diabetes, there are dyslipidemia, structural – functional properties of membrane-receptor system cells, including a decrease in the level of ATP, inhibition of the activity of membrane-bound enzyme Na^+ , K^+ -ATPase, a sharp decline insulinbinding receptor activity and a decrease in consumption glucose by cells, which indicates a decrease in the sensitivity of cells to insulin. Patients with type 2 diabetes characterized by more open and diverse abnormalities in lipid metabolism.

Keywords: ATP insulinbinding activity, diabetes mellitus, dyslipidemia, energy metabolism

Чтобы осуществить свое действие на метаболизм глюкозы после поступления в циркуляцию, инсулин связывается со специфическими рецепторами на мембранах клеток. Дефект инсулинового действия развивается вследствие нарушения связывания гормона, а также ухудшения образования вторичного посредника инсулинового действия, уменьшения транспорта глюкозы в клетку или дистальных дефектов основных ферментов, участвующих в утилизации глюкозы [5, 4].

Развивающийся ацидоз на фоне гипергликемии при СД у детей нарушает течение многих ферментативных реакций в организме и вместе с тем активизирует некоторые фосфолипазы и протеазы, что ведет к усилению распада фосфолипидов и белков и к повышению концентрации ненасыщенных жирных кислот и усилению их перекисного окисления.[3]. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) усиливается, и в результате подавления и истощения антиоксидантной системы из-за активации

распада и торможения ресинтеза белковых компонентов данной системы. Продукты ПОЛ, в свою очередь, усугубляют нарушение структуры и функции мембран, в том числе и инсулинсвязывающую функцию. В результате формируется гипоксический тип метаболизма, резко усугубляющий течение СД у детей.

Тяжесть течения у детей и подростков СД типа 1 (СД 1) характеризуется быстрым развитием гипоксии и других метаболических осложнений, патогенез которых по-прежнему остается изученным недостаточно.

Целью работы является изучение состояния энергетического обмена и зависимость между активностью инсулиновых рецепторов и уровнями АТФ крови у детей, больных сахарным диабетом.

Материалы и методы исследования

При сахарном диабете у детей проводили комплексное исследование липидного состава сыворотки и мембран клеток крови, степени переокисления липидов, инсулинсвязывающую активность (ИСА) клеток крови, а также состояние ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ). Обследовано 70 детей в возрасте 3–15 лет с сахарным диабетом 1 и 2 типа, в контрольную группу были включены 26 практически здоровых детей, не предъявляющих в момент обследования жалоб. 27 детей страдали СД 1, длительность которого варьировалась от 1 года до 10 лет. Степень компенсации СД была определена с учетом содержания глюкозы в сыворотке крови утром натощак и концентрации гликированного гемоглобина (Hb A_{1c}). Компенсацию углеводного обмена у детей считали при показателе Hb A_{1c} ниже 7,0%. 17 детей 13–15 лет страдало СД 2 типа (СД 2). Показатели метаболизма глюкозы у них указывали на декомпенсированное течение заболевания (средний уровень Hb A_{1c} – 12,6%, суточная гликемия – 11,26 ммоль/л, доза инсулина 0,95 Ед/кг). Больные СД 1 дети получали человеческий рекомбинантный инсулин в индивидуальной дозе по интенсифицированной схеме (от 0,35 до 1,66 Ед/кг). При СД 2 типе дети также получали корригирующую углеводный обмен терапию (препараты групп сульфонилмочевины и бигуанидов).

Липиды мембран эритроцитов экстрагировали хлороформ-метаноловой смесью по методу J. Folch et al. 1957 [11]. Общее содержание липидов в мембране эритроцитов определяли методом Тарановой Н.А., 1987 [8]. Препаративное разделение общих липидов проводили методом тонкослойной хроматографии [Финдлей Дж.Б., Эванз У.Г., 1990] [9] в системе растворителей гептан:диэтиловый эфир:этилацетат (в соотношении 80:20:1,5) на пластинках «Sorbfil» (Россия). Разделение фракций фосфолипидов мембран эритроцитов методом тонкослойной хроматографии по Прохоровой М.И., 1982 [7] осуществляли в системе хлороформ:метанол:вода (в соотношении 32:12,5:2) на пластинках «Sorbfil» (Россия). Идентификацию фракций липидов осуществляли с использованием соответствующих стандартов (фирма «Sigma», США). Количественную оценку хроматограмм проводили с помощью разработанной компьютерной программы.

Эритроциты, отделенные от плазмы, отмывали трехкратным центрифугированием в среде Хэнк-

са без кальция и магния с рН 7,3 на центрифуге Multifuge 1S/ IS-R Германия) при 1900 g в течение 10 мин. Утилизацию глюкозы клетками крови определяли в среде, содержащей 2·10⁹ кл/мл отмывтых эритроцитов, инкубированных с возрастающими концентрациями нативного инсулина [6]. О количестве глюкозы, потребленной клетками, судили по разнице концентрации глюкозы в среде до и после инкубации. Активность инсулиновых рецепторов исследовали по связыванию ¹²⁵I – инсулина с лимфоцитами, полученными из цельной крови в одноступенчатом градиенте фикола-верографина по методу Boum [10] и с эритроцитами, отмывтыми трёхкратно, по ранее описанному нами методу [4]. Концентрацию АТФ и лактата в периферической крови определяли с помощью наборов фирмы «Boehringer», активность Na⁺, K⁺-Ca²⁺-АТФазы определяли по модифицированному методу [2].

Данное исследование одобрено комитетом по этике РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Дети и их родители давали информированное согласие на участие в данном исследовании.

Оценку хроматограмм проводили с помощью разработанной компьютерной программы.

Результаты исследования обрабатывали при помощи t-критерия Стьюдента. Приведена среднеарифметическая ± ошибка средних показателей. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных СД 1 липидный спектр сыворотки крови характеризовался повышением концентрации общего ХС и повышением индекса атерогенности. При этом выраженность метаболических нарушений у пациентов с СД 1 зависела от длительности диабета, стадии компенсации углеводного обмена и наличия сосудистых осложнений: было отмечено выраженное повышение содержания общего ХС у пациентов с течением заболевания более 5 лет или с сосудистыми осложнениями. Пациенты с СД 2 характеризовались более выраженными и разнообразными отклонениями показателей липидного обмена (табл. 1). Повышение содержания общего холестерина и триацилглицеридов в сыворотке крови сопровождается снижением холестерина ЛПВП.

Механизмы развития гиперхолестеринемии при сахарном диабете связаны с нарушением гормональной регуляции, так как инсулярная недостаточность может быть связана не только с нарушением углеводного и липидного обмена, но и повышением уровня контринсулярных гормонов [1] и, следовательно, нарушением всех видов обмена веществ. Гипертриглицеридемия сопряжена с повышением содержания ЛПОНП. Как полагают, повышение образования ЛПОНП в печени происходит благодаря увеличенному поступлению жирных кислот [12], а также отсутствию ингибирующего влияния инсулина на продукцию и формирование ЛПОНП.

Таблица 1

Изменение некоторых метаболических показателей крови у больных сахарным диабетом типа 1 и 2 ($X \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Больные сахарным диабетом типа 1	Больные сахарным диабетом типа 2
ЛПВП, мг/дл	292,8 ± 11,3	236,89 ± 9,8 $p_1 > 0,05$	295,17 ± 15,4 $p_1 > 0,05; p_2 > 0,05$
ЛПНП, мг/дл	457,06 ± 16,1	435,71 ± 12,5 $p_1 > 0,05$	533,31 ± 23,4 $p_1 > 0,05; p_2 > 0,05$
ЛПОНП, мг/дл	53,47 ± 3,9	53,45 ± 4,9 $p_1 > 0,05$	124,85 ± 13,2 $p_1 < 0,01; p_2 < 0,01$
Общий холестерин, мг/дл	169,63 ± 11,5	258,06 ± 9,8 $p_1 < 0,05$	303,80 ± 10,4 $p_1 < 0,001; p_2 < 0,01$
Общие триглицериды, мг/дл	150,39 ± 9,3	119,38 ± 8,7 $p_1 > 0,05$	213,67 ± 11,5 $p_1 < 0,001; p_2 < 0,01$
ХС/ФЛ	0,911 ± 0,26	0,960 ± 0,03 $p_1 < 0,01$	0,960 ± 0,09 $p_1 < 0,01; p_2 > 0,05$
ХС ЛПВП, мг/дл	57,87 ± 8,7	43,91 ± 7,1 $p_1 < 0,05$	48,13 ± 7,2 $p_1 < 0,05; p_2 > 0,05$
Активность Na^+ , K^+ -АТФазы, мкМоль P /час·мг белка	0,107 ± 0,04	0,032 ± 0,03 $p_1 < 0,05$	0,061 ± 0,03 $p_1 < 0,05; p_2 > 0,05$
АТФ, мкМоль/л	621 ± 26,8	364,7 ± 17,6 $p_1 < 0,01$	317,8 ± 17,9 $p_1 < 0,01$
МДА в плазме, мкмоль/мл	0,75 ± 0,03 $n = 26$	1,16 ± 0,03 $p_1 < 0,001$ $n = 6$	1,18 ± 0,01 $p_1 < 0,001$ $n = 16$

Примечания: p_1 – уровень значимости различий по сравнению со значениями в контрольной группе; p_2 – уровень значимости различий по сравнению со значениями у пациентов сахарным диабетом типа 1. ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности, ЛПВП – липопротеины высокой плотности, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Как показало проведенное нами исследование, в мембранах эритроцитов у больных СД угнетена активность Na^+ , K^+ -АТФазы (табл. 1). Не исключено, что снижение активности Na^+ , K^+ -АТФазы является результатом структурной модификации липидного матрикса мембран эритроцитов у больных СД детей, вследствие повышения интенсивности свободно-радикальных процессов в мембранах клеток, о чём свидетельствуют высокие значения МДА ($p < 0,001$) (табл. 1). Структурно-функциональными изменениями в липидном бислое мембран эритроцитов можно объяснить уменьшение потребления глюкозы и синтеза АТФ в клетках тканей организма.

Вышеуказанные изменения приводят к достоверному снижению активности инсулиновых рецепторов как эритроцитарных мембран, так и лимфоцитов, и не только при СД типа 2, но и при СД типа 1 (табл. 2).

При исследовании зависимости между активностью инсулиновых рецепторов в эритроцитах и лимфоцитах и уровнями АТФ крови у детей, больных СД с трудным достижением фазы компенсации в динамике у 35 детей с лабильным течением сахарного диабета, получающих инсулин в дозе от 0,6 до 1,0 ед./кг массы тела, показало выраженную тенденцию к снижению уровня АТФ крови ($277,77 \pm 17,43$ мкмоль/л, $p < 0,05$ по сравнению с контролем) (табл. 2).

Низкий уровень АТФ крови отражает его недостаточное содержание в клетках, т.к. АТФ проходит через клеточные мембраны. У больных с синдромом хронической передозировки гормона через 1 час после завтрака с предварительным введением инсулина уровень АТФ еще больше снижался в отличие от больных в фазе декомпенсации, но без признаков передозировки инсулина (соответственно $228,52 \pm 29,15$ и $372,33 \pm 41,76$ мкмоль/л, $p < 0,02$).

Очевидно, что у больных первой группы имеется недостаток эффектов инсулина на метаболизм. Исследование активности инсулиновых рецепторов у этих детей показало снижение специфического связывания инсулина лимфоцитами ($20,68 \pm 4,0\%$, контроль – $40,05 \pm 3,8\%$, $p < 0,05$). Выявленная положительная зависимость между сни-

женным уровнем АТФ крови и специфическим связыванием инсулина лимфоцитами ($r = 0,45$, $p < 0,05$) свидетельствует о развитии у детей с тяжелым СД типа I в фазе декомпенсации инсулинрезистентности, особенно выраженной при синдроме хронической передозировки инсулина, на фоне низкого уровня АТФ крови.

Таблица 2

Изменение содержания АТФ, активности инсулиновых рецепторов клеток крови и Na^+ , K^+ -АТФазы в эритроцитах у детей при сахарном диабете типа 1 и 2 ($X \pm m$)

Группа больных	АТФ крови, мкМоль/л	ИСА в эритроцитах, %	ИСА в лимфоцитах, %	Активность Na^+ , K^+ -АТФазы, мкМоль P_i /час·мг белка	Утилизация глюкозы эритроцитами, ($2 \cdot 10^9$) Кл/ч
Контроль	$621 \pm 26,8$	$29,1 \pm 3,9$	$40,05 \pm 3,8$	$0,107 \pm 0,04$	$1,09 \pm 0,015$
СД типа I	$364,7 \pm 17,43$ $p < 0,05$	$22,6 \pm 2,1$ $p > 0,05$	$20,68 \pm 4,05$ $p < 0,05$	$0,032 \pm 0,03$ $P < 0,05$	$0,88 \pm 0,03$
СД типа II	$317,8 \pm 17,9$	$17,5 \pm 3,6$	$19,4 \pm 4,9$	$0,42 \pm 0,42$	$0,82 \pm 0,016$

Примечание. p – уровень достоверности различий по сравнению со значениями в контрольной группе.

Как показало проведенное исследование, в мембранах эритроцитов у больных СД угнетена активность Na^+ , K^+ -АТФазы (табл. 1), что может указывать на нарушение структуры и функции мембраны в процессах активного транспорта ионов. Функционирование мембранной Na^+ , K^+ -АТФазы связано с гидролизом значительного количества АТФ.

Проведенное исследование состояния инсулиновых рецепторов на фоне дислипидемии показало, что у больных с лабильным течением СД I и значительным снижением инсулинсекреции имеет место снижение инсулинсвязывающей активности (ИСА) лимфоцитами. Так, ИСА в лимфоцитах у таких детей составляло $31,61 \pm 3,9\%$; в контрольной группе – $47,9 \pm 5,9\%$ ($p < 0,001$), что также подтверждает предположение о влиянии уровня ПОЛ на окислительную модификацию мембран клеток.

Выводы

1. В основе метаболической недостаточности у детей, больных СД, лежат нарушения структурно-функциональных свойств в мембрано-рецепторном аппарате клеток, сопровождающиеся снижением уровня АТР, угнетением активности мембраносвя-

занного фермента Na^+K^+ -АТФазы, резким снижением инсулинсвязывающей активности рецепторов и уменьшением потребления глюкозы клетками, что свидетельствует о снижении чувствительности клеток к инсулину.

2. СД у детей протекает с нарушением липидного обмена, активацией процессов липидной перекисидации, приводящей к изменению структурно-функциональных свойств мембран клеток.

Список литературы

1. Кравец Е.Б., Рязанцева Н.В., Яковлева Н.М., Бутсова В.Н., Тухватулин Р.Т., Новикова Л.К. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при сосудистых осложнениях сахарного диабета типа I // Сахарный диабет. – 2006. – № 1. – С. 10–17. (2006) Сахарный диабет, (1), 10–14.
2. Макаренко Е.В. АТФ азная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лаб. дело. –1986. – № 3. – С. 14–17.
3. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – М.: Медгиз, 2008. – 284.
4. Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Максина А.Г., Петрухин В.А. Механизмы нарушений функций мембрано-рецепторного аппарата при инсулинзависимом сахарном диабете у беременных женщин // Проблемы эндокринологии. – 1994. – т. 40. – № 4. – С. 4–7.
5. Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Петрухин В.А., Микаелян А.В. Инсулинрецепторное взаимодействие в лимфоцитах и эритроцитах у беременных с гестационным сахарным диабетом // Сахарный диабет. – 2006. – № 1. – 15–17.

6. Микаелян Н.П. Метаболический статус и инсулин-вязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях: дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1991.
7. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1965. – 220 с.
8. Таранова Н.А., Говорова Л.В. Механизмы метаболической адаптации и окислительный стресс при вирусных и бактериальных инфекциях у детей // *Вопр. медиц. химии.* – 1987. – 2. – С. 132–136.
9. Финдлей Дж.Б., Эванз У.Г. Биологические мембраны. Методы. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
10. Boum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow *Scand // J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – 21, Suppl. 97. – P. 77–89.
11. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley A.G.H. (1957) *J. Biol. Chem.*, 226, (1), 497-509. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. Biol. Chem.* – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.
12. Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2005. – № 68. – P. 207–216.
6. Mikaelyan N.P. 1991.
7. Prokhorova M.I., Tupikova Z.N. Bolshoi praktikum po uglevodnomu i lipidnomu obmenu.-A large workshop of carbohydrate and lipid metabolism, 1965, pp. 220.
8. Taranova N.A., Govorova L.V. Voprosi meditsinskoj khimii.- Questions of medical chemistry, 1987, pp. 132–136.
9. Findley Dj.B., Evanz U.G. Biologicheskie membrany- Biological membranes, 1990, pp. 424.
10. Boum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow *Scand // J. Clin. Lab. Invest.* 1968. 21, Suppl. 97. pp. 77–89.
11. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley A.G.H. (1957) *J. Biol. Chem.*, 226, (1), 497-509. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. pp. 497–509.
12. Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2005. no. 68. pp. 207–216.

References

1. Kravets E.B., Ryazantseva N.V., Yakovleva N.M., Butusova V.N., Tuhvatulin R.T., Novikova L. K.Sakharniy diabet- Diabetes mellitus, 2006, no.1, pp. 13–15.
2. Makarenko E.V. Laboratornoe delo- Laboratory work, 1986, no 3, pp. 14–17.
3. Menshikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Okislitelnyy stress-Oxidative stress, 2008, pp. 284.
4. Mikaelyan N.P., Knyazev Yu.A., Maksina A.G., Petrukhin V.A., Problemy endokrinologi-Problems of Endocrinology, 1994, t.40, no. 4, pp. 4–7.
5. Mikaelyan N.P., Knyazev Ju.A., Petrukhin V.A., Mикаелян А.Р., Sakharniy diabet- Diabetes mellitus, 2006, no. 1, pp. 15–17.

Рецензенты:

Торховская Т.И., д.б.н., ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Российской академии медицинских наук (ФГБУ ИБМХ РАМН), г. Москва;

Белова О.В., д.б.н., заведующая лабораторией молекулярной иммунологии и биохимии, ФГУ «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства (ФГУ НИИ ФХМ ФМБА России), г. Москва.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.12-008.331.1

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У БОЛЬНЫХ ПОДАГРОЙ И ГИПЕРУРИКЕМИЕЙ

¹Иванова К.В., ²Майко О.Ю.

¹ГАУЗ ГКБ им. Н.И. Пирогова, поликлиника № 3, Оренбург, e-mail: kseniya-ivanova-82@inbox.ru;

²ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, Оренбург, e-mail: omajko@yandex.ru

В связи с ростом бессимптомной гиперурикемии и заболеваемости подагрой (1-3%) эти состояния рассматриваются как важные факторы риска сердечно-сосудистой патологии. Цель исследования – оценить взаимосвязь гиперурикемии с артериальной гипертензией, нарушением липидного профиля у больных подагрой и бессимптомной гиперурикемией. Результаты: по данным непараметрического корреляционного анализа установлены значимые взаимосвязи гиперурикемии с ожирением, нарушением параметров липидного профиля, артериальной гипертензией и поражением органов мишеней.

Ключевые слова: подагра, бессимптомная гиперурикемия, артериальная гипертензия

THE RELATIONSHIP OF HYPERTENSION, METABOLIC DISORDERS IN PATIENTS WITH GOUT AND ASYMPTOMATIC HYPERURICEMIA

¹Ivanova K.V., ²Mayko O.Y.

¹Municipal clinical hospital V.I. Pirogov, polyclinic № 3, Orenburg, e-mail: kseniya-ivanova-82@inbox.ru;

²Orenburg State Medical Academy, Orenburg, e-mail: omajko@yandex.ru

The gout and asymptomatic hyperuricemia are imposibal factors of risk of the cardiovascular deseasis. Aim: evaluate the relationship of hyperuricemia with arterial hypertension, lipid profile in patients with gout and asymptomatic hyperuricemia. Results: the nonparametric correlation analysis showed the relationship of hyperuricemia with obesity, metabolic disorders of the lipid profile, arterial hypertension, and the defeat of the target organs. Giperurikemiya at these categories of patients was combined with more expressed increase the arterial pressure and prevalence of adverse changes of the arterial pressure daily profile on type a non-dipper and night-piker. At patients with gout of change of the arterial pressure daily profile were characterized by statistically significantly more expressed reduction of extent of night decrease and inversion of a daily rhythm the arterial pressure systolic and diastolic arterial pressure.

Keywords: gout, asymptomatic hyperuricemia, arterial hypertension

В настоящее время в связи с ростом заболеваемости подагрой (1–3%) и высоким риском сердечно-сосудистых осложнений подагра рассматривается как важная медико-социальная проблема [1, 4]. Сочетание АГ с обменными нарушениями имеет огромную значимость. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что ГУ является предиктором развития сердечно-сосудистых событий и смерти у больных с АГ и застойной сердечной недостаточностью, и, по-видимому, может рассматриваться как независимый фактор риска сердечно-сосудистых осложнений [3, 4, 6]. По данным ряда авторов, частота АГ у больных подагрой колеблется от 36 до 58%, а в сочетании с метаболическим синдромом увеличивается до 72% [7, 8, 9, 10, 10, 12].

Цель исследования – оценить взаимосвязь ГУ с особенностями суточного профиля АД у больных подагрой и бессимптомной гиперурикемией (БГУ) в сочетании с АГ.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены больные в возрасте от 41 до 70 лет (средний возраст $57,6 \pm 6,34$ лет), из них 31 мужчина (52%) и 29 женщин (48%). Всем

пациентам проводилось общеклиническое обследование с оценкой антропометрических показателей: рост, вес, ИМТ, окружность талии (ОТ), окружность бедра (ОБ), отношение ОТ/ОБ. Определение степени ожирения оценивалось согласно критериям ВОЗ (1997). Выполнялось биохимическое исследование крови с определением общего холестерина (ХС), ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, триглицеридов (ТГ), индекса атерогенности (ИА), мочевины, креатинина, мочевой кислоты (МК) крови, РФ, СРБ. Оценивались общие анализы крови и мочи с суточной экскрецией МК в моче, сахар крови натощак. Инструментальное обследование включало: электрокардиография (ЭКГ), эхокардиография (ЭХО КГ), суточное мониторирование АД (СМАД), УЗИ почек. За норму показателей принимались уровни ОХ и ТГ – 5,0 и 1,7 ммоль/л соответственно.

Все пациенты были разделены на две группы: I группу ($n = 30$) составили пациенты с подагрой, II группу ($n = 30$) – с БГУ в сочетании с АГ I–III степени. Согласно критериям Европейской антиревматической лиги, за норму принято считать уровень МК в крови < 360 ммоль/л [14]. Диагноз подагры выставляли в соответствии с критериями S.L. Wallace [13]. Учет числа атак проводился анамнестически и по данным медицинской карты. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза оценивалась в соответствии с Рекомендациями экспертов Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК 2004). Критерии исключения из исследования: тяжелая тофусная

подагра, вторичные артериальные гипертензии, сердечно-сосудистые события в анамнезе, аритмии, сахарный диабет, тяжелые сопутствующие заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, почек, тяжелой сердечная недостаточность, онкологический анамнез.

Полученные результаты статистически обрабатывались с использованием методов описательной статистики с вычислением средней арифметической (M) и стандартного отклонения (SD). Сравнение клинических данных проводилось с помощью (χ^2), корреляционного анализа по методу Спирмена.

Применялись непараметрический методы – критерий Вилкоксона и Манна–Уитни. Уровень статистически достоверной значимости принимался при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая характеристика больных, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов

Показатели	I группа (n = 30)	II группа (n = 30)
Пол, м/ж	26/4 (87%-13%)**	5/25 (17%-83%)
Возраст, годы (M ± SD)	53,51 ± 12,37	56,28 ± 6,39
Степени АГ		
I ст.	11 (37%)	9 (30%)
II ст.	16 (53%)	17 (57%)
III ст.	3 (10%)	4 (13%)
Длительность АГ, годы	9,62 ± 4,31	12,82 ± 4,76
Длительность подагры, годы	5,29 ± 2,37	–
Количество приступов артрита в год	2,75 ± 1,37	–
Количество больных с остеоартрозом (n, %)	16 (53%)	28 (93%) *
ИМТ, кг /м ²	29,73 ± 2,85	35,43 ± 5,93 *
Избыточная масса тела	15 (50%)	9 (30%)
Ожирение I ст.	10 (33%)	10 (33%)
Ожирение II ст.	5 (17%)	8 (27%)
Ожирение III ст.	–	3 (10%)*
ОТ, см	96,72 ± 7,29	103,26 ± 9,52
ОБ, см	57,51 ± 6,52	59,18 ± 5,69
ОТ/ОБ	1,62 ± 0,25	1,8 ± 0,21
ИММ ЛЖ, г/м ²	131,2 ± 4,25	122,1 ± 5,73
Нефролитиаз n, %	23 (77%)**	13 (43%)
Ангиопатия сетчатки	17 (57%)	22 (73%)

Примечание. Данные представлены в (M ± SD); * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ *** – $p < 0,001$ (по критерию Манна–Уитни).

Из табл. 1 следует, что обе группы достоверно различались по половому составу. Среди больных подагрой преобладали мужчины (87%), а при БГУ – женщины (83%). Средняя продолжительность заболевания подагрой составила 5,29 ± 2,37 лет, с частотой обострения артрита в среднем 3 (от 1 до 4) атаки в год. Преобладало рецидивирующее течение заболевания у 18 человек (60%), хроническое течение было у 12 человек (40%). Количество пораженных суставов составило 4 (от 3 до 6), 20% пациентов имели внутрикостные и подкостные тофусы. На момент исследования больные находились в межприступном периоде (более двух недель после купирования артрита) и ранее не принимали антигиперурикемические препараты. У больных II группы в 93% выявлялся остеоартроз.

Анализ антропометрических данных показал, что половина больных подагрой и 30% с БГУ имели избыточную массу тела, по 33% – I ст., 17 и 27% – II ст. и только при БГУ 10% больных – III ст. абдоминального ожирения. Отношение ОТ/ОБ составило 1,62 ± 0,25, и 1,8 ± 0,21 у пациентов I и II групп, что статистически значимо выше нормальных показателей ($p < 0,01$).

Изменения липидного профиля обнаружены у подавляющего большинства больных обеих групп, причем у больных подагрой показатели были достоверно хуже. Почти у половины пациентов отмечалось повышение уровня ХС общего (средн. 6,27 ± 1,3 и 6,01 ± 0,86 ммоль/л), ХС ЛПНП (средн. 3,65 ± 1,09 и 3,61 ± 0,58 ммоль/л), ТГ (средн. 1,69 ± 1,42 и 1,56 ± 0,6 ммоль/л), ИА (средн. 4,39 ± 1,68 и 3,74 ± 1,32 Ед)

у больных I и II групп соответственно. Только у 7% больных I группы и 10% больных II группы показатели липидного обмена были в пределах нормы. Длительность подагры у пациентов с нормальными показателями липидного профиля была значительно меньше ($3,4 \pm 2,1$ года). Коэффициент ИА оказался повышенным у 24 (80%) и 20 (67%) больных I и II групп соответственно. У больных I группы достоверно был выше уровень МК крови $503,28 \pm 68,08$ ммоль/л против $432,5 \pm 62,03$ ммоль/л ($p < 0,01$) и уровень креатинина $102,67 \pm 29,96$ ммоль/л против $89,26 \pm 14,6$ ммоль/л при БГУ. Результаты корреляционной зависимости по Спирмену уровня МК в крови с клинико-лабораторными показателями, отражающими взаимосвязь обменных нарушений при подагре и БГУ, показали прямую корреляционную связь между величиной ГУ и показателя-

ми, отражающими степень ожирения (ИМТ $r=0,32$, ОТ/ОБ $r=0,29$), ($p < 0,01$). Кроме того, концентрация МК в крови статистически значимо прямо коррелировала с показателями атерогенного профиля (ХС общим $r=0,32$, ЛПНП $r=0,37$ при ($p < 0,01$), а также с уровнем триглицеридемии $r=0,35$ ($p < 0,05$). Отмечалась низкая корреляционная связь между уровнем МК с ЛПВП и показателями ср. САД и ДАД 24, ИММ ЛЖ.

Продолжительность АГ составила $9,62 \pm 4,31$ и $12,82 \pm 4,76$ лет у больных I и II группы соответственно. У пациентов обеих групп преобладала АГ II степени – 53–57%, реже встречалась I ст. – 37–30% и III ст. – 10 и 13%, в I и II группах соответственно. Показатели средне-дневных и ночных значений САД и ДАД, индекса времени (ИВ) САД и ДАД статистически значимо отличались от нормальных в обеих группах (табл. 2).

Таблица 2

Средний уровень САД и ДАД по данным суточного мониторинга АД

Показатель	I группа	II группа	Контроль
САД днем, мм рт.ст.	$161,26 \pm 22,85^*$	$157,67 \pm 28,9^*$	< 140
САД ночью, мм рт.ст.	$141,69 \pm 24,81^*$	$141,4 \pm 29,21^*$	< 120
ИВ САД%	$59,65 \pm 30,19^{**}$	$53,12 \pm 37,78^{**}$	$< 20\%$
Вариабельность САД, мм рт. ст.	$17,76 \pm 5,37$	$16,36 \pm 3,42$	< 15
ДАД днем, мм рт.ст.	$90,96 \pm 14,87$	$94,53 \pm 15,66$	< 90
ДАД ночью, мм рт.ст.	$92,35 \pm 16,36^*$	$89,87 \pm 16,48$	< 70
ИВ ДАД%	$70,27 \pm 29,11^{**}$	$68,6 \pm 33,49^{**}$	< 15
Вариабельность ДАД, мм рт. ст.	$11,65 \pm 3,59$	$9,72 \pm 3,13$	< 13

Примечание. Данные представлены в (M ± SD); * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ (по критерию Манна–Уитни).

Повышенные цифры ср. САД и ДАД в дневные и ночные часы, индекса времени САД, величины утреннего подъема САД

чаще выявлялись у больных подагрой по сравнению с БГУ (табл. 3).

Таблица 3

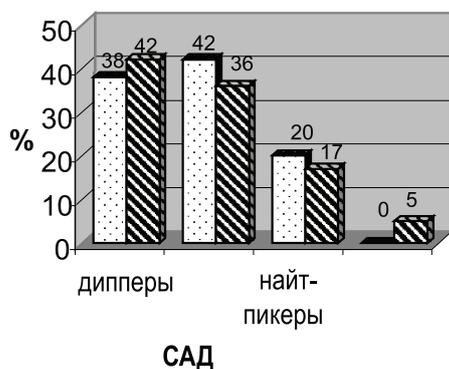
Количество больных с повышенным уровнем АД (абс., %)

Показатель	I группа	II группа	χ^2
САД днем, мм рт.ст.	22 (73,3%) **	18 (60%)	$< 0,05$
САД ночью, мм рт.ст.	24 (80%)	22 (73,3%)	$> 0,05$
ИВ САД, %	26 (86,7%) **	20 (66,7%)	$< 0,05$
Вариабельность САД, мм рт. ст.	28 (93,3%)	26 (86,7%)	$> 0,05$
ДАД днем, мм рт.ст.	14 (46,7%)	14 (46,7%)	$> 0,05$
ДАД ночью, мм рт.ст.	24 (80%)	22 (73,3%)	$> 0,05$
ИВ ДАД, %	29 (96,7%)	28 (93,3%)	$> 0,05$
Вариабельность ДАД, мм рт. ст.	15 (50%)	14 (46,7%)	$> 0,05$
ВУП САД, мм рт. ст.	10 (33,3%) *	6 (20%)	$< 0,01$
ВУП ДАД, мм рт. ст.	17 (56,7%) **	6 (20%)	$< 0,01$

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ (по критерию χ^2).

Гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ) диагностировалась при индексе массы миокарда левого желудочка (ИММ ЛЖ) $> 130 \text{ г/м}^2$ у мужчин и $> 110 \text{ г/м}^2$ у женщин (по данным ЭХО КГ). У больных I группы ГЛЖ была выявлена у 32%, II группы – у 37%.

На рисунке представлено нарушение суточного профиля САД в обеих группах больных. Количество пациентов с нормальным суточным профилем САД (диппер) в I и II группах составило соответственно 38 и 42%. Прогностически неблагоприятные нарушения суточного профиля АД (нон-диппер и найт-пикер) выявлялись чаще у больных I группы 42 и 20% по сравнению с II группой 36 и 17% соответственно ($p < 0,05$). Нарушения суточного профиля ДАД имели аналогичные характеристики. Таким образом, отмечалось более тяжелое течение АГ и преобладание неблагоприятных типов суточного ритма АД у больных подагрой.



□ I группа подагра ■ II группа БГУ

Нарушения суточного профиля САД у больных подагрой и ГУ

Полученные в ходе исследования результаты показали существование взаимосвязей ГУ с ожирением, нарушением обмена липопротеидов (увеличением уровня ОХ, ЛПНП, гипертриглицеридемией), а также АГ и поражением органов-мишеней. У больных подагрой и БГУ прогностическое значение АГ становится особенно неблагоприятным в связи с высокой частотой сопутствующих обменных нарушений. В нашем исследовании нарушение обмена липопротеидов выявлено у 93% больных подагрой и 90% при БГУ, а сочетание гипертриглицеридемии и ГУ у лиц с абдоминальным ожирением при подагре у 45%, при БГУ у 22% пациентов. Взаимосвязь уратного дисметаболизма и ожирения, прежде всего абдоминального, подтверждается рядом популяционных исследований, указывающих на значительную частоту БГУ

у лиц с избыточным весом и ожирением [7]. Известно, что у подобных больных вероятность поражения органов-мишеней особенно высока (ГЛЖ, гиперкреатининемия, микроальбуминемия, увеличение толщины интима-медиа сонных артерий) [3].

Анализ данных нашего исследования указывает на сочетание гиперурикемии с более выраженным повышением АД. У больных подагрой и БГУ преобладала II ст. (53 и 57%) и I ст. АГ (37 и 30%) с преобладанием неблагоприятных характеристик суточного профиля АД по типу недостаточного снижения АД в ночное время и ночная гипертония («нон-дипперы» и «найт-пикеры»). В ряде работ показано, что у больных с ГУ изменения суточного профиля АД характеризовались тенденцией к уменьшению степени ночного снижения ДАД и инверсией суточного ритма ДАД, а также повышением ночной вариабельности АД [2, 5, 11].

В связи с вышесказанным коррекцию нарушений обмена МК на фоне АГ следует рассматривать в ряду первоочередных мер первичной и вторичной профилактики, включающих, прежде всего, воздействие на особенности образа жизни – ограничение пищевых продуктов, содержащих большое количество пуриновых оснований, отказ от приема алкоголя и назначение адекватной антигиперурикемической и антигипертензивной терапии у больных подагрой, так и с бессимптомной гиперурикемией.

Выводы

1. У больных подагрой и бессимптомной гиперурикемией в сочетании с артериальной гипертензией выявлены прямые корреляционные взаимосвязи с ожирением, нарушением обмена липидов, поражением органов-мишеней.

2. Гиперурикемия у данных категорий больных сочеталась с более выраженным повышением АД и преобладанием неблагоприятных изменений суточного профиля АД по типу нон-диппер и найт-пикер.

3. У больных подагрой изменения суточного профиля АД характеризовались статистически значимо более выраженным уменьшением степени ночного снижения и инверсией суточного ритма САД и ДАД.

Список литературы

1. Барскова В.Г. Диагностика подагры // Научно-практич. ревматология. – 2012. – № 4. – С. 62–66.
2. Горбунов В.М. Некоторые вопросы практического использования суточного мониторинга артериального давления // Клиницист. – 2008. – № 3. – С. 30–40.
3. Донсков А.С. Связь между массой миокарда левого желудочка и нарушением обмена мочевой кислоты

у больных артериальной гипертонией // *Терапевтический архив*. – 2001. – № 6. – С. 31–33.

4. Ильина А.Е., Барскова В.Г., Насонов Е.Л. Подагра, гиперурикемия и сердечно-сосудистый риск // *Научно-практич. ревматология*. – 2009. – № 1. – С. 56–62.

5. Маркелова Е.И., Барскова В.Г., Ильина А.Е., Насонов Е.Л. Диагностика и лечение подагры // *Научно-практич. ревматология*. – 2010. – № 1. – С. 61–66.

6. Chang-Fu Kuo, Lai-Chu See. Gout: an independent risk factor all – cause and cardiovascular mortality // *Rheumatology*. – 2010. – Vol.49. – P. 141–46.

7. Desai M.Y., Santos R.D., Dalal D. Relation of serum uric acid with metabolic risk factors in asymptomatic middle-aged // *Am. J. Cardiol.* – 2005. – Vol. 95. – P. 865–868.

8. Hoiegggen A., Alderman M. H., Kjeldsen S.E. The impact of serum uric acid on cardiovascular outcomes in the LIFE study // *Kidney. Int.* – 2004. – Vol. 65. – P. 1041–1049.

9. Krishnan E., Baker J.F., Furst D.E. Gout and risk of acute myocardial infarction // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54. – P. 2688–96.

10. Mazzali M. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal- independent mechanism // *Hypertension*. – 2001. – Vol. 38. – P. 1101–1106.

11. Perez-Ruiz F., Calabozo M., Herrero-Beites A.M. Improvement of renal function in patients with chronic gout after prop control of hyperuricemia and gouty bouts // *Nephron*. – 2000. – Vol. 86(3). – P. 287–291.

12. Takahashi S., Yamamoto T., Moriwaki Y. Increased concentration of serum Lp(a) lipoprotein patients with primary gout // *Ann. Rheum. Dis.* – 2005. – Vol. 54. – P. 9–15.

13. Wallace S.L., Rolinson H., Masi A.T. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of gout // *Arthritis Rheum.* – 1977. – Vol. 20. – P. 895–900.

14. Zhang W. Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT) EULAR Standing Committee For International Part II: Management. Report of a task force of the EULAR evidence based recommendations for gout // *Ann. Rheum. Dis.* – 2006. – Vol. 65. – P. 1312–24.

References

1. Barskova V.G. // *Scientific and practical. rheumatology*. 2012. no. 4. pp. 62–66.

2. Gorbunov V.M. // *The Clinician*. 2008. no. 3. pp. 30–40.

3. Donskov A.S. // *Therapeutic archives*. 2001. no. 6. pp. 31–33.

4. Ilyina A.U., Barskova V.G., Nasonov E.L. // *Scientific-practical. rheumatology*. 2009. no. 1. pp. 56–62.

5. Markelova E.I., Barskova V.G., Ilyina A.U., Nasonov E.L. // *Scientific and practical. rheumatology*. 2010. no. 1. pp. 61–66.

6. Chang-Fu Kuo, Lai-Chu See. Gout: an independent risk factor all – cause and cardiovascular mortality // *Rheumatology*. 2010. Vol. 49. pp. 141–46.

7. Desai M.Y., Santos R.D., Dalal D. Relation of serum uric acid with metabolic risk factors in asymptomatic middle-aged // *Am. J. Cardiol.* 2005. Vol. 95. pp. 865–868.

8. Hoiegggen A., Alderman M.H., Kjeldsen S.E. The impact of serum uric acid on cardiovascular outcomes in the LIFE study // *Kidney. Int.* 2004. Vol. 65. P. 1041–1049.

9. Krishnan E., Baker J.F., Furst D.E. Gout and risk of acute myocardial infarction // *Arthritis Rheum.* 2006. Vol. 54. pp. 2688–96.

10. Mazzali M. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal- independent mechanism // *Hypertension*. 2001. Vol. 38. pp. 1101–1106.

11. Perez-Ruiz F., Calabozo M., Herrero-Beites A.M. Improvement of renal function in patients with chronic gout after prop control of hyperuricemia and gouty bouts // *Nephron*. 2000. Vol. 86(3). pp. 287–291.

12. Takahashi S., Yamamoto T., Moriwaki Y. Increased concentration of serum Lp(a) lipoprotein patients with primary gout // *Ann. Rheum. Dis.* 2005. Vol. 54. pp. 9–15.

13. Wallace S.L., Rolinson H., Masi A.T. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of gout // *Arthritis Rheum.* 1977. Vol. 20. pp. 895–900.

14. Zhang W. Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT) EULAR Standing Committee For International Part II: Management. Report of a task force of the EULAR evidence based recommendations for gout // *Ann. Rheum. Dis.* 2006. Vol. 65. pp. 1312–24.

Рецензенты:

Козлова Л.К., д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии, ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург;

Шилова Л.Н., д.м.н., заведующая кафедрой госпитальной терапии, военно-полевой терапии с курсом ревматологии, ФУВ ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 617.584-005.4-036.4-089

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ГОЛЕНЕЙ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ДО И ПОСЛЕ ПАЛЛИАТИВНЫХ РЕВАСКУЛЯРИЗИРУЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ

Коровин А.Я., Базлов С.Б., Трифанов Н.А., Зайцева Т.А.,
Каримова Ю.Е., Лизогубов К.И.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, e-mail: SerB64@yandex.ru

В работе представлены данные о дистрофических изменениях мышечной ткани и микроциркуляторного русла нижних конечностей у больных с хронической ишемией на фоне атеросклероза и сахарного диабета. Изучены показатели относительной плотности капиллярного русла и пространственной ориентировки капилляров после проведенных нереконструктивных операций. Проводимые нереконструктивные и паллиативные операции у ряда пациентов оказывают положительный эффект на течение ишемии. Улучшение перфузии мягких тканей при этом связано с увеличением плотности капиллярного русла, перестройкой его в сторону структур с преимущественной ориентацией, вазодилатацией и снижением общего периферического сопротивления. Установлено, что изучаемые показатели могут служить критерием эффективности этих операций.

Ключевые слова: хроническая ишемия нижних конечностей, микроциркуляция, паллиативные операции

MORPHOLOGICAL CHANGE MUSCULAR FABRICS SHANKS BESIDE SICK WITH CHRONIC ISCHEMIA OF THE LOWER LIMBS BEFORE AND AFTER PALLIATIVE REVASCULARIZING OPERATION

Korovin A.Y., Bazlov S.B., Trifanov N.A., Zaytceva T.A., Karimova Y.E., Lizogubov K.I.

The Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: SerB64@yandex.ru

Results of the morphological study muscular fabrics lower limbs beside sick with chronic ischemia on background atherosclerosis and diabetes are presented in work. The change muscular fabrics and micro circulation of the riverbed of the lower limbs were revealed. These change straight depends on degree of gravity and duration of existence ischemia. Density capillary and their spatial orientation in muscular fabrics of the shanks beside patients with talocrural ischemia after indirect revascularizing operations were studied. Beside row patient to palliative operations render the positive effect on current chronic ischemia. This is connected with increase of density of the capillary riverbed, realignment his aside structures with primary orientation, reduction general resistances. Revealed morphological criteria possible to use for estimation of efficiency revascularizing operation, conducted beside patient with chronic ischemia of the lower limbs.

Keywords: talocrural ischemia, micro circulation, palliative operation

Наиболее сложной проблемой хирургического лечения гнойно-некротических процессов нижних конечностей на фоне артериальной ишемии является поражение артерий с нарушениями «путей оттока» в виде облитерации артерий голени и стопы, встречающееся у 13–20% пациентов [4, 5, 7, 9]. В этом случае операции, направленные на восстановление магистрального кровотока, часто невыполнимы и больным производится ампутация конечности [5, 6]. В настоящее время в различных лечебных учреждениях выполняются нереконструктивные операции, направленные на улучшение кровообращения, связанное с функциональной и морфологической перестройкой микроциркуляторного русла нижних конечностей [2, 3, 6, 8]. Однако до настоящего времени нет единого мнения о морфологии микроциркуляторного русла при ишемии, патогенетической обоснованности выполнения подобных операций, не разработаны прогностические критерии, а также критерии эффективности проведенного лечения.

Цель – изучить морфологическое состояние мышечной ткани и микроциркуляторного русла нижних конечностей у больных с гнойно-некротическими поражениями на фоне хронической ишемии.

Материалы и методы исследования

Изучены морфологические срезы мышечной ткани нижних конечностей 107 пациентов в возрасте $64,6 \pm 9,7$ лет с гнойно-некротическими поражениями голени и стоп на фоне артериальной ишемии нижних конечностей. В комплекс обследования входило ультразвуковое триплексное сканирование с определением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) и индекса периферического сопротивления (RI), кожная оксиметрия с определением $TcPO_2$. При необходимости выполнялась ангиография. Материал для морфологического исследования получали при выполнении реvascularизирующей операции и из мышц ампутированной конечности. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Для сокращения объема выборки использовали номограмму А.К. Митропольского (1961) [1], которая при ошибке $\epsilon = 0,05$ позволяет уменьшить объем выборки до 25. Показатели относительной плотности капилляров, число деструктурированных мышечных волокон определяли «методом полей» [1] (рис. 1).

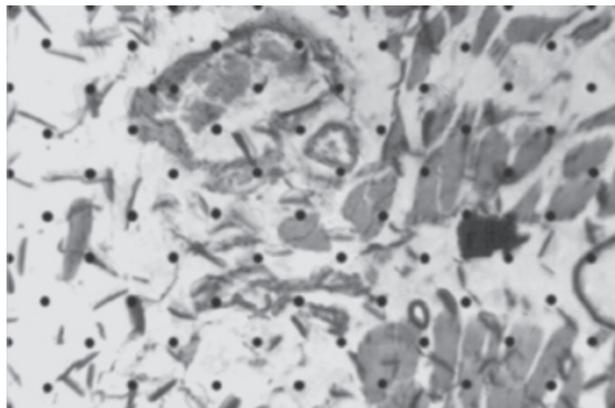


Рис. 1. Определение плотности капиллярного русла и числа деструктурированных мышечных волокон (метод полей – наложение на срез мышечной ткани точечной сетки с равноудаленными точками; гематоксилин-эозин, $\times 280$ объектив $\times 40$, окуляр $\times 7$)

Оцифровку изображений проводили при помощи микроскопа «Leika», при общем увеличении $\times 280$ (объектив $\times 40$, окуляр $\times 7$). Работа с изображениями происходила с использованием лицензионного графического пакета «Leika Suite 3.2».

Для определения пространственной ориентировки капилляров определяли угол отклонения длинной оси сечения капилляров от выбранной направляющей по ходу волокон мышечной ткани с вычислением среднего квадратического отклонения и показателя

дисперсии (рис. 2). Для оценки данных использовали классификацию Г.Г. Автандилова [1]. При дисперсии равной нулю считают, что микрообъекты имеют строгую пространственную ориентировку. При дисперсии от 0 до 900 или среднем квадратическом отклонении менее 30 микрообъекты имеют предпочтительную пространственную ориентировку. Случайно ориентированными микрообъекты считались при дисперсии более 900 или среднем квадратическом отклонении более 30.

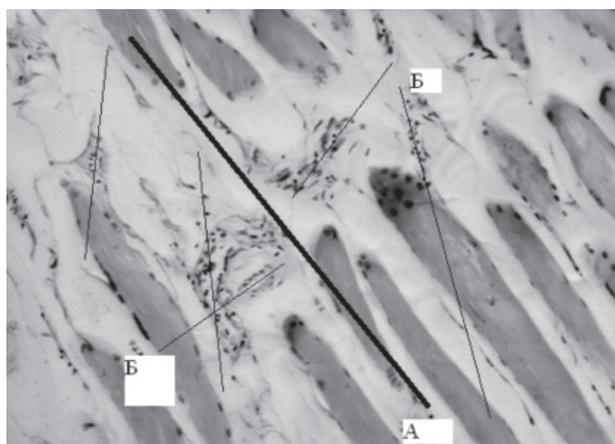


Рис. 2. Определение пространственной ориентировки капилляров: А – выбранная направляющая; Б – длинные оси сечения капилляров (гематоксилин-эозин, $\times 280$ объектив $\times 40$, окуляр $\times 7$)

Статистические исследования выполнялись при помощи программы «Statistica 6».

Результаты исследования и их обсуждение

У 12 (11,2%) пациентов выявлена II степень ишемии (ЛПИ = $0,67 \pm 0,06$, $TcPO_2 = 36,4 \pm 4,3$ мм рт.ст.), у 22 (20,6%) – III степень (ЛПИ = $0,46 \pm 0,05$, $TcPO_2 = 29,2 \pm 2,8$ мм рт.ст.) и у 73 (68,2%) – IV степень ишемии нижних конечностей по Фонтейну–Покровскому (ЛПИ = $0,34 \pm 0,02$, $TcPO_2 = 21,4 \pm 2,6$ мм рт.ст.). Во всех наб-

людениях определялись единичные или многоэтажные окклюзии или стенозы на уровне подвздошно-бедренного и бедренно-подколенного сегментов. У 47 (43,9%) больных отмечено сочетание атеросклероза и сахарного диабета 2 типа с явлениями диабетической ангиопатии сосудов нижних конечностей. После уточнения характера и уровня поражения сосудов, степени ишемии конечности всем больным были проведены реваскуляризирующие операции в сочетании с биопсией мышечной ткани голени. В 35 (32,7%) наблюдениях

в комплексе лечения выполнены операции на магистральных артериях. У 2 (5,7%) больных выполнены подвздошно-бедренные шунтирования с использованием тefлоновых эндопротезов, у 12 (34,3%) пациентов – эндартерэктомии в сочетании с профундопластикой. У 21 (60%) больного произведено бедренно-подколенное шунтирование реверсированной аутовеной. В одном случае у 72 (67,3%) пациентов с критической ишемией применены паллиативные методы реваскуляризации конечности. Реваскуляризирующая остеотрепанация (РОТ) выполнена у 25 (34,7%) пациентов, туннелирование мышц голени (ТМГ) – у 27 (37,5%) больных, поясничная симпатэктомия (ПСЭ) – в 20 (27,8%) наблюдениях. Показаниями к этим операциям считали невозможность выполнения прямой артери-

альной реконструкции при многоэтажных окклюзиях и стенозах на всем протяжении нижней конечности, «балл оттока» более 8,0 по R. Rutherford.

При морфологическом изучении срезов мышечной ткани нижних конечностей, полученных на фоне явлений хронической ишемии, выявлены выраженные дистрофические изменения в виде отека, лейкоцитарной инфильтрации тканей по ходу кровеносных сосудов, замещения мышечных волокон соединительной или жировой тканью, спазмом и запустением капилляров, а также склеротическими изменениями в стенке артериол. При наличии у больного сахарного диабета в стенках кровеносных сосудов определялись характерные изменения в виде медиакальциноза (рис. 3).

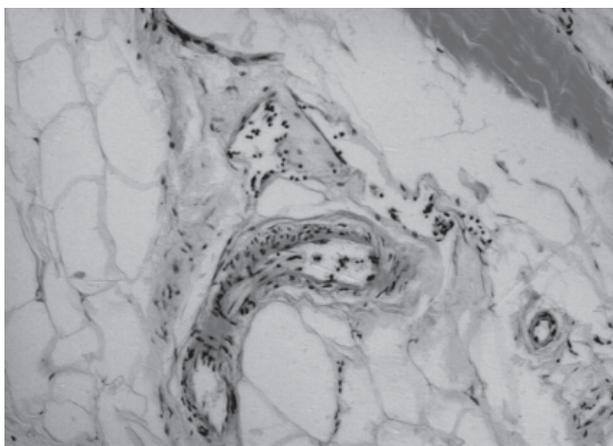


Рис. 3. Поражение сосудистой стенки при сахарном диабете (гемотоксилин-эозин, $\times 280$ объектив $\times 40$, окуляр $\times 7$)

Установлено, что независимо от степени ишемии капилляры мышечной ткани голени во всех отделах не имеют какой-либо предпочтительной ориентировки. Средний угол между осью капилляров и направляющей линией при II степени ишемии составил $81,3 \pm 13,7^\circ$ при среднем квадратическом отклонении в $42,5 \pm 6,3^\circ$, при III степени ишемии – $81,7 \pm 12,4^\circ$, а среднее квадратическое отклонение – $45,6 \pm 7,8^\circ$. В случаях IV степени ишемии эти показатели составили $84,3 \pm 16,7$ и $40,2 \pm 6,4^\circ$.

При анализе показателей объемной плотности капилляров статистически значимых различий их от степени выраженности ишемии не установлено (таблица). По мере нарастания степени ишемии конечности достоверно увеличивается количество нефункционирующих капилляров (тромбированных, или спазмированных и запустевших), и объемная плотность деструктурированных элементов мышечной ткани.

В среднем на 9–15 сутки пребывания больного в стационаре у 19 больных (17,8%), были произведены вынужденные ампутации на уровне верхней трети голени и средней трети бедра. В 2 (10,5%) случаях ампутация выполнена по поводу прогрессирования ишемии и гнойно-некротического процесса в результате тромбоза реверсированной аутовены. У 6 (31,6%) больных перед этим была выполнена РОТ, у 4 (21,1%) – ТМГ, у 7 – ПСЭ (36,8%). При исследовании мышечной ткани различных участков ампутированных голени у пациентов, после проведенных нереконструктивных и паллиативных операций, на фоне прогрессирования дистрофических изменений, выявлены некоторые различия. В тканях, отдаленных от места проведения РОТ, предпочтительной ориентировки капилляров не выявлено. Средний угол между осью капилляров и направляющей составил $93,5 \pm 11,4^\circ$ при среднем квадратическом отклонении $52,8^\circ$. Также не обнаружено

статистически значимого изменения относительной плотности капиллярного русла. В участках мышечной ткани, непосредственно предлежащей к перфорированной надкостнице большеберцовой кости, выявлено статистически недостоверное ($p > 0,05$) увеличение плотности капиллярного русла до

$3,1 \pm 0,4$ у.е. При этом выявлена выраженная вазодилатация на уровне микроциркуляции во всех отделах мышечной ткани. Средний уровень отклонения оси капилляров от направляющей составил $76,4 \pm 7,6^\circ$ при среднеквадратическом отклонении $28,7 \pm 1,3^\circ$, показатель дисперсии составил 841,7.

Морфологическая характеристика мышечной ткани нижних конечностей в зависимости от степени ишемии

Показатель	Степень ишемии		
	II	III	IV
Объемная плотность капилляров (у.е.)	$2,8 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,5$	$2,6 \pm 0,4$
Количество нефункционирующих капилляров (%)	$10,7 \pm 1,2$	$17,5 \pm 1,7^*$	$27,0 \pm 2,3^*$
Угол отклонения длинных осей капилляров от направляющей ($^\circ$)	$81,3 \pm 13,7$	$81,7 \pm 12,4$	$84,3 \pm 16,7$
Среднее квадратическое наклонение ($^\circ$)	$42,5 \pm 6,3$	$45,6 \pm 7,8$	$40,2 \pm 6,4$
Дисперсия (у.е.)	1806 ± 257	2079 ± 311	1616 ± 223
Объемная плотность элементов мышечной ткани с признаками деструкции (%)	$11,2 \pm 2,2$	$13 \pm 2,5$	$17 \pm 2,3^*$

Примечание. Различия между группами достоверны ($p < 0,05$).

При морфологическом исследовании мышечной ткани ампутированных конечностей у больных после ТМГ изменения пространственной ориентировки капилляров не обнаружено. Средний угол отклонения оси капилляров от направляющей составил $84,3 \pm 16,7^\circ$, среднее квадратическое отклонение – $44,2^\circ$. На фоне прогрессирования дистрофических изменений в мышечной ткани выявлено достоверное увеличение плотности капиллярного русла во всех отделах голени до $3,4 \pm 0,2$. В мышечной ткани пациентов, перенесших ПСЭ через 12–15 дней после операции, достоверных изменений показателей плотности капиллярного русла и пространственной ориентировки капилляров не выявлено. На фоне прогрессирующих дистрофических изменений мышечной ткани определялась умеренная вазодилатация и снижение числа нефункционирующих капилляров до $12,3 \pm 2,2\%$.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о наличии дистрофических изменений мышечной ткани и микроциркуляторного русла нижних конечностей на фоне хронической ишемии. Выраженность этих изменений напрямую зависит от степени тяжести и длительности существования ишемии. Проводимые нереконструктивные и паллиативные операции у ряда пациентов оказывают положительный эффект на течение ишемии. Улучшение перфузии мягких тканей при этом связано с увеличением плотности капиллярного русла, пере-

стройкой его в сторону структур с преимущественной ориентацией, вазодилатацией и снижением общего периферического сопротивления. Достоверные морфологические изменения определяются не ранее 10-14 дней после проведенной операции. Количественные морфологические критерии в виде показателей плотности капиллярного русла и пространственной ориентировки капилляров можно использовать для оценки эффективности нереконструктивных операций, проводимых у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Бельков Ю.А., Кыштымов С.А., Богданова М.Г., Дудник А.В. Реваскуляризирующая остеотрепанация в комплексном хирургическом лечении хронической критической ишемии нижних конечностей // Хирургия. – 2004. – № 9. – С. 14–16.
3. Ишенин Ю.М., Валеев Р.А., Фахрутдинов Р.Н. Способ хирургического лечения критической ишемии конечностей // Синграальная хирургия. – 2001. – № 4(8). – С. 32–34.
4. Капутин М.Ю., Платонов С.А., Овчаренко Д.В., Воронков А.А., Киселев М.А. Ангиографические характеристики поражения, влияющие на выбор тактики эндоваскулярной реваскуляризации при критической ишемии нижних конечностей // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19. – № 1. – С. 39–43.
5. Покровский А.В., Чупин А.В., Паршин П.Ю., и др. Применение генерического простагландина E1 ВАП 20® у больных с критической ишемией нижних конечностей: проспективное исследование // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19. – № 2. – С. 17–23.
6. Самодай В.Г., Мартемьянов С.В., Есипенко В.В. и др. Возможности нестандартной хирургии критической

ишемии нижних конечностей при окклюзирующих поражениях инфраингвинальных артерий // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2003. – № 3 (приложение). – С. 269–270.

7. Троицкий А.В., Бехтев А.Г., Хабазов Р.И., Беляков Г.А., Лысенко Е.Р., Скруберт В.С., Грязнов О.Г., Азарян А.С., Соловьева Е.Д., Захарова И.М. Результаты гибридных операций при этажных поражениях артерий аорто-подвздошного и бедренно-подколенного сегментов // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2013. – Т. 19. – № 1. – С. 39–43.

8. Фокин А.А., Балтрушевич О.А., Демяник Д.В., Григорьева Ю.Ф. Методы паллиативных вмешательств у больных с синдромом диабетической стопы // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2003. – № 3 (приложение). – С. 328–329.

9. Faglia E., Clerici G., Airoidi F., et al. Revascularization by Angioplasty of Type D Femoropopliteal and Long Infrapopliteal Lesion in Diabetic Patients With Critical Limb Ischemia: Are TASC II Recommendations Suitable? A Population-Based Cohort Study // *International Journal of Lower Extremity Wounds*, December. – 2012. – № 11. – P. 277–285.

References

1. Avtandilov G.G. *Medicinskaya morfometriya. Rukovodstvo*. M.: Medicina, 1990. 384 p.

2. Bel'kov Yu.A., Kyshtymov S.A., Bogdanova M.G., Dudnik A.V. Revaskulyariziruyushhaya osteotomnaya v kompleksnom khirurgicheskom lechenii khronicheskoy kriticheskoy ishemii nizhnix konechnostej // *Xirurgiya*, 2004. no. 9. pp. 14–16.

3. Ishenin Yu.M., Valeev R.A., Faxrutdinov R.N. Sposob khirurgicheskogo lecheniya kriticheskoy ishemii konechnostej // *Singraal'naya khirurgiya*, 2001. no. 4(8). pp. 32–34.

4. Kaputin M.Yu., Platonov S.A., Ovcharenko D.V., Voronkov A.A., Kiselev M.A. Angiograficheskie karakteristiki porazheniya, vliyayushhie na vybor taktiki endovaskulyarnoy revaskulyarizatsii pri kriticheskoy ishemii nizhnix konechnostej // *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 2013. T. 19. no. 1. pp. 39–43.

5. Pokrovskij A.V., Chupin A.V., Parshin P.Yu., i dr. Primenenie genericheskogo prostaglandina E1 VAP 20® u bol'nyx s kriticheskoy ishemiej nizhnix konechnostej: prospektivnoe issledovanie // *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 2013. T. 19. no. 2. pp. 17–23.

6. Samodaj V.G., Martem'yanov S.V., Esipenko V.V. i dr. Vozmozhnosti nestandartnoj khirurgii kriticheskoy ishemii nizhnix konechnostej pri okklyuziruyushhix porazhenii infraingvinal'nyx arterij // *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 2003. no. 3 (prilozhenie). pp. 269–270.

7. Troickij A.V., Bextev A.G., Xabazov R.I., Belyakov G.A., Lysenko E.R., Skrubert V.S., Gryaznov O.G., Azaryan A.S., Solov'eva E.D., Zaxarova I.M. Rezul'taty gibridnyx operacij pri e'tazhnyx porazheniyax arterij aorto-podvzdoshnogo i bedrenno-podkolennogo segmentov // *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 2013. T. 19. no. 1. pp. 39–43.

8. Fokin A.A., Baltrushevich O.A., Demyanik D.V., Grigor'eva Yu.F. Metody palliativnyx vmeshatel'stv u bol'nyx s sindromom diabeticheskoy stopy // *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 2003. no. 3 (prilozhenie). pp. 328–329.

9. Faglia E., Clerici G., Airoidi F., et al. Revascularization by Angioplasty of Type D Femoropopliteal and Long Infrapopliteal Lesion in Diabetic Patients With Critical Limb Ischemia: Are TASC II Recommendations Suitable? A Population-Based Cohort Study // *International Journal of Lower Extremity Wounds*, December, 2012. no. 11. pp. 277–285.

Рецензенты:

Шапошников В.И., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар;

Оноприев А.В., д.м.н., профессор кафедры хирургии № 1 ФПК и ППС, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616-097.3: [617-001.17+616.71-018.46-002

СОДЕРЖАНИЕ ДУБЛЬ-ПОЗИТИВНЫХ CD4⁺CD8⁺ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ТЯЖЕЛООБОЖЖЕННЫХ И БОЛЬНЫХ С ОСТЕОМИЕЛИТОМ

Лебедев М.Ю., Шолкина М.Н., Живцов О.П.

ФГБУ ННИИТО Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: nniito@rambler.ru

Обнаруживаемые в периферической крови дубль-позитивные CD4⁺CD8⁺ лимфоциты являются высокодифференцированными клетками памяти, которые имеют большое значение в развитии реакций адаптивного иммунитета в ответ на различные инфекционные агенты. Авторами было выдвинуто предположение, что патологии с ярко выраженными инфекционными процессами, такие как ожоговая болезнь и хронический остеомиелит на стадии обострения, могут сопровождаться изменениями содержания этих клеток в периферической крови, которые могут иметь корреляции с уровнем в крови Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций. С помощью многоцветной проточной цитометрии было изучено содержание CD4⁺CD8⁺, CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов у 20 тяжелообожженных и 20 больных с хроническим остеомиелитом в стадии обострения. В качестве контроля обследовали 10 здоровых добровольцев. Выявлено, что у пациентов с термической травмой уровень CD4⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов не отличался от нормальных показателей. У пациентов с обострением хронического остеомиелита имелась тенденция к увеличению CD4⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺highCD8⁺low. Не было выявлено зависимости числа CD4⁺CD8⁺ клеток от возраста и частоты обострений остеомиелита. В обеих группах исследования корреляционных взаимоотношений между числом дубль-позитивных клеток и содержания CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов обнаружено не было. Полученные результаты указывают на то, что содержание CD4⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови тяжелообожженных и больных с хроническим остеомиелитом является стабильным показателем, участие которого в механизмах противoinфекционного иммунитета при данных патологиях еще предстоит выяснить.

Ключевые слова: CD4⁺CD8⁺ лимфоциты, ожоги, хронический остеомиелит

CONTENT OF DOUBLE-POSITIVE CD4⁺CD8⁺ LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH SEVERE BURNS AND PATIENTS WITH OSTEITIS

Lebedev M.Y., Sholkina M.N., Zhivshov O.P.

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics,
Nizhny Novgorod, e-mail: info@nniito.ru

Double-positive CD4⁺CD8⁺ lymphocytes detected in peripheral blood are well-differentiated memory cells being of considerable importance in adaptive immunity reaction progression in response to various infectious agents. The authors made an assumption that pathologies with florid infections, such as burn disease and chronic osteitis in the exacerbation phase may be accompanied by alterations in content of these cells in peripheral blood; the cells can correlate with T-lymphocytes and their general subsets' level in blood. By means of multicolor flow cytometry content of CD4⁺CD8⁺, CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes of 20 patients with severe burns and 20 patients with chronic osteitis in the exacerbation phase was analyzed. For control purposes 10 healthy subjects were examined. It was revealed that in case of patients having heat injuries CD4⁺CD8⁺ T-lymphocytes level did not diverge. In case of patients with chronic osteitis in the exacerbation phase the trend was towards expansion in the number of CD4⁺CD8⁺ T-lymphocytes with CD4⁺highCD8⁺low phenotype. The dependence of CD4⁺CD8⁺ cells' number on the age and osteitis exacerbation incidence was not revealed. In both study groups correlation relationships between the number of double-positive cells and content of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes was not revealed. The obtained results show that content of CD4⁺CD8⁺ T-lymphocytes in peripheral blood of patients with severe burns and patients with chronic osteitis is stable; the role of the content in anti-infective immunity mechanisms in case of such pathologies is still to be clarified.

Keywords: CD4⁺CD8⁺ lymphocytes, burns, chronic osteitis

Ожоговая болезнь и обострение хронического остеомиелита протекают на фоне выраженных изменений в иммунной системе, признаком которых являются изменения в популяционном составе лимфоцитов периферической крови [1, 2, 5, 8]. Для оценки состояния клеточного звена иммунной системы в клинической практике имеет широкое распространение изучение пяти основных популяций лимфоцитов: Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и NK-клеток. Вместе с тем становится ясным, что заметную роль в развитии иммунных наруше-

ний могут принимать «редкие» субпопуляции лимфоцитов [6].

Мембранные молекулы CD4 и CD8 являются ко-рецепторами комплекса TCR-CD3 и рассматриваются как основные маркеры определения Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. До недавнего времени считалось, что одновременно CD4 и CD8 появляются на мембране лимфоцитов только на стадии β-селекции при их развитии в тимусе. Обнаружение CD4⁺CD8⁺ клеток в периферической крови считалось неким артефактом, связанным с преждевременным выходом незрелых лимфоци-

тов из тимуса [4, 10] или признаком активации цитотоксических Т-лимфоцитов [9]. К настоящему времени установлено, что представители данной субпопуляции лимфоцитов являются высокодифференцированными клетками памяти [3]. Исследователи выделяют несколько вариантов фенотипа $CD4^+CD8^+$ клеток, таких как $CD4^{dim}CD8^{bright}$ (или $CD4^{low}CD8^{high}$) и $CD4^{bright}CD8^{dim}$ ($CD4^{high}CD8^{low}$). Помимо человека фенотип $CD4^{bright}CD8^{dim}$ часто встречается в крови экспериментальных животных: свиней, цыплят, крыс и мышей, приматов [9]. Имеются сведения об увеличении $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов в периферической крови при различных патологических состояниях, например, мононуклеозе, вызванном вирусом Эбштейна-Барра, ВИЧ-инфекции, хроническом лимфолейкозе, миастении, рассеянном склерозе, идиопатической тромбоцитопенической пурпуре и др. [9]. Значение увеличения количества этих клеток остается во многом необъяснимым, хотя считается, что дубль-позитивные Т-лимфоциты могут иметь большое значение в реакциях адаптивного иммунитета в ответ на различные инфекционные агенты [3]. Сведений о количестве $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов в периферической крови пациентов с ожоговой травмой и хроническими остеомиелитами, патологиями с ярко выраженными инфекционными процессами в доступной литературе найти не удалось.

Целью данной работы явилось проведение анализа количественного содержания дубль-позитивных Т-клеток и их фенотипа, а также числа $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов в периферической крови тяжелообожженных больных и пациентов с хроническими остеомиелитами в период обострения заболевания.

Материалы и методы исследования

Исследованы образцы крови 20 пациентов с термической травмой (все пациенты с благоприятным исходом ожоговой болезни) и 20 пациентов с обострением хронического остеомиелита. Возраст больных варьировался от 37 до 75 лет. Все пациенты получали стандартное лечение, включающее оперативные вмешательства и медикаментозную терапию. Специфических иммуномодуляторов не использовали. Образцы для исследований забирали в утренние часы одновременно с плановыми анализами. В качестве образцов использовали цельную кровь из периферической вены с добавлением антикоагулянта ЭДТА-К3. Исследования проводили при поступлении пациентов в стационар (для пострадавших от ожога в период ожогового шока) и перед выпиской больных из стационара после полного курса терапевтических и хирургических мероприятий. В качестве контроля исследовали 10 образцов периферической крови здоровых волонтеров. Анализ выполняли в день поступления образца в лабораторию. Использовался

метод многоцветного анализа на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter). В качестве реагентов использовали четырехцветную панель моноклональных антител против CD45 (меченых – FITC), CD4 (меченых – PE), CD8 (меченых – ECD) и CD3 (меченых – PC5). Все реагенты производства «Beckman Coulter». Двойная экспрессия CD4 и CD8 выявлялась гейтированием по $CD45^+$ лимфоцитам. Результаты выражали в процентном содержании клеток.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ SPSS-14. При анализе взаимосвязей использовали коэффициент корреляции Пирсона. Уровень статистической значимости принимали равным 0,05. Результаты описаны средним и стандартным отклонением ($M \pm \sigma$).

Результаты исследования и их обсуждение

В группе здоровых добровольцев содержание $CD4^+CD8^+$ клеток в периферической крови было стабильным показателем и составило $0,7 \pm 0,2\%$ от общего количества лимфоцитов, что в целом соответствует литературным данным [3]. Во всех случаях выявлялись клетки как с фенотипом $CD4^{high}CD8^{low}$, так и $CD4^{low}CD8^{high}$ в соотношении примерно 1:1.

У пациентов с термической травмой количество дубль-позитивных $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов практически не отличалось от нормальных значений (табл. 1). Соотношение фенотипов $CD4^{high}CD8^{low}$ и $CD4^{low}CD8^{high}$ повторяло картину у здоровых добровольцев. Содержание этих клеток и соотношение фенотипов при поступлении и на момент выписки пациента из стационара находилось на одном уровне. Из всей группы ожоговых больных только у одного пациента уровень дубль-позитивных лимфоцитов на момент поступления превысил нормальные значения в четыре раза и оставался таковым к моменту выписки из стационара. Из сопутствующих заболеваний у пострадавшего выявлен хронический бронхит, который, вероятно, и мог послужить причиной повышения содержания клеток памяти в крови. Одновременно у других пострадавших, имевших подобное сопутствующее заболевание, бронхит не сопровождался повышением количества изучаемых клеток. Можно предположить, что ожоговая травма и проводимое по этому поводу лечение не приводили к количественному изменению $CD4^+CD8^+$ клеток в периферической крови обожженных.

Содержание Т-лимфоцитов, их основных субпопуляций и показатель иммунорегуляторного индекса также не имели достоверных различий от нормальных показателей в указанные сроки исследования.

Проведенный корреляционный анализ не выявил достоверных взаимоотношений между количеством $CD4^+CD8^+$ клеток и уровнем других изучаемых показателей.

Таблица 1

Содержание субпопуляций лимфоцитов в крови тяжелообожженных пациентов (%)

Показатель	Норма	При поступлении	Перед выпиской
CD3 ⁺ клетки	70 ± 5,3	70,0 ± 7,1	69,9 ± 9,4
CD4 ⁺ клетки	41,5 ± 5,7	43,9 ± 7,4	45,0 ± 9,8
CD8 ⁺ клетки	27,4 ± 3,4	24,7 ± 7,2	25,4 ± 7,0
CD4/CD8	1,5-2,6	1,9 ± 0,7	1,9 ± 1,0
CD4 ⁺ CD8 ⁺ клетки	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,9	0,9 ± 1,0

У пациентов с обострением хронического остеомиелита содержание CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов в периферической крови име-

ло тенденцию к увеличению как по сравнению с нормальными значениями, так и по сравнению с ожоговыми (табл. 2).

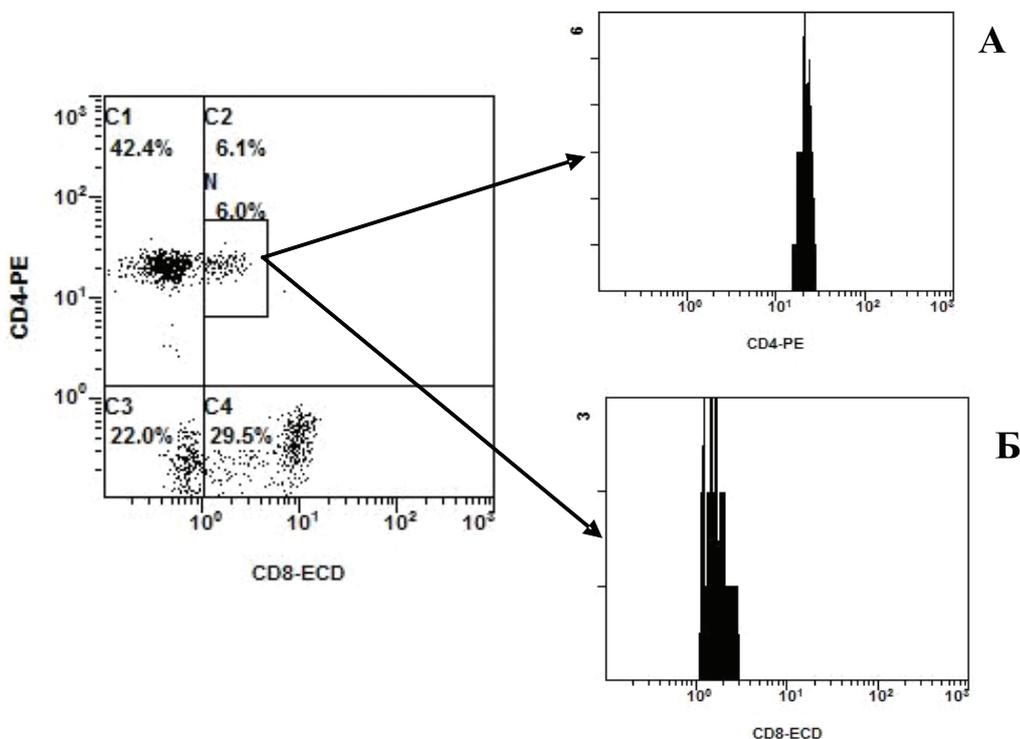
Таблица 2

Содержание субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов с остеомиелитом (%)

Показатель	Норма	При поступлении	Перед выпиской
CD3 ⁺ клетки	70 ± 5,3	76,7 ± 6,6	78,4 ± 4,6
CD4 ⁺ клетки	41,5 ± 5,7	45,4 ± 7,7	48,6 ± 8,4
CD8 ⁺ клетки	27,4 ± 3,4	28,6 ± 9,9	32,4 ± 8,7
CD4/CD8	1,5-2,6	1,7 ± 0,7	1,6 ± 0,6
CD4 ⁺ CD8 ⁺ клетки	0,7 ± 0,2	1,7 ± 1,9	1,9 ± 2,0

Также как и у ожоговых пациентов, количество дубль-позитивных клеток в периферической крови оставалось одинаковым как при поступлении, так и на момент выписки пациента. При этом в данной группе

больных преобладал фенотип CD4^{high}CD8^{low} в соотношении 3:1. Особенно ярко преобладание данного фенотипа выявлялось при высоком содержании CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов (рисунок).



Пример высокого содержания дубль-позитивных лимфоцитов с фенотипом CD4^{high}CD8^{low} в периферической крови пациента с хроническим остеомиелитом. На гистограммах А и Б показана интенсивность флуорисценции для молекул CD4 и CD8 соответственно

В группе пациентов с обострением хронического остеомиелита у девяти пациентов обнаружено повышенное содержание дубль-позитивных лимфоцитов. У одного пациента высокие показатели $CD4^{high}CD8^{low}$ клеток выявлены при повторной госпитализации спустя четыре месяца после выписки из стационара, т.е. содержание этих клеток остается стабильным как в период обострения, так и период ремиссии основного заболевания. Не было выявлено зависимости количества $CD4^{+}CD8^{+}$ клеток от возраста, времени нахождения в стационаре и частоты обострений основного заболевания, что частично подтверждает данные Lambert C et al. [7].

Содержание Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций имело тенденцию к увеличению перед выпиской пациентов по сравнению с первыми днями после госпитализации. Вероятно, это является реакцией на проведение курса антибиотикотерапии и санации гнойного очага, что приводит к снижению аутоинтоксикации.

Корреляционный анализ не выявил взаимосвязей содержания в периферической крови $CD4^{+}CD8^{+}$ клеток и $CD3^{+}$, $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$ лимфоцитов, а также иммунорегуляторного индекса.

Заключение

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что ожоговая болезнь и обострение хронического остеомиелита не оказывают существенного влияния на уровень в крови $CD4^{+}CD8^{+}$ клеток, соответственно количество этих лимфоцитов в периферическом кровотоке больных определяется прерорбидным фоном. Среди пациентов с хроническими остеомиелитами повышено число лиц с увеличением содержания в крови дубль-позитивных лимфоцитов по сравнению с ожоговыми больными и здоровыми добровольцами, а также преобладает фенотип $CD4^{high}CD8^{low}$. При изучаемых патологиях содержание $CD4^{+}CD8^{+}$ клеток не имеет корреляционных взаимоотношений с количеством $CD3^{+}$, $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$ лимфоцитов. Не удалось выявить зависимости количества $CD4^{+}CD8^{+}$ клеток и их фенотипа от возраста больных, тяжести течения основного заболевания и частоты обострений хронического остеомиелита (для данной категории пациентов). Вероятно, роль, которую могут играть эти клетки в механизмах противомикробного иммунитета при развитии ожоговой болезни и хронического остеомиелита еще предстоит выяснить.

Список литературы

1. Allgower M., Schoenenberger G.A., Sparkes B.G. Burning the largest immune organ // *Burns*. – 1995. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 19–20.

2. A cellular quantitative immune deficiency in chronic post-traumatic osteomyelitis. R. Siermann [et al.] // *Unfallchirurg* – 1992. – Vol. 95, № 5. – P. 254–258.

3. Peripheral $CD4^{+}CD8^{+}$ T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions / M. Nascimbeni [et al.] // *Blood*. – 2004. – Vol. 104, № 2. – P. 478–486.

4. Rat peripheral $CD4^{+}CD8^{+}$ T lymphocytes are partially immunocompetent thymus-derived cells that undergo postthymic maturation to become functionally mature $CD4^{+}$ T lymphocytes / E. Jimenez, [et al.] // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 168. – P. 5005–5013.

5. Risk Assessment in the Therapy for Osteomyelitis using Immunological Parameters / A.H. Tiemann, [et al.] // *Z. Orthop. Unfall.* – 2011. – Vol. 149, № 3. – P. 330–335.

6. The role of increased frequency of treg cells in patients with chronic osteomyelitis / Y. Wu [et al.] // *Orthopedics*. – 2011. – Vol. 34, № 2. – P. 98.

7. Significance of unconventional peripheral $CD4^{+}CD8^{dim}$ T cell subsets / C. Lambert [et al.] // *J. Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 25, № 5. – P. 418–427.

8. T lymphocytes in implant-associated posttraumatic osteomyelitis: Identification of cytotoxic T effector cells at the site of infection / C. Wagner [et al.] // *Shock*. – 2006. – Vol. 25, № 3. – P. 241–246.

9. Upregulation of $CD4$ on $CD8^{+}$ T cells: $CD4^{dim}CD8^{bright}$ T cells an activated phenotype of $CD8^{+}$ T cells / Y.B. Sullivan [et al.] // *Immunology*. – 2001. – Vol. 103, № 3. – P. 270–280.

10. Zuckermann FA. Extrathymic $CD4/CD8$ double positive T cells. // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 1999. – Vol. 72, № 1–2. – P. 55–66.

References

1. Allgower M., Schoenenberger G.A., Sparkes B.G., *Burns*, 1995, Vol. 21, Suppl. 1, pp. 19–20.

2. Siermann R., Möllenhoff G., Walz M., Josten C., Muhr G., *Unfallchirurg*, 1992, Vol 95, no. 5, pp. 254–258.

3. Nascimbeni M, Shin EC, Chiriboga L, Kleiner DE, Rehermann B., *Blood*, 2004, Vol. 104, no. 2, pp. 478–486.

4. Jiménez E., Sacedón R., Vicente A., Hernández-López C., Zapata A.G., Varas A., *J. Immunol.*, 2012, Vol. 168, pp. 5005–5013.

5. Tiemann A.H., Müller W.L., Wuthe F., Hofmann G.O., Sack U., *Z. Orthop. Unfall.*, 2011, Vol. 149, no. 3, pp. 330–335.

6. Wu Y., Tang Y., Liang X., Lin Y., Yang W., Ma Y., Huang L., Yang R., Ye J., Chen K., Shen H., *Orthopedics*, 2011, Vol. 34, no. 2, pp. 98.

7. Lambert C., Ibrahim M., Iobagiu C., Genin C., *J. Clin. Immunol.*, 2005, Vol. 25, no. 5, pp. 418–427.

8. Wagner C., Heck D., Lautenschläger K., Iking-Konert C., Heppert V., Wentzensen A., Hänsch G.M. *Shock*. 2006. Vol. 25, no. 3. pp. 241–246.

9. Sullivan Y.B., Landay A.L., Zack J.A., Kitchen S.G., Al-Harhi L., *Immunology*, 2001, Vol. 103, no. 3. pp. 270–280.

10. Zuckermann F.A., *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999. Vol. 72, no. 1–2. pp. 55–66.

Рецензенты:

Новиков В.В., д.б.н., профессор, директор НИИ молекулярной биологии и региональной экологии, ФГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород;
Контрощикова К.Н., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, ФПВК «Нижегородская государственная медицинская академия», г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.438-053.36-092:616.12-007-053.13]-076.5

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ПРИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЯХ РАЗВИТИЯ СЕРДЦА

¹Логина Н.П., ¹Четвертных В.А., ²Семченко В.В., ¹Чемурзиева Н.В., ¹Хромцова Г.А.

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия

им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, e-mail: natalitsa@yandex.ru;

¹ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»,
Институт ветеринарной медицины и биотехнологии, Омск

В работе представлены результаты иммуногистохимической оценки экспрессии цитокератинов: панцитокератин, СК 5/14, СК 8/18 в эпителиальных клетках стромы тимуса у детей 1 года жизни при различных внутриутробных нарушениях развития сердца. Установлена взаимосвязь накопления цитокератинов в эпителиальных клетках тимуса с тяжестью развития сердечного порока. Иммуноцитохимически верифицировалась незрелость тимусных эпителиальных клеток. Клетки теряли контакты между собой, нарушалась архитектура эпителиальной сети, особенно при сложных сердечных пороках. В следствии этого в коре наблюдали исчезновение в эпителиальных клетках тимуса цитокератина 8/18. Полученные иммуногистохимические и морфологические особенности состояния клеток стромы при нарушении развития сердца отражают начальные признаки эпителио-мезенхимальной трансформации, проявляющейся репрессией молекул межклеточной адгезии и потерей эпителиальных маркеров (цитокератинов). Наблюдаемая взаимосвязь явилась следствием эмбриональной особенности становления структур тимуса и сердца, в закладке которых существенную роль играют клетки нервного гребня.

Ключевые слова: тимус, эпителиальные клетки стромы, цитокератины, дети, врожденный порок сердца

IMMUNOCYTOCHEMICAL PECULIARITIES OF DIFFERENTIATION OF EPITHELIAL CELLS OF THE THYMUS IN INFANTS WITH FETAL DISORDERS OF THE HEART

¹Loginova N.P., ¹Chetvertnykh V.A., ²Semchenko V.V.,

¹Chemurzieva N.V., ¹Kxromtsova G.A.

¹Acad. E.A. Wagner Perm State Medical Academy, Ministry of Health,
Perm, e-mail: natalitsa@yandex.ru;

²Agrarian University Omsk P.A. Stolypin, Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology, Omsk

The results of immunohistochemical evaluation of the expression of cytokeratins : pantsitokeratin, CK 5/14, CK 8/18 in the epithelial cells of the thymic stroma in children 1 year of age with various violations of the fetal heart development . The relation between the accumulation of cytokeratins in epithelial cells of the thymus with the severity of heart defect. Immunocytochemistry was verified immature thymic epithelial cells . The cells lost contact Mezhu yev themselves violated arhitektonika epithelial network, particularly in complex cardiac defects. The consequence of this, in the cortex observed in the energy industry disappearance of cytokeratin 8/18. The resulting immunohistochemical and morphological features state of the cells of the stroma in violation of the heart reflect the initial signs of epithelial – mesenchymal transformation, manifested repression of intercellular adhesion molecule and the loss of epithelial markers (cytokeratins). The observed relationship was the result of peculiarities of embryonic structures of the thymus and heart, a tab which the essential role played by neural crest cells.

Keywords: thymus, epithelial cells of the stroma, cytokeratins, children, congenital heart disease

В постнатальном периоде тимус, являясь первичным органом иммунной системы, обеспечивает оптимальные условия для развития Т-лимфоцитов и формирует рециркулирующий пул этих клеток. В реализации этой функции участвует сложное микроокружение органа, основной клеточной популяцией которого являются эпителиальные клетки [1, 5]. Эпителиоциты образуют трехмерный каркас, секретируют ряд биологически активных веществ, участвуют в формировании гемато-тимического барьера, синтезируют и презентуют тканеспецифические антигены. Тимусные эпителиальные клетки (ТЭК) формируют прямой контакт с тимоцитами, что влияет на их состояние.

Взаимоотношения этих клеток являются реципрокными [2, 5]. Уникальной особенностью ТЭК среди других популяций клеток тимуса является наличие в цитоплазме цитокератин-промежуточных филаментов, появляющихся на этапе дифференцировки. Качество сборки промежуточных филаментов влияет на механическую стабильность и целостность эпителия [7, 8]. Тип эпителиальных клеток определяет набор цитокератинов (СК), который зависит от условий роста и стадий гистогенеза [10, 11]. Развитие ТЭК происходит из энтодермы 3–4-го глоточного кармана. Дальнейшее их становление идет под контролем каскада дифференцировочных факторов (Ноха 3, Рах 1, Рах 9,

Eya 1, Six 1, Foxn 1 и Gcm 2), экспрессируемых в плоточной энтодерме. В результате ТЭК одновременно экспрессируют цитokerатины СК 5 и 8. В этот период на развитие ТЭК влияют мезенхимальные производные нервного гребня через продукты генов *Fgf* (Fibroblast growth factors), что определяет дифференцировку ТЭК в кортикальные (СК8⁺) и медуллярные (СК5⁺) эпителиальные клетки [2, 5].

На этапе эмбриогенеза ведущим механизмом направленного действия различных дифференцировочных факторов является формирование определенных путей миграции клеток в те участки зародыша, где впоследствии из них будут образовываться зрелые производные [4]. В краниальном отделе клетки нервного гребня помимо тимуса активно принимают участие и в развитии сердца, в частности, в становлении соединительнотканых структур сердца, его перегородок и сосудов [6, 9]. Дефект миграции клеток нервного гребня может явиться причиной внутриутробных аномалий развития. Важным является вопрос взаимосвязи морфогенетических особенностей эпителиальных клеток тимуса, по экспрессии в них цитокератинов, и врожденных пороков сердца (ВПС) разной степени сложности.

Целью исследования явилось изучение особенностей становления дифференцировки различных субпопуляций эпителиальных клеток коркового вещества дольки тимуса у детей 1 года жизни при эмбриональных нарушениях развития сердца.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на тимусах, полученных от детей в возрасте до 1 года жизни во время операций по коррекции врожденных пороков. Исследовано 47 биоптатов тимуса. Выделено 2 группы: 1-я – тимусы ($n = 25$) от детей с легкими пороками сердца (дефект межжелудочковой перегородки; дефект межпредсердной перегородки); 2-я – тимусы ($n = 22$) от детей со сложными пороками сердца (тетрада Фалло; аномалия Эбштейна; транспозиция магистральных сосудов). Образцы материала фиксировали в 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,2). Гистологические препараты приготовлены по стандартным гистологическим методикам [3]. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных срезах с моноклональными антителами к эпителию: панцитокератин AbsAE1/AE3 (PanCK), цитокератин 5/14 (СК 5⁺) и цитокератин 8/18 (СК 8⁺) (производство Дасо, США).

Для получения полутонких срезов кусочки тимуса размером 1–2 мм³ фиксировали в 10% растворе глutarового альдегида и 1% растворе OsO₄, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в аралдитовые смолы. Готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали толудиновым синим.

Съемку препаратов проводили на морфометрической установке «Olympus» с последующим анализом

полученных изображений в программе IMAG PRO+ (free version). Полученные данные подвергали статистической обработке в программе Excel, 2007.

Результаты исследования и их обсуждение

Для верификации в тимусе стромального компонента использовали PanCK, включающий в себя широкий спектр цитокератинов, специфически реагирующих с нейтральными и кислыми кератинами эпителиальных клеток. В результате положительная экспрессия PanCK позволила идентифицировать весь эпителиальный компонент в тимусе. В корковом и мозговом веществе долек PanCK в эпителиальных клетках выявлялся с разной интенсивностью. Ярко накапливался в клетках, прилежащих к базальной мембране дольки тимуса. Клетки имели крупное светлое ядро, занимающее большую часть цитоплазмы. Отростки этих клеток формировали контакты друг с другом на всем протяжении базальной мембраны, формируя ровный непрерывный пласт продолжающийся в междольковые прослойки. Экспрессия PanCK в субкапсулярной и в основной части коры дольки отличалась и зависела от степени выраженности сердечного порока. В субкапсулярной зоне при слабо выраженных сердечных пороках PanCK накапливался равномерно. В большинстве долек эпителиальные клетки, соединяясь отростками, формировали подобие сети (кластеры), контактируя с лимфоцитами на этапе их развития (рис. 1).

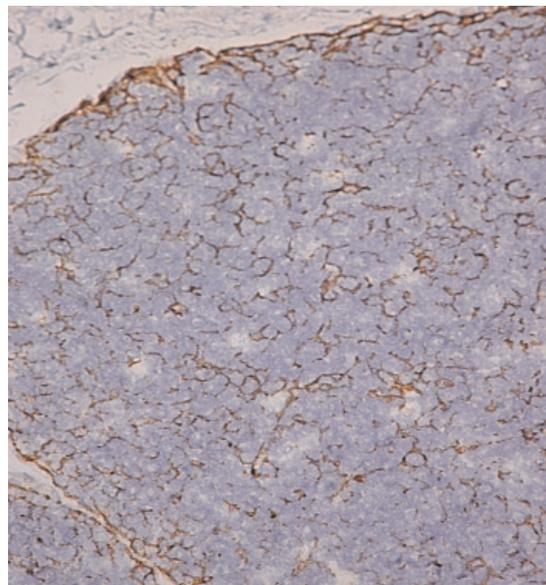


Рис. 1. Экспрессия PanCK в группе со слабыми пороками. Ув. ×400

В пределах коркового вещества доля кластеров составила $44,66 \pm 2,29\%$. Кластеры состояли из $325,34 \pm 35,39$ объектов,

представленных тимусными эпителиальными клетками, экспрессирующими PanCK. В кортикальной зоне ТЭК не везде формировали кластеры. В части долек сеть местами была нарушена, клетки между собой теряли контакт, что приводило к формированию изолированных скоплений ТЭК ($52,33 \pm 4,08\%$). В полутонких срезах эпителиальные клетки имели умеренные признаки дистрофических изменений, приводящие к потерям межклеточной связи и, как следствие, формированию зон клеточной дезорганизации. В глубокой коре, вблизи кортикотрикулярной границы, экспрессия PanCK вновь интенсивно регистрировалась в отростчатых клетках, формирующих несколько слоев эпителиального ретикулума.

При сложных сердечных пороках положительная экспрессия PanCK верифицировалась преимущественно на уровне базальной мембраны и субкапсулярной части коры дольки тимуса. В основной части коры дольки экспрессия PanCK была резко снижена, выявлялась эпизодически, фрагментарно или вообще отсутствовала (рис. 2).

Количество кластеров достоверно снижалось по отношению к группе со слабыми пороками, составило $22,00 \pm 2,25\%$ ($p = 0,001$). Кластеры были представлены из меньшего количества объектов – $195,81 \pm 18,35$ ($p = 0,005$), но доля одиночно расположенных эпителиальных клеток

была больше ($64,33 \pm 3,79\%$, $p = 0,02$), чем в группе со слабым развитием пороков. На полутонких срезах выявлялись выраженные признаки дистрофических изменений клеток стромы, что приводило к нарушениям их связи между собой и с лимфоцитами и гнездовому опустошению коркового вещества долек (рис. 3).

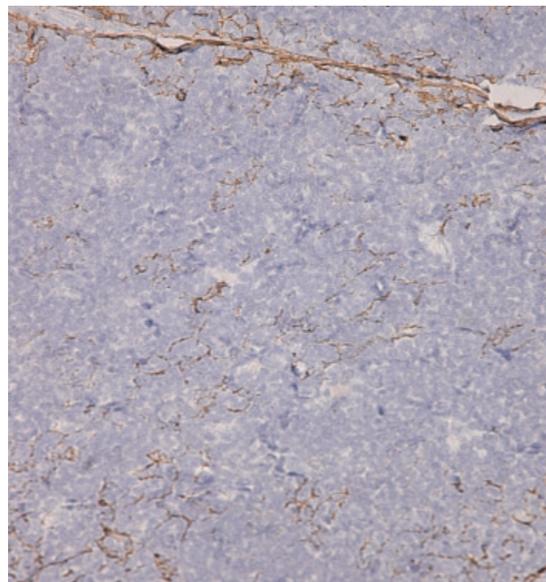


Рис. 2. Экспрессия PanCK в группе с сильными пороками. Ув. $\times 400$

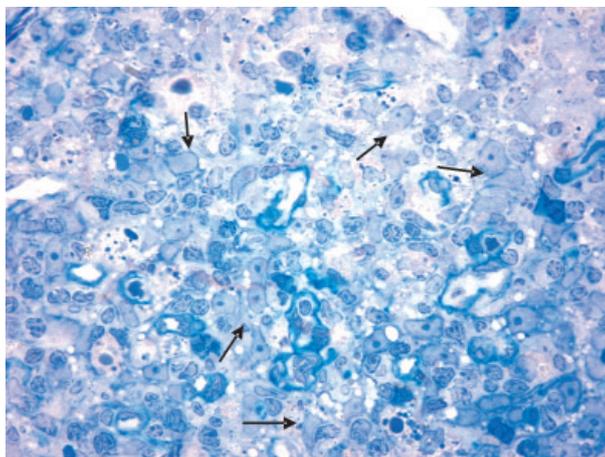


Рис. 3. Дистрофические изменения в ТЭК. Полутонкий срез. Окраска толудиновым синим. Ув. $\times 900$

В зависимости от локализации и выполняемой функции ТЭК отличаются по набору цитокератиновых полипептидов. Положительная экспрессия СК5⁺ и СК8⁺ в ТЭК позволила дифференцировать эпителиальные клетки стромы в пределах коры дольки. По иммуногистохимическим характеристикам СК5⁺ относят к нейтральным цитокератинам и выявляются

на уровне клеток базальных слоев многослойных эпителий. Функционально популяцию этих клеток относят к малодифференцированным, являющимся камбием. Клетки, позитивные к СК 5⁺, имеют невысокий уровень экспрессии МНС II, что указывает на слабое вовлечение данной субпопуляции в процессы презентации антигенов [8].

Независимо от сложности порока экспрессию СК 5⁺ наблюдали в клетках, прилежащих к базальной мембране, и клетках субкапсулярной зоны. Формирование кластеров из ТЭК происходило при легких сердечных пороках, при сложных экспрессиях СК 5⁺ в основном выявлялась в лежащих поодиночке клетках, в некоторых долях наблюдали только позитивно окрашенные фрагменты ТЭК. В целом интенсивность иммуногистохимического окрашивания ТЭК в базальной, субкапсулярной и кортико-медуллярной зонах зависела от сложности сердечного порока и определялась более интенсивно при слабых сердечных пороках.

СК 8⁺ относятся к кислым кератинам и выявляются преимущественно в плоских эпителиях. Клетки этой субпопуляции имеют высокий уровень экспрессии молекулы МНСII, что указывает на их активное участие в селекции лимфоцитов на этапе их становления через прямой межклеточный контакт [7, 8]. Позитивная реакция ТЭК на СК 8⁺ существенно отличалась между группами. В группе со слабыми пороками экспрессию СК 8⁺ наблюдали в пределах основной части коры в ТЭК лежащих поодиночке и формирующих кластеры. Часть клеток теряли связь между собой, сеть разрывалась, отростки клеток выпрямлялись. Интенсивность окрашивания эпителиальных клеток (СК 8⁺) увеличивалась от субкапсулярной к кортикомедуллярной зоне, что отражает зрелость кортикальных ТЭК. При сложных пороках интенсивность накопления СК 8⁺ была резко снижена. В пределах коры экспрессия СК 8⁺ выявлялась единично в виде фрагментов. В части долек эпителиальные клетки вообще не проявляли реакции на окрашивание. На полутонких срезах эпителиальные клетки коры имели особенности строения: округлая форма, короткие толстые отростки, крупное ядро занимает большой объем цитоплазмы. Клетки округлялись, втягивали отростки и группировались в кучки. В целом межклеточные связи и контакт с лимфоцитами были нарушены. Клетки на стадии гибели. Повсеместно выявлялись активные макрофаги (рис. 3). На наш взгляд, изменение формы ТЭК, нарушение межклеточных связей могло быть следствием отсутствия или нарушения в клетках сборки промежуточных филаментов, состоящих из цитокератинов.

У детей с нарушением развития сердца от рождения до 1 года была прослежена закономерность экспрессии цитокератинов. Независимо от сложности сердечного порока в течение года жизни (1, 5–6 и 9–10 мес.) наблюдали тенденцию к снижению экс-

прессии цитокератинов в ТЭК. При слабом сердечном пороке постепенно снижался процент кластеров. ТЭК лежали свободно или поодиночке. К 9–10 мес. в 30% долях одного органа формировались участки ТЭК, не экспрессирующих цитокератины. В этот возрастной период состояние тимуса соответствовало состоянию тимуса детей со сложными пороками одного месяца жизни. В дальнейшем, к 9–10 мес., у детей со сложными сердечными пороками экспрессия цитокератинов (PanCK, СК 5⁺) верифицировалась только на уровне базальной мембраны и единично, фрагментарно в субкапсулярной зоне коры. Экспрессия СК 8⁺ практически не проявлялась.

Таким образом, иммуногистохимические особенности состояния эпителиальных клеток тимуса коррелировали со степенью сложности врожденного порока сердца. На наш взгляд, наблюдаемая взаимосвязь явилась следствием эмбриональной особенности становления структур тимуса и сердца, в закладке которых участвуют клетки нервного гребня. Возможно, на этапе эмбрионального развития клетки нервного гребня не реализовали свой регуляторный потенциал, что привело к недоразвитию структур сердца и ТЭК. В тимусе при различных нарушениях развития сердца в течение первого года жизни ТЭК теряли контакты между собой, нарушая архитектуру эпителиальной сети, особенно при сложных сердечных пороках. На фоне этого в ТЭК наблюдали исчезновение цитокератина 8/18. Полученные иммуногистохимические и морфологические особенности состояния клеток стромы отражают начальные признаки эпителио-мезенхимальной трансформации, проявляющиеся репрессией молекул межклеточной адгезии и потерей эпителиальных маркеров (цитокератинов). В результате ТЭК при врожденных пороках сердца не является полноценной дифференцированной популяцией клеток. Учитывая то, что в патогенезе ВПС лежит механизм нарушения системной гемодинамики, ведущий к развитию тканевой гипоксии, при сложных эмбриональных нарушениях развития сердца этот факт приводил к более выраженным морфологическим нарушениям в состоянии тимусного эпителия. В силу своей несостоятельности ТЭК в течение 1 года жизни существенно изменяли свои морфологические свойства что, несомненно, приведет к нарушению их функции по обеспечению организма Т-клеточным ресурсом и становления адаптивного иммунитета у данной категории детей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 11-04-96023 р_урал_а).

Список литературы

1. Беловекин А.Г. Морфогенез эпителиальных клеток телец Гассалья тимуса человека // Медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 19–22.
2. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. – 2-е изд. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2008. – 512 с.
3. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И. и др. Гистологическая техника. – 3-е изд. доп. и перераб. – Омск: Омская медицинская академия, 2003. – 152 с.
4. Сосунов А.А. Нервный гребень и его нейральные производные // Соровский образовательный журнал. – 1999. – № 5. – С. 14–21.
5. Ярилин А.А. Иммунология. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010 – 752 с.
6. Erickson C.A. Neural Crest: Origin, Migration and Differentiation // Encyclopedia of life science. – London: nature publishing group, 2011. – P. 2084–100.
7. Eun N.L., Kyeong P.J., Lee J. Characterization of the expression of cytokeratins 5, 8 and 14 in mouse thymic epithelial cells during thymus regeneration following acute thymic involution // Anatomy and Cell Biology. – 2011. – Vol. 44(1). – P. 14–24.
8. Peana P., Zubkova I., Medvedovic M. Regeneration of the adult thymus is preceded by the expansion of K5+K8+ epithelial cell progenitors and by increased expression of Trp63, cMyc and Tcf3 transcription factors in the thymic stroma // International immunology. – 2008. – Vol. 19, Issue 11. – P. 1249–1260.
9. Kirby M.L., Waldo K.L. Role of neural crest in congenital heart disease. // Circulation. – 1990. – Vol. 82. – № 2. – P. 332–340
10. Moll R., Divo M., Langbein L. The human keratins: biology and pathology // Histochem. Cell Biol. – 2008. – № 129 (6). – С. 705–733.
11. Shezen E., Elimelech O. Cytokeratin expression in human thymus: immunohistochemical mapping // Cell Tissue Res. – 1995. – Vol. 279. – P. 221–231

References

1. Belovekshin A.G. Morfogenez jepitelial'nyh kletok telec Gassalja timusa cheloveka // Medicinskij zhurnal. 2012. no. 2. pp. 19–22.
2. Pal'cev M.A., Kvetnoj I.M. Rukovodstvo po nejroimmunojendokrinologii 2-e izd. // M.: ОАО «Izdatel'stvo «Medicina», 2008. 512 p.

3. Semchenko V.V., Barashkova S.A., Nozdrin V.I. i dr. // Gistologicheskaja tehnika. 3-e izd. dop. i pererab. Omsk: Omskaja medicinskaja akademija, 2003. 152 p.
4. Sosunov A.A. Nervnyj greben' i ego nejrал'nye proizvodnye // Sorovskij obrazovatel'nyj zhurnal. 1999. № 5. pp. 14–21.
5. Jarilin A.A. Immunologija // M.: GJeOTAR Media, 2010 752 p.
6. Erickson C.A. Neural Crest: Origin, Migration and Differentiation // Encyclopedia of life science, London: nature publishing group. 2011, 2084–100.
7. Eun N.L., Kyeong P.J., Lee J. Characterization of the expression of cytokeratins 5, 8 and 14 in mouse thymic epithelial cells during thymus regeneration following acute thymic involution // Anatomy and Cell Biology. 2011. Vol. 44(1). pp.14-24.
8. Peana P., Zubkova I., Medvedovic M. Regeneration of the adult thymus is preceded by the expansion of K5+K8+ epithelial cell progenitors and by increased expression of Trp63, cMyc and Tcf3 transcription factors in the thymic stroma // International immunology. 2008. Vol. 19. Issue 11 pp. 1249–1260.
9. Kirby M.L., Waldo K.L. Role of neural crest in congenital heart disease. //Circulation. 1990. Vol. 82. no. 2. pp. 332–340
10. Moll R., Divo M., Langbein L. The human keratins: biology and pathology //Histochem. Cell Biol. 2008. 129 (6). 705–733.
11. Shezen E., Elimelech O. Cytokeratin expression in human thymus: immunohistochemical mapping //Cell Tissue Res. 1995. Vol. 279. pp. 221–231.

Рецензенты:

Самоделкин Е.И., д.м.н., профессор, кафедра патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь;

Баландина И.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии, ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.71-089.85

ТОННЕЛЬНАЯ ОСТЕОТОМИЯ ПРИ КОРРЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РИНОСКОЛИОЗА

Медведев В.А.

ГБУ РО «Городская клиническая больница № 11», Рязань, e-mail: postmaster@hosp11.rzn.ru

Риносколиоз – одна из наиболее распространенных носовых деформаций, которая часто входит в состав комбинированных деформаций носа. Технология тоннельной остеотомии заключается в том, что все виды остеотомий производятся через четыре эндоназальных горизонтальных разреза по 6 мм на уровне между верхними и нижними латеральными хрящами. Изучены косметические результаты ринопластических операций, произведенных по поводу риносколиоза в трех группах пациентов, каждая из которых состояла из 46 больных. В первой группе у больных с риносколиозом без других деформаций носа парамедиальная, латеральная и поперечная остеотомии производились по традиционной методике через межхрящевые разрезы. Во второй группе с риносколиозом без других деформаций носа выполнена тоннельная остеотомия. В третьей группе пациентам с риносколиозом, комбинированным с ринолордозом, остеотомии произведены по тоннельной технологии. Процент осложнений при применении тоннельной технологии остеотомии оказался меньшим, чем при остеотомиях, выполненных через межхрящевые разрезы, несмотря на то, что в одной из исследуемых групп тоннельная остеотомия производилась у пациентов с более сложной деформацией носа в виде риносколиоза, комбинированного с ринолордозом. Тоннельная остеотомия целесообразна при риносколиозе и риносколиозе, комбинированном с лордозом.

Ключевые слова: риносколиоз, комбинированная деформация носа, тоннельная остеотомия

TUNNEL OSTEOTOMY WITH THE CORRECTION OF DIFFERENT TYPES OF RHINOSCOLIOSIS

Medvedev V.A.

City clinical hospital № 11, Ryazan, e-mail: postmaster@hosp11.rzn.ru

Rhinosciosis one of the most common nasal deformities, which often included in the combined deformations of the nose. Technology osteotomy of the tunnel is that all kinds of osteotomies is made via the four endonasal horizontal incision on 6 mm between the upper and lower lateral cartilage. Studied cosmetic results rhinoplasty operations produced about rhinoscoliosis in three groups of patients, each of which consisted of 46 patients. In first group of patients with rhinoscoliosis without other deformations of the nose paramedial, lateral and transverse osteotomy produced by the traditional method, through intercartilaginous cuts. In the second group with rhinoscoliosis without other deformations of the nose is made tunnel osteotomy. In the third group of patients with rhinoscoliosis, combined with rhinolordosis osteotomy produced by tunnel technology. The percentage of complications in the application of the tunnel technology osteotomy was smaller than osteotomy made through intercartilaginous cuts, despite the fact that in one of the study groups tunnel osteotomy was performed in patients with more complex deformation of the nose in the form of rhinoscoliosis, combined with rhinolordosis. Tunnel osteotomy is expedient in the rhinoscoliosis and rhinoscoliosis, combined with lordosis.

Keywords: rhinoscoliosis, combined deformation of the nose, tunnel osteotomy

Ринопластика – один из наиболее сложных разделов пластической хирургии [2]. Довольно часто причиной выполнения ринопластики является риносколиоз, который нередко входит в состав комбинированных деформаций носа.

Наиболее частыми комбинированными деформациями носа являются: риносколиоз с ринолордозом; риносколиоз с ринокифозом; ринолордоз с ринокифозом; ринолордоз с ринокифозом и риносколиозом [3].

Уже по видам возможных комбинированных деформаций носа понятно, что риносколиоз – одна из самых частых носовых деформаций.

Существует множество способов хирургического лечения риносколиоза. В течение нескольких десятилетий для достижения необходимой степени мобилизации искривленных костей носа используются боковая и срединная остеотомии в сочетании с поперечной остеотомией [7]. Многие хирурги

вместо срединной производят парамедиальную остеотомию [5].

В последние годы все большее распространение получают методы чрескожной остеотомии [8], при которой операция осуществляется с помощью микроosteотомов шириной 2–3 мм через разрезы кожи длиной 2–3 мм, произведенные на середине планируемых линий остеотомий.

Несмотря на множество методик, используемых для хирургической коррекции риносколиоза, косметические результаты данных операций нельзя признать приемлемыми. В литературе представлены данные, по которым из 86 больных, обратившихся после устранения искривления носа, рецидив искривления и затруднение носового дыхания диагностированы у 51 (59,3%) пациента [1].

В течение многих лет при ринопластике по поводу риносколиоза мы пользуемся тоннельной технологией остеотомий

вместо остеотомии, выполняемой через межхрящевые разрезы. Нами отмечено, что при изолированном риносколиозе число осложнений в виде неровностей скатов носа и ступенеобразной деформации носа уменьшилось.

Доступ через межхрящевые разрезы при риносколиозе с лордозом неудобны тем, что хрящевой имплантат, используемый для устранения седловидной деформации, необходимо фиксировать, т.к. он излишне подвижен и легко смещается. При изолированном риносколиозе преимуществами тоннельной технологии остеотомий являются меньшая травматичность вмешательства и сохранение связей кожи с костями носа, что позволяет уменьшить количество неровностей скатов носа и ступенеобразных деформаций.

Преимуществом метода по сравнению с чрескожной остеотомией [4] является то, при данной операции не повреждается кожа и впоследствии не остается рубцов, развитие которых неизбежно, особенно с учетом обязательного наложения лонгеты в конце вмешательства.

Большое число ринопластических вмешательств с использованием тоннельной технологии остеотомий, выполненных большим с риносколиозом и риносколиозом, комбинированным с лордозом, позволило нам обобщить и проанализировать полученный материал.

Цель исследования – изучение эффективности тоннельной остеотомии как метода ринопластики, производимой по поводу риносколиоза и риносколиоза, комбинированного с ринолордозом.

Материалы и методы исследования

За период с 1999 по 2001 гг. в ГБУ РО «Городская клиническая больница № 11» г. Рязани произведено 46 ринопластических операций по поводу риносколиоза, не сопровождавшегося другими деформациями носа. В данной (первой) группе парамедиальная, латеральная и поперечная остеотомии производились по традиционной методике через межхрящевые разрезы.

В период с 2002 по 2005 гг. произведено 46 тоннельных остеотомий по поводу риносколиоза, не комбинированного с другими деформациями носа. Данные пациенты составили вторую группу.

С 2007 по 2012 гг. в Городской клинической больнице № 11 г. Рязани произведено 46 операций по поводу риносколиоза, комбинированного с ринолордозом. В указанной (третьей) группе коррекция риносколиоза осуществлялась по тоннельной технологии.

Косметические результаты лечения больных трех групп оценивались путем сравнения формы носа по фотографиям, сделанным непосредственно перед операцией, а также через 10 дней, через 1 месяц и 6 месяцев после операции. Фотодокументация производилась с помощью цифровой фотокамеры фирмы «Sony» Cyber-shot DSC-W35 (effective 7,2

megapixels). До и после операции производилось по шесть фотографий в стандартных проекциях: анфас, 3/4 слева, профиль слева, 3/4 справа, профиль справа, вид спереди при запрокинутой голове – базальная проекция [6].

Сравнение косметических результатов хирургического лечения риносколиоза проводилось между тремя описанными группами.

Технология тоннельной остеотомии заключается в том, что выполняются по два эндоназальных горизонтальных разреза с каждой стороны по 6 мм на уровне, соответствующем межхрящевым разрезам (между верхними и нижними латеральными хрящами). С помощью двустороннего распатора и тонких ножиц формируются каналы, направленные вверх до переносья (лобно-носового шва), где все они соединяются между собой с помощью тонких нейрохирургических ножниц (рис. 1). Через данные тоннели при риносколиозе, комбинированном с лордозом, производятся промежуточные, латеральные и поперечные остеотомии. При риносколиозе без других деформаций носа выполняются парамедиальные, латеральные и поперечные остеотомии.

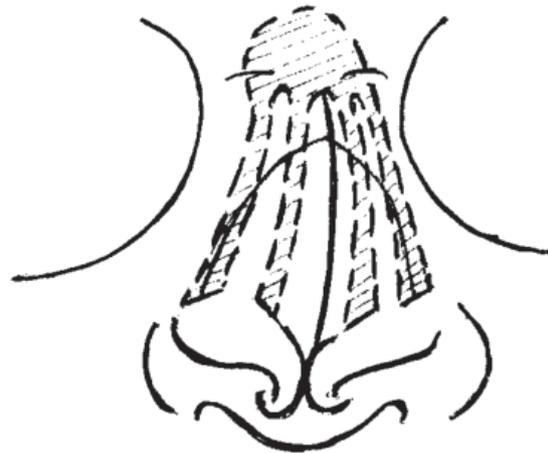


Рис. 1. Пунктиром обозначены границы тоннелей для остеотомий; зона отслойки кожи заштрихована

Результаты исследования и их обсуждение

В первой группе пациентов из 46 человек с риносколиозом без других деформаций носа, в которой применялись остеотомии через межхрящевые разрезы, отмечено 5 случаев остаточных деформаций носа в виде риносколиоза (2), неровностей скатов носа (2) и ступенеобразной деформации носа (1), что составило 10,9%.

В группе больных с риносколиозом без других деформаций носа (46 пациентов), в которой использовались тоннельные остеотомии, выявлен 1 случай повторной деформации носа в виде остаточного риносколиоза (2,2%).

В группе пациентов с риносколиозом, комбинированным с ринолордозом,

(46 пациентов), где для коррекции риносколиоза применялась тоннельная остеотомия, отмечено 2 случая незначительного остаточного риносколиоза, что составило 4,3%.

Таким образом, процент осложнений при применении тоннельной технологии остеотомии оказался меньшим, чем при остеотомиях, выполненных через межхрящевые разрезы, несмотря на то, что в одной из исследуемых групп тоннельная остеотомия производилась у пациентов с более сложной деформацией носа в виде риносколиоза, комбинированного с ринолордозом.

Приводим один случай из нашей практики в качестве примера.

Пациент Л., 25 лет (медицинская карта № 12052011), поступил в Городскую клиническую больницу № 11 г. Рязани 30.05.2012 г. с диагнозом: Комбинированная посттравматическая деформация носа (ринолордоз, риносколиоз, деформация концевого отдела носа). Искривление носовой перегородки.

При поступлении жаловался на деформацию носа (вдавление и искривление носа), затрудненное носовое дыхание. В анамнезе многократные травмы носа, в том числе переломы костей носа. Объективно: выраженная деформация наружного

носа в виде западения спинки, девиации носа влево, асимметрии колумеллы. Носовое дыхание затруднено и асимметрично. Перегородка носа искривлена.

31.05.2012 г. под эндотрахеальным наркозом больному произведена риносептопластика. Ринопластика выполнялась по одной из разработанных нами технологий (osteotомии через четыре тоннеля, имплантация аутохряща через пятый тоннель). Послеоперационное течение без осложнений.

09.06.2012 г. пациент выписан в удовлетворительном состоянии. При выписке и последующих осмотрах через 2 месяца и 6 месяцев жалоб нет; форма наружного носа правильная (западения спинки носа нет, спинка и кончик носа по средней линии, форма колумеллы правильная); носовое дыхание свободное.

На рис. 2 и 3 представлены косметические результаты хирургического лечения больного, описанного в настоящей статье, которому произведена одномоментная риносептопластика по вышеуказанной методике. На рис. 2, а, 3, а – внешний вид больного до операции (2, а – анфас, 3, а – профиль справа); на рис. 2, б, 3, б – после операции (2, б – анфас, 3, б – профиль справа).



а



б

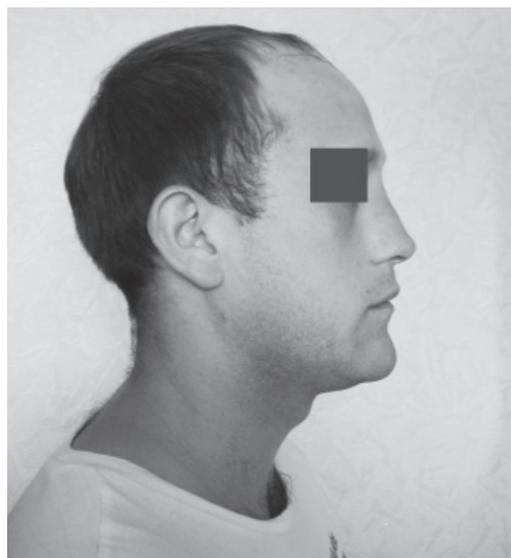
Рис. 2

Причиной уменьшения числа послеоперационных деформаций носа у больных, которым производились тоннельные остеотомии, мы считаем то, что при тоннельной

технологии остеотомии сохраняются связи между надкостницей костей носа и кожей, что не позволяет фрагментам костей носа чрезмерно смещаться относительно друг друга.



а



б

Рис. 3

Выводы

Тоннельная остеотомия является эффективным методом хирургического лечения риносколиоза, который не уступает по результатам традиционному способу выполнения остеотомий с доступом через межхрящевые разрезы и позволяет снизить число повторных деформаций носа. Данная операция показана при риносколиозе и риносколиозе, комбинированном с лордозом.

Список литературы

1. Алексанян Т.А. Хирургическая коррекция деформаций наружного носа – анализ ошибок и неблагоприятных исходов // Вестник оториноларингологии. – 2011. – № 2. – С. 49–51.
2. Белоусов А.Е. Функциональная ринопластика. Очерки пластической хирургии. Т. 2. –Спб: Изд-во Политехнического университета. – 2010. – 18 с.
3. Гюсан А.О. Восстановительная риносептопластика – СПб.: Диалог, 2000. – 191 с.
4. Медведев В.А. Особенности риносептопластики при сочетании риносколиоза с ринолордозом и искривлением перегородки носа // Российская ринология. – 2006. – № 3. – С. 16–19.
5. Пискунов Г.З., Пискунов С.З. Клиническая ринология. – М.: Миклош, 2002. –С. 359–368.
6. Щербаков К.Г., Павлюченко Л.Л., Василенко И.П. О методике фотографирования при эстетической ринопластике // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2004. – № 2. – С. 70–74.
7. Seltzer A.P. Plastic surgery of the nose – Philadelphia, 1949.

8. Nolst Trenite G.J. Trauma reduction in rhinoplastic surgery // Rhinology. – 1991. – Vol. 29. Suppl. 11. – P. 111–116.

References

1. Aleksanjan T.A. Hirurgicheskaja korrekcija deformacij naruzhnogo nosa – analiz oshibok i neblagoprijatnyh ishodov // Vestnik otorinolaringologii. 2011. no. 2. pp. 49–51.
2. Belousov A.E. Funkcional'naja rinoplastika. Ocherki plasticheskoy hirurgii. Tom 2. Spb: Izd-vo Politehnicheskogo universiteta. 2010. 18 p.
3. Gusan A.O. Vosstanovitel'naja rinoseptoplastika – SPb.: Dialog, 2000. 191 p.
4. Medvedev V.A. Osobennosti rinoseptoplastiki pri sochetanii rinoskolioza s rinolordozom i iskrivleniem peregorodki nosa // Rossijskaja rinologija. 2006. no. 3. pp. 16–19.
5. Piskunov G.Z., Piskunov S.Z. Klinicheskaja rinologija M.: Miklosh, 2002. pp. 359–368.
6. Shherbakov K.G., Pavljuchenko L.L., Vasilenko I.P. O metodike fotografirovaniya pri jesteticheskoy rinoplastike // Annaly plasticheskoy, rekonstruktivnoj i jesteticheskoy hirurgii. 2004. no. 2. pp. 70–74.
7. Seltzer A.P. Plastic surgery of the nose – Philadelphia, 1949.
8. Nolst Trenite G.J. Trauma reduction in rhinoplastic surgery // Rhinology. 1991. Vol. 29. Suppl. 11. pp. 111–116.

Рецензенты:

Федосеев А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей хирургии, РязГМУ им. академика И.П. Павлова, г. Рязань;
Тарасенко С.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии, РязГМУ им. академика И.П. Павлова, г. Рязань.
Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 519.6

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРИОЗНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАННЕЙ СТАДИИ КАРИЕСА И ПРОЦЕССА ЕГО НЕИНВАЗИВНОГО СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ

¹Русаков С.В., ¹Беляев А.Ю., ³Гилева О.С., ²Изыумов Р.И.,
³Муравьева М.А., ¹Терпугов В.Н.

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет,
Пермь, e-mail: rusakov@psu.ru;

²ФГБУН «Институт механики сплошных сред Уральского отделения
Российской академии наук», Пермь, e-mail: izumov@icmm.ru;

³Пермская государственная медицинская академия
им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, e-mail: rav.m@mail.ru

Работа посвящена исследованию современного метода лечения кариеса зубов ICON (Infiltration Concept), особенностью которого является отсутствие травмирующих операций, а препятствие разрушению тканей зуба осуществляется нанесением специального состава на поврежденную поверхность зуба, способного диффундировать внутрь эмали и отвердевать под действием света. Актуальность изучения и развития неинвазивных методов лечения кариеса на ранних стадиях заболевания связана с неэффективностью существующих распространенных способов лечения, что подтверждается статистическими данными об огромной распространенности этого заболевания по всему миру. Было проведено исследование процессов, происходящих в микроканалах зубной эмали, на базе полученной математической модели диффузии химически реагирующей смеси в квазистационарном приближении. Выполнены численные эксперименты, результаты которых были применены для дальнейшего исследования процесса проникновения в эмаль композита, применяемого в технологии лечения кариеса, основным механизмом которого являются капиллярные силы. Анализ результатов показал, что созданные модели правдоподобно отображают особенности исследуемых явлений. Рассмотрена оценка макрожесткости зубной эмали, частично поврежденной кариесом, до и после применения фотополимера. Эмаль рассматривалась как композитный материал с периодической структурой. Исследование проведено на ячейке периодичности материала с помощью метода конечных элементов. При этом получено, что заполнение пор фотополимерным материалом приводит к частичному восстановлению жесткостных свойств эмали.

Ключевые слова: кариес зубов, эмаль, де- и реминерализация эмали, диффузия, массообменные процессы, теория взаимодействующих континуумов, капиллярные силы, упругие свойства, метод конечных элементов

MATHEMATICAL MODELING OF PROCESSES IN THE EARLY CARIOUS STAGES OF DENTAL CARIES AND PROCESS OF NON-INVASIVE WAY TREATMENT

¹Rusakov S.V., ¹Belyaev A.Y., ³Gileva O.S., ²Izyumov R.I., ³Muraveva M.A., ¹Terpugov V.N.

¹Perm State National Research University, Perm, e-mail: rusakov@psu.ru;

²Institute of Continuous Media Mechanics UB RAS, Perm, e-mail: izumov@icmm.ru;

³Perm State Medical Academy, Perm, e-mail: rav.m@mail.ru

This work is devoted to the investigation of dental caries treatment by the modern noninvasive Icon (Infiltration Concept) technology. The Icon method based on the application of special composite material that can diffuse into the damaged zone, harden when exposed to light and prevent tooth decay. The significance of the study and development of noninvasive methods is related to the inefficiency of standard treatment, as evidenced by the statistical data on the high prevalence of this disease. In the literature there have a lot of papers dealing with caries treatment by the technique of infiltration of enamel lesions with a composite material. However, because of obvious difficulties most of these studies have been carried out in vitro. In studying this problem it is necessary to realize that the structure of the tooth is very complex and cannot be studied separately. Hence, to explore caries initiation and progression, one needs to have a mathematical model capable of describing the state of enamel as an integral part of the system «oral cavity-tooth-organism». The aim of the present work was the study of processes occurring in enamel micro-channels on the basis of the mathematical model of chemically reactive mixture diffusion in quasi-stationary approximation. We have carried out the numerical experiments which results have been used in further study of the process of composite material penetration into the enamel, assuming that such penetration is made possible by capillary forces. It is shown that the proposed model adequately describes the properties of the examined dental system. The method of filling decayed tissue areas with composite material allows encapsulating the damaged tooth enamel and stopping caries process. Decayed tooth under fatigue and cyclic loadings is subject to degradation, even after stopping the further development of caries. Assessment of macro hardness of enamel partially affected by caries before and after using the ICON is investigated in this research.

Keywords: dental caries, enamel structure, de- and remineralization of enamel, diffusion, mass transfer processes, theory of interacting continua, capillary forces, elastic properties, finite element method

Известно, что в настоящее время ка- части населения РФ: почти 90% оказа-
риозные поражения зубов представляют лись подвержены данному заболеванию
серьезную проблему для трудоспособной (см. например [2]). Кариозное поражение

зубной эмали проявляется в прогрессирующей деминерализации кристаллов эмали под действием кислот, выделяемых в процессе жизнедеятельности кариесогенных бактерий зубного налета и сопровождается образованием микропор эмали с последующим её разрушением. В результате последовательно развиваются две стадии кариеса: ранняя – стадия кариозного «белого» пятна, и поздняя – стадия образования дефекта (полости) твердых тканей зуба (поверхностный, средний и глубокий кариес). С 2009 года для лечения раннего кариеса все активнее применяется технология Icon (Infiltration CON sept). Суть этой лечебной методики заключается в том, что деминерализованные ткани зуба пропитываются особым светоотверждаемым полимером (фотополимером). До этого поверхность зубов предварительно подвергается специальной обработке кислотой, призванной убрать верхний, наиболее твердый интактный слой эмали и максимально раскрыть ее порозную структуру. Легко-текучий фотополимер, проникая в межкристаллические поры эмали в области кариозного поражения, призван укрепить деминерализованный каркас эмали и усилить прочностные характеристики зуба. Данная методика является неинвазивной, простой в использовании и действительно позволяет эффективно и безболезненно для пациента остановить дальнейшее развитие кариозных процессов. Однако механические прочностные и упругие характеристики такой инфильтрованной порозной эмали к настоящему времени еще недостаточно изучены. В результате до сих пор остается открытым вопрос о том, в какой степени образовавшаяся композитная структура способна заменить прежний интактный слой по прочности, твердости, устойчивости к воздействию агрессивной среды. Проблема осложняется тем, что способы надежного контроля глубины проникновения инфильтранта в межкристаллические поры в клинической практике отсутствуют. У стоматологов еще пока нет и отдаленных (в течение нескольких лет) результатов лечения кариеса данным методом.

В настоящей работе проведено исследование с помощью математического моделирования биохимического процесса развития ранней стадии кариеса, заполнения межкристаллических пор эмали фотополимером, изменения механических свойств зуба после применения технологии ICON. Кроме того, с помощью вычислительного эксперимента изучены изменения упругих свойств зубной эмали, подвергнутой контролируемому разрушающему воздействию (травлению кислотой), вызывающему ее де-

минерализацию и увеличение пористости, и, напротив, упрочняющему воздействию, происходящему при инфильтрации пор фотополимером ICON.

Моделирование процесса деминерализации эмали зубов

Коронка зуба состоит из 3 частей: внутренней – пульпа, средняя – дентин и наружная твердая оболочка – эмаль. Её толщина – от 0,1 мм у основания коронки до 2 мм в области жевательной зоны.

Эмаль образована эмалевыми призмами (рис. 1, а), которые радиально поднимаются от более глубокого слоя – дентина. Благодаря своей структуре, эмаль зуба функционирует как «молекулярное сито», а эмалевая жидкость служит переносчиком молекул и ионов. Кислоты, появляющиеся во рту во время приема пищи, проникают в каналы между призмами, вызывают деминерализацию и в конечном итоге могут привести к разрушению зубной ткани (рис. 1, б). В качестве ответной реакции организма активизируется защитная система реминерализации (ЗСР) пульпы, которая снижает кислотность жидкости, находящейся в эмали и, таким образом, уменьшает вредное воздействие кислот, идущих с поверхности зуба вовнутрь [5].

Будем представлять эмаль зуба в виде сплошной пластины толщиной L , имеющей двухслойную структуру, которая равномерно по площади пронизана каналами. С одной стороны, эмаль взаимодействует с внешней средой полости рта, а внутренняя часть зуба (дентин и пульпа) представлена абстрактной областью, в которой может активизироваться ЗСР. Каналам заданы среднестатистические размеры [5] и перпендикулярное к поверхности эмали направление. Принимается допущение об отсутствии сообщения каналов друг с другом, что позволяет нам рассматривать процессы в одном обособленном от остальных канале.

Модель состоит из трёх компонент: канал, заполненный нейтральной жидкостью, и диффундирующие внутрь него кислота и жидкость ЗСР. Канал является осесимметричным и описывается своим радиусом в каждой точке x по всей своей длине $[0; L]$ для любого момента времени $t \geq 0$ функцией $R = R(t, x)$. Наличие проникших в канал жидкостей определяется значением функции их объёмных долей $\varphi = \varphi(t, x)$ также в каждой точке канала x и в любой момент времени t . Функция объёмной доли кислоты обозначена как φ_1 , а объёмной доли жидкости ЗСР – как φ_2 . Взаимодействие компонентов модели происходит без производства продуктов взаимодействия.

Кислота и жидкость ЗСР вступают в реакцию, понижая значение своих объёмных долей. Стенки канала (только его боковая поверхность) растворяются под действием кислоты, увеличивая его радиус и, опять же, понижая значение объёмной доли кислоты. Изначально канал имеет форму цилиндра.

Проникновение жидкостей в канал происходит с его открытых торцов и описывается граничными условиями. Подробное описание и обоснование математической модели в виде краевой задачи для нестационарных уравнений в частных производных дано в работе [3].

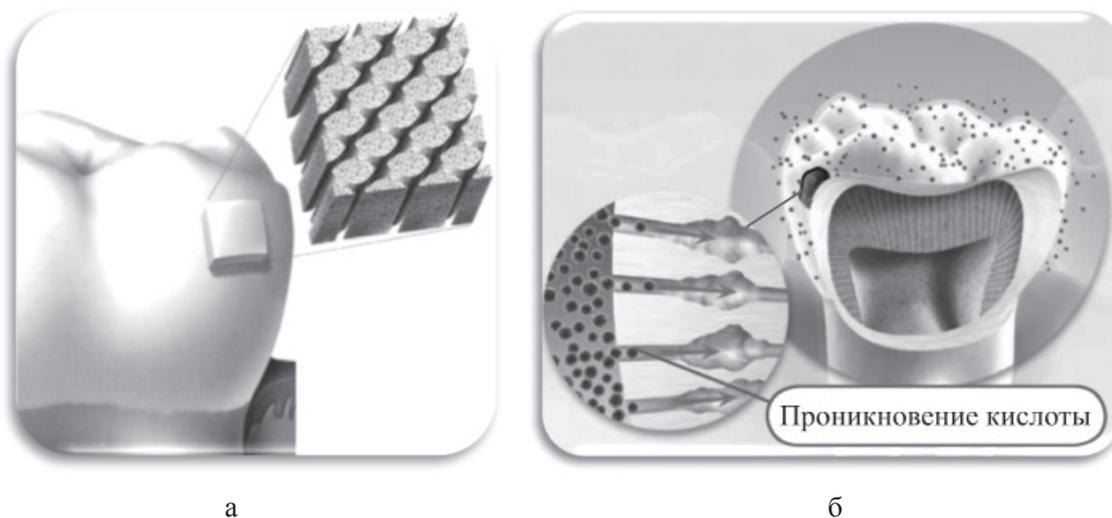


Рис. 1. а – схематичное изображение выхода эмалевых призм на поверхность зуба; б – кислота зубной бляшки проникает по каналам в эмаль и разрушает её

Выполним обезразмеривание, где в качестве характерных величин берутся: радиуса – начальный радиус поры; для переменной x – длина поры L ; времени – характерное время деминерализации. Сделав естественное предположение, что характер-

ное время диффузии и установления химического равновесия системы кислота-жидкость ЗСР на несколько порядков меньше характерного времени деминерализации, можно получить упрощенную квазистационарную краевую задачу [6]:

$$\frac{d}{dx} \left(R^2(t, x) F(\varphi_1) \frac{d\varphi_1(x)}{dx} \right) - \gamma R(t, x) \varphi_1(x) - \alpha_{12} R^2(t, x) \varphi_1(x) \varphi_2(x) = 0; \quad (1)$$

$$\frac{d}{dx} \left(R^2(t, x) F(\varphi_2) \frac{d\varphi_2(x)}{dx} \right) - \alpha_{21} R^2(t, x) \varphi_1(x) \varphi_2(x); \quad (2)$$

$$R(t, x) = \exp(f(x)\varphi_1(x)t); \quad (3)$$

$$F(\varphi) = \frac{(1-\varphi)(1-2\chi\varphi)}{\varphi}; \quad (4)$$

$$f(x) = \begin{cases} \delta, & x \in [0, x_0]; \\ 1, & x \in (x_0, 1]; \end{cases} \quad (4)$$

$$\begin{aligned} \varphi_1(0) &= \varphi_1^*; \quad \varphi_2'(0) = 0; \\ \varphi_1'(1) &= 0; \quad \varphi_2(1) = \varphi_2^*. \end{aligned} \quad (5)$$

Краевая задача (1)–(5) решалась численно методом установления с помощью консервативной неявной разностной схемы [7].

Поскольку реальные значения констант-параметров, входящих в построенную модель неизвестны, обсуждаемые

ниже результаты расчётов носят скорее качественный характер и выявляют особенности моделируемого процесса. На рис. 2 представлено распределение радиуса канала в моменты безразмерного времени $t = 1, 2, 3$, для следующего набора параметров:

$$\begin{aligned} \alpha_{12} &= \alpha_{21} = 1000; \quad \gamma = 1; \\ \chi &= 0,3; \quad x_0 = 0,1; \end{aligned} \quad (6)$$

$$\delta = 0,2; \quad \varphi_1^* = \varphi_2^* = 0,25.$$

В этом случае поверхностный слой в 5 раз более устойчив к воздействию кислоты, чем остальная часть эмали. Из рис. 2 видно, как канал приобретает бутылкообразную форму, и возникает возможность появления крупных пор за счет слияния каналов в самых широких местах. Причем,

если считать начальную просветную площадь пористой эмали за 25%, то при $t = 1, 2, 3$ её максимум в точке $x = 0,1$ увеличивается до 34, 45 и 59% соответственно. Таким

образом, деминерализация зуба происходит неравномерно вдоль канала эмали, что связано с неравномерностью концентрации кислоты и свойств зубной ткани.

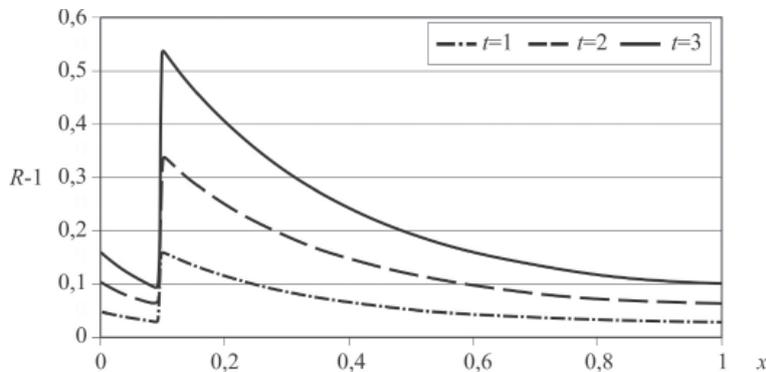


Рис. 2. Распределение радиуса канала вдоль его длины в моменты времени $t = 1, 2, 3$

Полученные результаты хорошо согласуются с клинической картиной кариеса, когда подповерхностный, менее резистентный к кислоте слой эмали, разрушается быстрее поверхностного слоя с образованием малозаметного белого пятна.

Для выяснения влияния интенсивности реакции нейтрализации на формирование канала были просчитаны три варианта, в которых использовались параметры (6) за исключением значений α_{12} и α_{21} :

- 1) $\alpha_{12} = \alpha_{21} = 1000$;
- 2) $\alpha_{12} = \alpha_{21} = 100$;
- 3) $\alpha_{12} = \alpha_{21} = 10$.

Во всех трех случаях решение имело вид, аналогичный рис. 2, менялось только значение радиуса в точке $x = x_0 = 0,1$ (максимум) и $x = 1$ (минимум). В табл. 1 приводятся значения просветной площади (в процентах) при $x = x_0 = 0,1$ для анализируемых вариантов параметров в три момента времени.

Таблица 1
Значение просветной площади (%)

Вариант	$t = 0$	$t = 1$	$t = 2$	$t = 3$
1	25,0	33,8	45,2	59,3
2	25,0	36,6	52,3	72,3
3	25,0	38,9	59,3	90,3

Откуда видно, что при $t = 1$ различие результатов для разных вариантов относительно невелико и их можно относить к ранней стадии кариеса. С увеличением времени это различие становится все более существенным и кариес переходит в более развитые стадии.

Моделирование технологии ICON

Технологию ICON можно условно разделить на четыре этапа:

- 1) удаление поверхностного слоя с помощью химического воздействия;
- 2) нанесение на поверхность эмали композитного материала;
- 3) проникновение композитного материала в каналы эмали;
- 4) затвердевание композитного материала под воздействием света.

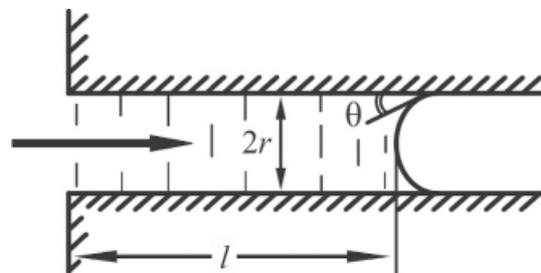


Рис. 3. Перемещение жидкости на длину l в капилляре радиуса r ; θ – краевой угол

Рассмотрим модель процесса проникновения композитного материала в каналы эмали. Поскольку размеры каналов от 2 до 5 мкм, основным механизмом такого проникновения являются капиллярные силы. Схематично этот процесс представлен на рис. 3. Скорость v перемещения мениска в тонком вертикальном капилляре, когда влияние силы тяжести мало, определяется уравнением Пуазёйля:

$$\frac{dl(t)}{dt} = v(t, l) = \beta \frac{r(l)}{l}; \quad (7)$$

где $\beta = \frac{\sigma_{12} \cos \theta}{4\eta}$.

Пусть необходимо заполнить канал длиной $L = l(T)$, тогда из уравнения (7) в простейшем случае $R(l) \equiv 1$ получаем $T_0 = L^2 / (2\beta r_0)$. С учетом криволинейности стенок капилляра (см. рис. 2), переходя в декартову систему координат, окончательно получаем:

$$\frac{T}{T_0} = 2 \int_0^l \frac{x \sqrt{1 + (R'(x))^2}}{R(x)} dx. \quad (8)$$

В табл. 2 представлены результаты расчетов, полученные для трех вариантов формы канала, (в зависимости от параметров α_{12} и α_{21}), где t – время окончания кариозного процесса. С учетом того, что начальный радиус каналов $r_0 = 3,5 \pm 1,5$ мкм, положив в формуле (8) его среднее значение, получим $T_0 = T_{0cp} (1 \pm 0,43)$. Тогда с помощью данных табл. 2 можно рассчитать минимальное и максимальное время процесса заполнения канала для разных вариантов исходных параметров и разного времени t .

Таблица 2
Значение T/T_0 для разных вариантов

Вариант	$t = 1$	$t = 2$	$t = 3$
1	0,952	0,926	0,910
2	0,899	0,827	0,771
3	0,839	0,716	0,617

Моделирование упругих свойств зубной эмали

Основываясь на сведениях о зубной эмали, логичнее всего рассматривать её как композитный материал. Тогда призмы будут представлять собой волокно, а межпризменное вещество – матрицу. Призмы и межпризменное вещество имеют свои свойства и геометрию, изменение которых (в процессе кариозного разрушения) влечет за собой изменение жесткости зубной эмали на макроуровне. Говоря языком механики композитных материалов, необходимо определить эффективный модуль композитного материала, зная свойства и геометрию его компонентов. Цель заключается в определении модуля упругости при одноосном растяжении (модуля Юнга). Удобнее всего определить интересующие нас свойства на ячейке периодичности композитного материала [1]. Представим эмаль в виде композитного материала с гексагональной упаковкой волокон в матрице и выделим ячейку периодичности материала (рис. 4).

Для определения эффективных свойств материала (модулей Юнга в 3 направлениях) необходимо знать макронапряжения на соответствующих площадках ячейки перио-

дичности и соответствующие деформации. Зная эти величины, можно вычислить эффективный модуль материала в конкретном направлении. Таким образом, для нахождения трех модулей Юнга нам потребуется провести 3 компьютерных эксперимента.

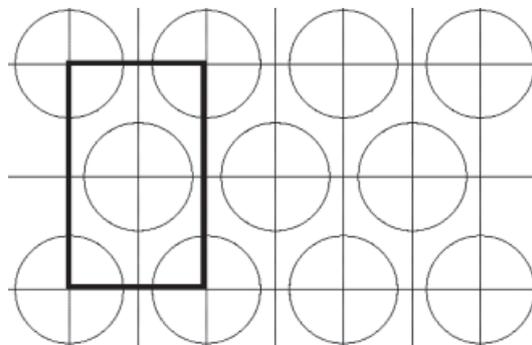


Рис. 4. Структура зубной эмали. Волокно (эмалевые призмы), упакованное в матрицу (межпризменное вещество)

Для проведения численного эксперимента воспользуемся методом конечных элементов. В качестве элемента был выбран 8-узловой гексагон. Зубная эмаль – хрупкий материал, поэтому при его описании ограничивались только упругостью. Кроме того, деформации в рассмотренных задачах не превышают 10%, что дает возможность использовать линейный закон Гука. Для того чтобы свести к минимуму погрешность, возникающую при изменении объема, необходимо при деформации в одном направлении задать в другом направлении такую же деформацию с противоположным знаком.

В каждом случае мы получаем 3 решения для ячейки периодичности с необходимыми граничными условиями. Однако данные решения не позволяют вычислить эффективный модуль материала. Модуль Юнга находится из эксперимента на одноосное растяжение (сжатие). Вид нагружения в решенных задачах не является одноосным растяжением (сжатием), соответственно он не позволяет найти модуль Юнга.

Для нахождения эффективных модулей пользовались следующим приемом: имея 3 решения линейной задачи, найдем 4-е решение задачи как линейную комбинацию трех других. Далее введем в модель геометрию и свойства кариозного разрушения. Диаметр призмы равен приблизительно 5–8 мкм. В рассматриваемой модели радиус призмы принят равным 4 мкм. Расстояние между призмами 10 мкм. Кариозное разрушение начинается с межпризменного вещества. В рассматриваемой модели оно представляет собой цилиндрические включения радиусом 0,5; 1; 1,5 мкм для каждого из трех случаев.

Воспользуемся описанной выше методикой и найдем значения эффективных модулей для эмали, подвергнувшейся кариозному разрушению. ICON применяется только на ранних стадиях кариозного разрушения, поэтому не будем рассматривать дальнейшее увеличение области. К тому же, как показывают исследования, сначала полностью разрушается межпризменное вещество, причем призмы остаются практически не тронутыми.

Следующий этап – оценить влияние ICON на механические свойства зубной эмали. ICON – фотополимер. Будем рассматривать его как изотропный, линейно-упругий материал. Модуль Юнга примем равным меньшему модулю материала призмы и межпризменного вещества, а коэффициент Пуассона – 0,49. Введем ICON в места кариозного разрушения и найдем эффек-

тивные модули материала, воспользовавшись описанной выше методикой.

Значения эффективных модулей в направлении X и Y совпадают с точностью до 8%. Кроме того, значения эффективных модулей находятся между значениями модулей призмы и межпризменного вещества, что согласуется с теорией композитных материалов.

На рис. 5 представлены результаты моделирования, откуда видно, что жесткость эмали ухудшается с увеличением области поражения, что ожидаемо. Применение ICON не только останавливает кариозный процесс с точки зрения диффузии кислоты в зубную эмаль, но и частично восстанавливает жесткостные свойства эмали. Однако, как сказано выше, данные выводы сделаны на основании свойств материала, которые подобраны исходя из соображений здравого смысла.

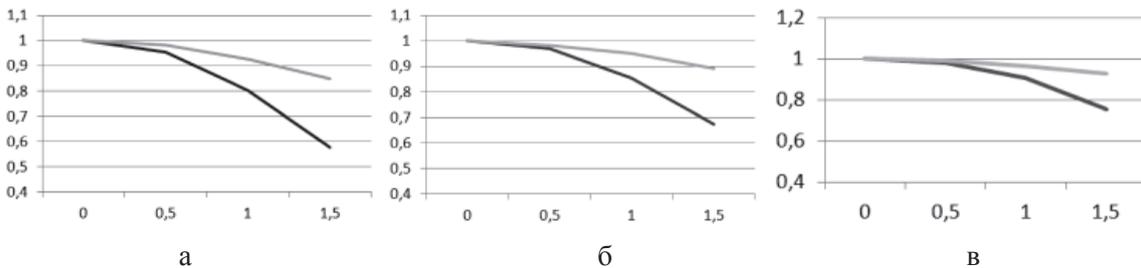


Рис. 5. Безразмерная зависимость эффективного модуля в направлении $X(a)$, $Y(b)$, $Z(v)$ от радиуса области кариозного повреждения (темно-серый – кариозное повреждение, светло-серый – область заполнена ICON)

Чтобы сделать окончательные выводы по этому вопросу, необходимо привлечение данных эксперимента. Учитывая малые размеры объекта исследования, постановка такого эксперимента представляет непростую самостоятельную задачу.

Выводы

На основе имеющихся в настоящее время данных о физиологии человеческих зубов была разработана математическая модель, описывающая эмаль как сплошную двуслойную среду, пронизанную каналами, и основные протекающие в ней процессы (диффузия жидкостей из внешней среды и внутренних слоев зуба; химическое взаимодействие жидкостей и их влияние на эмаль), которая стала основой для математического описания кариозного заболевания. В результате исследования получена информация об эволюции формы каналов эмали в течение развития кариозного повреждения, что позволяет судить об изменении пористости эмали по глубине для любого конкретного момента времени. Анализ результатов показал, что созданные модели правдоподобно отображают особенность

исследуемого явления, которая заключается в неравномерности деминерализации эмали. Изменение структуры эмали на микроуровне заключается в том, что её микроканалы, будучи изначально цилиндрическими, приобретают бутылкообразную форму, что сказывается на значении капиллярных сил, а, следовательно, на эффективности инфльтрации композита и лечения в целом. Была получена формула, позволяющая рассчитать минимальное и максимальное время процесса заполнения пор эмали в зависимости от степени поражения эмали кариесом и для различных вариантов исходных параметров.

Разработана методика, позволяющая рассчитывать эффективные жесткостные свойства зубной эмали на ячейке периодичности материала для различной геометрии ячейки периодичности, а также с учетом различных факторов, таких как кариозное повреждение, использование технологии ICON и др. Показано, что технология ICON оказывает положительное влияние не только на сопротивляемость дальнейшему распространению кариозного повреждения, но и на жесткость эмали зуба.

Работа выполнена при поддержке Министерства промышленности, инноваций и науки Пермского края и РФФИ, грант 11-01-96028-р_урал_а, 11-08-96018-р_урал_а.

Список литературы

1. Беляев А.Ю., Гилева О.С., Ерофеева Е.С., М. А. Муравьева М.А., Свистков А. Л. Модель изменения упругих свойств зубной эмали под действием различных факторов // Вестник Пермского университета, Серия Математика, механика, информатика. – 2011. – Вып. 5 (9). – С. 25–28.
2. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. – М.: Медицина, 1991. – 304 с.
3. Гилева О.С., Ерофеева Е.С., Изюмов Р.И., Муравьева М.А., Свистков А.Л. Исследование и моделирование процесса возникновения и развития кариеса // Вестник Пермского университета, Серия Математика, механика, информатика. – 2011. – Вып. 5 (9). – С. 51–54.
4. Морозов И.А., Беляев А.Ю., Изюмов Р.И., Ерофеева Е.С., Гилева О.С. Экспериментальное исследование микроструктуры поверхности эмали человеческих зубов // Материаловедение. – 2012. – Вып. 184, № 7. – С. 50–55.
5. Окушко В.Р. Основы физиологии зуба. – М.: Newdent, 2008. – 344 с.
6. Русаков С.В., Свистков А.Л., Изюмов Р.И. Моделирование нелинейной диффузии реагирующей смеси в порах ткани зуба // Неравновесные процессы в соплах и струях (NPNJ'2012): материалы IX Международной конф. (Алушта, 23-31 мая 2012 г.) – М., 2012. – С. 571–572.
7. Самарский А.А. Теория разностных схем. – М.: Наука, 1977. – 656 с.
8. Guidoni G.M., Swain M.V., Jäger I. Wear behavior of dental enamel at the nanoscale with a sharp and blunt indenter tip // Wear. – 2009. – Vol. 266, № 1–2. – P. 60–68.
9. Lawn B.R., Lee J.J.-W., Chai H. Teeth: among nature's most durable biocomposites // Ann. Rev. Mater. Res. – 2010. – Vol. 40. – P. 55–75.
10. Morozov I.A., Svistkov A.L., Gileva O.S., Erofeeva E.S. Experimental investigation of the influence of bleaching on enamel surface microstructure // Russian Journal of Biomechanics. – 2010. – Vol. 14, № 1 (47). – P. 55–63.

References

1. Belyayev A.YU., Gileva O.S., Yerofeeva Ye.S., Muravyeva M.A., Svistkov A.L. Issledovaniye i modelirovaniye protsessa vozniknoveniya i razvitiya kariyesa [Research and modeling of the initiation and development of dental caries]. *Vestnik Permskogo universiteta, Seriya Matematika, mekhanika, informatika*, 2011, Vol. 5 (9), pp. 25–28.

2. Borovskiy Ye.V., Leontyev V.K. *Biologiya polosti рта* [Biology of the mouth]. Moscow: Meditsina, 1991, 304 p.

3. Gileva O.S., Yerofeeva Ye.S., Izyumov R.I., Muravyeva M.A., Svistkov A.L. Issledovaniye i modelirovaniye protsessa vozniknoveniya i razvitiya kariyesa [Research and modeling of the initiation and development of dental caries]. *Vestnik Permskogo universiteta, Seriya Matematika, mekhanika, informatika*, 2011, Vol. 5 (9), pp. 51–54.

4. Morozov I.A., Belyayev A.YU., Izyumov R.I., Yerofeeva Ye.S., Gileva O.S. Eksperimentalnoye issledovaniye mikrostruktury poverkhnosti emali chelovecheskikh zubov [Experimental investigation of the enamel surface microstructure of human teeth]. *Materialovedeniye*, 2012, vol. 184, no. 7, pp. 50–55.

5. Okushko V.R. *Osnovy fiziologii zuba* [Tooth physiology fundamentals]. Moscow: Newdent, 2008, 344 p.

6. Rusakov S.V., Svistkov A.L., Izyumov R.I. Modelirovaniye nelineynoy diffuzii reagirushey smesi v porakh tkani zuba [Modeling of nonlinear diffusion reaction mixture in the pores of the tooth]. *Neravnovesnye processy v soplakh i struyakh (NPNJ'2012): Materials of the IX International Conf. (Alushta, 23-May 31, 2012)* Moscow, 2012. pp. 571–572.

7. Samarskiy A.A. *Teoriya raznosnykh skhem* [Theory of difference schemes]. Moscow: Nauka, 1977, 656 p.

8. Guidoni G.M., Swain M.V., Jäger I. Wear behavior of dental enamel at the nanoscale with a sharp and blunt indenter tip // *Wear*. 2009. Vol. 266, no. 1–2. pp. 60–68.

9. Lawn B.R., Lee J.J.-W., Chai H. Teeth: among nature's most durable biocomposites // *Ann. Rev. Mater. Res.* 2010. Vol. 40. pp. 55–75.

10. Morozov I.A., Svistkov A.L., Gileva O.S., Erofeeva E.S. Experimental investigation of the influence of bleaching on enamel surface microstructure // *Russian Journal of Biomechanics*. 2010. Vol. 14, no. 1 (47). pp. 55–63.

Рецензенты:

Десяткова Г.И., д.м.н., доцент, заведующая кафедрой общественного здоровья и здравоохранения ФПК и ППС, ФГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь;

Пенский О.Г., д.т.н., доцент, профессор кафедры процессов управления и информационной безопасности, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 615.281'33.015.3:616.155.2-092.9

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ЭДИЦИН» НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

**Сергеева Е.О., Терехов А.Ю., Доркина Е.Г., Саджая Л.А., Реккандт С.А.,
Скульте И.В., Папаяни О.И.**

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «ВолгГМУ Минздрава
России», Пятигорск, e-mail: maklea@yandex.ru*

Четырнадцатидневное применение препарата «Эдицин» в дозах 172 и 860 мг/кг свидетельствовало о развитии значительных сдвигов в качественном и количественном составе форменных элементов крови. Данные изменения были характерными для развивающихся на фоне интоксикации антибиотиком поражений, в первую очередь ренальной и гепатобилиарной систем, а также могли реализоваться в ходе прямого влияния антибиотика на этапы гемопоэза эритроцитарного, лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков. Введение эдицина сопровождалось развитием умеренной анемии с характерными количественными и морфологическими изменениями эритроцитов, активацией тромбоцитопоэза и значительным изменением лейкоцитарного состава крови. После отмены препарата в течение 14 дней не происходит полного восстановления гематологических показателей, а, напротив, изменения приобретают новую форму с сохранением сдвигов практически по всем показателям (лейкопения, моноцитопения, снижение доли юных нейтрофилов). Перечисленные изменения картины периферической картины крови более выражены при использовании антибиотика в токсической дозе 860 мг/кг.

Ключевые слова: антибиотик, гликопептид, дженерик, ванкомицин

STUDYING OF INFLUENCE OF THE PREPARATION «EDICIN» ON INDICATORS OF PERIPHERAL BLOOD

**Sergeeva E.O., Terekhov A.Y., Dorkina E.G., Sadzhaya L.A., Rekkandt S.A.,
Skulte I.V., Papayany O.I.**

*Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute, Pyatigorsk branch of the SBEI
of HPE Volgograd state medical university, Pyatigorsk, e-mail: maklea@yandex.ru*

Fourteen-day application of the preparation «Editsin» in doses of 172 and 860 mg/kg testified to development of considerable shifts in qualitative and quantitative structures of uniform elements of blood. These changes were characteristic for developing against intoxication an antibiotic of defeats, first of all renal and hepatobiliary systems, and also could be realized during direct influence of an antibiotic on stages hemopoiesiseritrotsitarny, leykotsitarny and trombotsitarny sprouts. Introduction edithin was accompanied by development of moderate anemia with characteristic quantitative and morphological changes of erythrocytes, activation thrombocytopoiesis and considerable change of leykotsitarny composition of blood. After preparation cancellation within 14 days there is no complete recovery of hematologic indicators, and opposite to change get a new form about preservation of shifts practically on all indicators (a leykopeniye, monocytosing, decrease in a share of young neutrophils). The listed changes of a picture of a peripheral picture of blood are more expressed when using antibiotic in a toxic dose of 860 mg/kg.

Keywords: antibiotic, glykopeptid, dgeneric, vancomycin

Ванкомицин является трициклическим гликопептидным антибиотиком, выделенным из *Amycolatopsisorientalis*. Бактерицидное действие ванкомицина проявляется в результате ингибирования биосинтеза клеточной стенки. Кроме того, ванкомицин может изменять проницаемость клеточной мембраны бактерий и изменять синтез РНК. Перекрёстная устойчивость между ванкомицином и антибиотиками других классов отсутствует.

Важным преимуществом гликопептидов перед многими другими антибиотиками является устойчивость к бета-лактамазам и активность в отношении метициллинрезистентных стафилококков. Гликопептиды в виде монотерапии или в комбинации с другими антибиотиками применяют для лечения полирезистентных стафилококковых и энтерококковых инфекций. Они являются препаратами выбора для лечения

инфекционных заболеваний, вызванных метициллинрезистентными стафилококками, и у пациентов с аллергией к цефалоспорином. Ванкомицин используют для терапии тяжелых инфекций, часто угрожающих жизни, в том числе сепсиса, эндокардита, остеомиелита, перитонита, связанного с перитонеальным диализом, менингита, абсцессов мозга и легкого, псевдомембранозного колита. Кроме того, их считают препаратами выбора при пневмониях, вызванных пенициллинрезистентными пневмококками. Гликопептидные антибиотики рекомендуют применять для профилактики катетер-ассоциированных инфекций и инфекционных осложнений после имплантации искусственных протезов [1].

В России доступны следующие лекарственные формы ванкомицина: лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 500 и 1000 мг.

Цель исследования – оценка влияния препарата «Эдицин» на показатели периферической крови при изучении общетоксического действия, проводимого в условиях хронического эксперимента.

Материалы и методы исследования

«Эдицин» – исследуемый препарат, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий. Активное вещество – ванкомицина гидрохлорид в количестве, эквивалентном 1 г (1000000 МЕ) ванкомицина; производитель Лек.д.д., г. Любляна, Словения.

Для проведения опыта было использовано 3 группы животных по 12 особей в каждой группе (6 самок и 6 самцов). Животные 1-й группы служили контролем, им ежедневно внутривенно вводили 0,9% раствор натрия хлорида в эквивалентном вводимым препаратам количестве – 1 мл/200 г. Животные 2-й группы получали внутривенные инъекции эдицина в дозе 172 мг/кг, 3-й группы – инъекции эдицина в дозе 860 мг/кг. Для оценки отдаленных результатов длительного введения исследуемых препаратов использовали еще 3 группы животных аналогичного состава, забой которых осуществляли через 2 недели после окончания введения эдицина. Введение веществ производили ежедневно. Продолжительность введения составила 14 дней [4, 5].

Гематологические исследования цельной крови выполнялись на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе BC-2800 vet (Mindray). При забое готовили мазки крови (для определения лейкоцитарной формулы), собранную кровь смешивали с 6% раствором трилона Б для дальнейших клинических исследований [3].

Принцип определения основан на методе импеданса, который заключается в определении количества и размера клеток в зависимости от изменения электрического сопротивления, когда частица (клетка) в токопроводящей жидкости проходит через маленькую апертуру. Каждая клетка при этом вызывает изменение импеданса проводящей суспензии клеток крови. Эти изменения регистрируются как увеличение напряжения между электродами. Количество импульсов определяет количество клеток. Амплитуда импульса пропорциональна объему клетки. Импульсы подсчитываются только в границах, которые находятся между заранее установленными нижними и верхними пределами (дискриминаторами).

Принцип измерения гемоглобина. Гемоглобин определяется в лизированном разведении 1:196 цианметгемоглобиновым методом. Реагент лизирует эритроциты, при этом высвобождается гемоглобин. Железо гемоглобина окисляется из двухвалентного в трехвалентное, формируя метгемоглобин, который реагирует с цианидом калия с образованием стабильного цианметгемоглобина или гемоглобинцианида. Затем концентрация гемоглобина измеряется фотометрически.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью параметрического критерия t Стьюдента с определением средней арифметической (M) и ее стандартной ошибки (m).

Результаты исследования и их обсуждение

Количество эритроцитов в крови – один из наиболее важных показателей системы

крови. В результате проведенного исследования установлено, что количество эритроцитов в крови опытных животных колебалось в пределах $5,3-5,7 \cdot 10^{12}$ клеток на литр крови, в то время как у контрольных животных (и у самок, и у самцов соответственно) количество эритроцитов составило $5,7 \cdot 10^{12}$ и $6,6 \cdot 10^{12}$ клеток на литр крови (табл. 1). Незначительное, но достоверное снижение количества эритроцитов на 13–19% у опытных групп животных (преимущественно у самцов) можно расценивать как развитие эритроцитопении. Длительное введение препарата эдицина может привести к развитию железодефицитной анемии. В подтверждение этому в группе самцов и самок умеренно снижался уровень гемоглобина на 14 и 17% соответственно при введении эдицина в дозе 860 мг/кг. Причем в группах животных с достоверным снижением концентрации гемоглобина в крови (максимальная доза препарата) отмечали достоверное по отношению к контролю уменьшение значения гематокрита. Это может быть обусловлено уменьшением количества эритроцитов с одновременной ренальной гипергидратацией у животных с более выраженным нефротическим синдромом, развивающимся под влиянием высокой дозы препарата.

Об участии гипергидратирующей компоненты свидетельствует и тот факт, что в группах крыс-самцов под влиянием исследуемого объекта, вводимого в дозе 172 мг/кг, при условии снижения количества эритроцитов примерно в том же объеме, что и в максимальной дозе, значения гематокрита не изменились [2]. Морфологическая картина эритроцитов у животных с максимальной дозой исследуемого препарата характерна для данных количественных изменений анемического характера – практически у всех животных встречается анизоцитоз и пойкилоцитоз 1–2 степени.

Через 2 недели после отмены препарата, вводимого в дозе 860 мг/кг, концентрация гемоглобина в крови также была ниже контрольного и у самцов, и у самок (табл. 2). Кроме того, аналогичные изменения произошли и в группах самок, получавших эдицин в дозе 172 мг/кг (содержание гемоглобина ниже контрольного значения 20%).

Во всех опытных группах животных наблюдались характерные для анемии морфологические изменения эритроцитов, более выраженные при использовании препаратов в высокой дозе – анизоцитоз 2–3 степени (преимущественно мегалоцитоз от 7 до 15 гигантских эритроцитов на 100 клеток), пойкилоцитоз 1–2 степени. При рассмотрении гематологических препаратов крови в этих группах животных встречаются и другие

морфологические признаки нарушения эритропоэза – остатки ядерной оболочки мегалобластов (Кольца Кебота), тельца Жолли.

Следует отметить достоверный рост ретикулоцитов в опытных группах животных (у самок и у самцов в дозе 860 мг/кг) после

отмены эдицина. В опытных группах самок после отмены эдицина в дозе 860 мг/кг содержание ретикулоцитов составляло 6,3%, а у самцов – 6,5%, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию на развившуюся токсическую анемию.

Таблица 1

Показатели крови у крыс-самок и крыс-самцов после длительного приема препарата «Эдицин» ($M \pm m, n = 4-6$)

Показатели	Исследуемые животные (доза)					
	Контроль, самки	Эдицин 172 мг/кг, самки	Эдицин 860 мг/кг, самки	Контроль, самцы	Эдицин 172 мг/кг, самцы	Эдицин 860 мг/кг, самцы
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,7 \pm 0,11$	$5,7 \pm 0,13$	$5,4 \pm 0,39$	$6,6 \pm 0,19$	$5,7 \pm 0,13^*$ -13%	$5,3 \pm 0,85^*$ -19%
Ретикулоциты, %	$3,1 \pm 0,28$	$4,1 \pm 0,25^*$ +32%	$3,0 \pm 0,33^*$	$2,7 \pm 0,56$	$2,1 \pm 0,38$	$3,2 \pm 0,94$
Гематокрит, %	$61,5 \pm 0,85$	$58,5 \pm 0,92$	$54,5 \pm 5,78^*$ -11%	$58,6 \pm 2,23$	$61,5 \pm 0,50$	$48,3 \pm 3,20^*$ -17%
Гемоглобин, г/л	$130,0 \pm 6,37$	$119,4 \pm 11,61$	$107,3 \pm 16,71^*$ -17%	$129,4 \pm 5,60$	$134,9 \pm 6,55$	$110,5 \pm 4,29^*$ -14%
СОЭ, мм/час	$6,7 \pm 2,11$	$11,0 \pm 2,17$	$17,5 \pm 1,98$ +162%	$9,8 \pm 2,75$	$8,7 \pm 2,16$	$18,3 \pm 1,30^*$ +86%
Осмотическая резистентность, %	$31,7 \pm 1,67$	$35,0 \pm 1,29$	$0,4 \pm 0,24^*$ -99%	$34,0 \pm 2,92$	$35,8 \pm 1,54$	$0,4 \pm 0,29^*$ -99%
Тромбоциты, $10^9/л$	$753,3 \pm 49,44$	$831,1 \pm 17,07$	$885,0 \pm 33,79^*$ +17%	$624,0 \pm 34,87$	$798,3 \pm 35,25$ +27%	$775,0 \pm 41,93$ +24%

Примечания: * – достоверно по отношению к контролю; во всех остальных случаях $P > 0,05$.

Таблица 2

Показатели крови у крыс-самок и крыс-самцов после отмены препарата «Эдицин» ($M \pm m, n = 4-6$)

Показатели	Исследуемые животные (доза)					
	Контроль, самки	Эдицин 172 мг/кг, самки	Эдицин 860 мг/кг, самки	Контроль, самцы	Эдицин 172 мг/кг, самцы	Эдицин 860 мг/кг, самцы
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,7 \pm 0,11$	$5,7 \pm 0,06$	$5,8 \pm 0,19$	$6,6 \pm 0,19$	$6,9 \pm 0,30$	$5,9 \pm 0,25^*$ -10%
Ретикулоциты, %	$3,1 \pm 0,28$	$2,7 \pm 0,19$	$6,3 \pm 0,26$ +103%	$2,7 \pm 0,56$	$2,2 \pm 0,20$	$6,5 \pm 0,34^*$ +140%
Гематокрит, %	$61,5 \pm 0,85$	$58,0 \pm 0,97$	$56,4 \pm 1,08$	$58,6 \pm 2,23$	$58,8 \pm 2,01$	$61,8 \pm 3,68$
Гемоглобин, г/л	$130,0 \pm 6,37$	$103,8 \pm 3,41^*$ -20%	$98,3 \pm 3,54^*$ -24%	$129,4 \pm 5,60$	$118,5 \pm 3,17$	$94,5 \pm 2,18^*$ -24%
СОЭ, мм/час	$6,7 \pm 2,11$	$7,6 \pm 2,26$	$7,8 \pm 1,39$	$9,8 \pm 2,75$	$11,2 \pm 2,47$	$9,5 \pm 1,64$
Осмотическая резистентность, %	$31,7 \pm 1,67$	$36,7 \pm 2,05$	$38,7 \pm 3,25$	$34,0 \pm 2,92$	$41,0 \pm 6,32$	$37,5 \pm 2,52$
Тромбоциты, $10^9/л$	$753,3 \pm 49,44$	$843,3 \pm 8,43$	$1095,0 \pm 51,8^*$ +45%	$624,0 \pm 34,87$	$786,7 \pm 16,47^*$ +26%	$1137,5 \pm 85,96^*$ +83%

Примечание: * – достоверно по отношению к контролю; во всех остальных случаях $P > 0,05$

Введение эдицина в дозе 860 мг/кг сопровождалось значительным увеличением СОЭ у самцов на 86%, и более значительным подъемом у самок соответственно на 162%. СОЭ – неспецифический показатель диспротеинемии (нарушение нормального количественного соотношения между

фракциями белков крови), сопровождающей процесс болезни. Основной причиной данных изменений СОЭ в опытных группах может служить, в первую очередь, мощная воспалительная реакция, возникающая при выраженном поражении почек, а также печени. Эти явления более выражены у самок,

соответственно изменения СОЭ имеют более выраженный характер у данного пола животных. Через 14 дней после отмены препаратов сохранялась тенденция к увеличению СОЭ, но во всех опытных группах отсутствовали достоверные изменения по отношению к контролю. Такой характер изменений СОЭ при сохранении значительной декомпенсации функции почек может быть объяснен снижением острой воспалительной реакции в почках по сравнению с животными, исследованными сразу после окончания введения препаратов, и наличием выраженных остаточных структурных и соответственно функциональных нарушений.

Длительное введение препарата в дозе 172 мг/кг (у крыс-самок и у крыс самцов), не оказало влияния на значения показателя осмотической резистентности, а в дозе 860 мг/кг эдицина заметно снижал осмотическую резистентность на 99%. После отмены препарата и в дозе 172 мг/кг и в дозе 860 мг/кг осмотическая резистентность максимально повысилась до уровня контрольных животных.

В группах крыс-самок при получении эдицина в большой дозе отмечалось незначительное достоверное увеличение уровня тромбоцитов примерно на 17%, а у крыс-самцов и в дозе 172 мг/кг, и в дозе 860 мг/кг увеличение уровня тромбоцитов – на 27, 24% соответственно.

После отмены препарата у крыс-самок в большой дозе уровень тромбоцитов нарастал и достиг + 45%, а у крыс-самцов после отмены и в дозе 172 мг/кг, и в дозе 860 мг/кг увеличение уровня тромбоцитов возросло с 26 до 83%, т.е. развивается тромбоцитемия. Исследование морфологической картины форменных элементов показало наличие мегакариоцитов у животных (и самки, и самцы) через 2 недели после отмены высоких доз эдицина. Данные изменения в содержании тромбоцитов характерны для печеночных патологий, часто провоцирующих усиление печеночного синтеза тромбопоэтина под влиянием активных интерлейкинов воспалительного процесса.

Использование препарата эдицина вызвало значительные изменения в лейкоцитарной формуле. Так у крыс самок введение эдицина в дозе 860 мг/кг сопровождалось ростом числа лейкоцитов относительно контроля на 124%. Эти изменения сопровождалась нейтрофилией с выраженным сдвигом в лейкоцитарной формуле нейтрофилов вправо во всех опытных группах самок, характеризуемым увеличением доли сегментоядерных нейтрофилов (характерные изменения для заболеваний печени и почек). В то же время наблюдали сни-

жение продукции клеток лимфатического ростка: процентное содержание лимфоцитов снижалось у крыс-самок под влиянием эдицина в дозах 172 и 860 мг/кг примерно от 31 до 56%. Интересным является тот факт, что эти изменения являются четко дозозависимыми – увеличение дозы от 172 до 860 мг/кг сопровождается дальнейшим достоверным снижением доли лимфоцитов, то есть развивается еще больший дисбаланс в соотношении основных групп лейкоцитов. Лимфоцитопения также часто сопровождается выраженную функциональную недостаточность почек.

Приём эдицина в дозе 860 мг/кг привёл к развитию моноцитопении – уменьшению количества моноцитов у крыс-самок на 45% и крыс-самцов на 60%.

В группах крыс самцов лейкоцитоз встречался во всех опытных группах – терапевтические дозы привели к увеличению количества лейкоцитов на 45%. В дозе 860 мг/кг под влиянием эдицина количество лейкоцитов увеличивалось примерно в 2,5 раза. Изменения соотношения субпопуляций лейкоцитов имели сходный с опытными группами самок характер за исключением того, что эти сдвиги преимущественно происходили под влиянием препарата в дозе 860 мг/кг.

Интересными и по некоторым позициям противоположными явились количественные и качественные лейкоцитарные изменения, развившиеся через 14 дней после окончания введения самцам и самкам исследуемого препарата: лейкоцитопения в группах, получавших препарат в дозе 860 мг/кг, восстановление процентного содержания лимфоцитов, зрелых форм нейтрофилов и снижение во всех опытных группах доли палочкоядерных нейтрофилов с сохранением в высокой дозе моноцитопении.

Выводы

Четырнадцатидневное применение эдицина в дозах 172 и 860 мг/кг в отношении состояния показателей периферической крови свидетельствовало о развитии значительных сдвигов в качественном и количественном составе форменных элементов крови. Данные изменения были характерными для развивающихся на фоне интоксикации антибиотиком поражений, в первую очередь почечной и гепатобилиарной систем, а также могли реализоваться в ходе прямого влияния антибиотиков на этапы гемопоэза эритроцитарного, лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков. Введение эдицина сопровождалось развитием умеренной анемии с характерными количественными и морфологическими изменениями эритроцитов, активацией

тромбоцитопоза и значительным изменением лейкоцитарного состава крови.

После отмены препарата в течение 14 дней не происходит полного восстановления гематологических показателей, а, напротив, изменения приобретают новую форму с сохранением сдвигов практически по всем показателям (лейкопения, моноцитопения, снижение доли юных нейтрофилов). Перечисленные изменения картины периферической картины крови более выражены при использовании антибиотика в токсической дозе 860 мг/кг.

Список литературы

1. Ефременкова О. Антибиотики: жизнь продолжается // Наука и жизнь. – 2008. – № 3. – С. 12–14.
2. Василенко Ю.К. Клинико-биохимические основы патологии и биохимической лабораторной диагностики: учеб. пособие. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2005. – 112 с.
3. Камышников В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 320 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. члена-кор. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.
5. Сернов, Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: Наука, 2000. – 352 с.

References

1. Efremenkova O. Antibiotiki: zhiznprodolzhaetsya // Nauka i zhizn. 2008. no. 3. pp. 12–14.
2. Vasilenko Yu.K. Kliniko-bioximicheskie osnovy patologii i bioximicheskoj laboratornoj diagnostiki: ucheb. posobie. Pyatigorsk: Pyatigorskaya GFA, 2005. 112 p.
3. Kamyshnikov V.S. Klinicheskie laboratornye testy ot A do Ya i ix diagnosticheskie profili. M.: MEDpress-inform, 2009. 320 p.
4. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyx farmakologicheskix veshhestv / Pod obshhej red. chlena-kor. RAMN, prof. R.U. Xabrieva. 2 izd., pererab. idop. M.: OAO «Izdatelstvo «Medicina», 2005. 832 p.
5. Sernov, L.N. Elementy eksperimental'noj farmakologii / L.N. Sernov, V.V. Gacura. M.: Nauka, 2000. 352 p.

Рецензенты:

Василенко Ю.К., д.м.н., профессор кафедры биохимии и микробиологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Компанцев В.А., д.фарм.н., профессор кафедры неорганической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.831–005.1–073.97+617.51

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУР НЕЙРОМОТОРНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЛОКАЛЬНОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ И В УСЛОВИЯХ ДИСТРАКЦИОННОГО КРАНИООСТЕОСИНТЕЗА

Скрипников А.А., Криворучко Г.А., Шенин А.П.

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения России, Курган, e-mail: office@ilizarov.ru

С целью оценки функционального статуса различных структур нейромоторной системы в отдаленном периоде локального церебрального поражения и в условиях distraction cranioosteosynthesis методом глобальной и стимуляционной электромиографии (регистрация М-ответов) протестированы мышцы верхних и нижних конечностей 28 больных (11 – женского, 17 – мужского пола) в возрасте от 16 до 62 лет (средний возраст $40,1 \pm 2,6$ лет) с последствиями локального церебрального поражения (инсульт в бассейне средней мозговой артерии – 17 больных, тяжелая ЧМТ – 11). Выявлено, что в отдаленном периоде поражения центрального мотонейрона имеют место слабовыраженные билатеральные изменения по аксонально-демиелинизирующему типу основных характеристик М-ответов мышц верхних и нижних конечностей, обусловленные дисфункцией нейромоторных структур на уровнях сегментарного аппарата и периферических нервов и эффектами нисходящей межнейронной транссинаптической дегенерации. Изменения параметров М-ответов в процессе замещения дефектов костей свода черепа характеризовались тенденциями к снижению латентности и длительности, а также возрастанию амплитуды и площади. При анализе характеристик глобальной ЭМГ выявлены изменения, свидетельствующие о сочетании (как нейрональном, так и миогенном) поражении нейромоторного аппарата.

Ключевые слова: пирамидный синдром, distraction cranioosteosynthesis, мышцы, нервы, глобальная ЭМГ, М-ответ

FUNCTIONAL STATUS OF VARIOUS NEUROMOTOR SYSTEM STRUCTURES IN PATIENTS IN THE LATE PERIOD OF FOCAL CEREBRAL LESIONS AND UNDER DISTRACTION CRANIOOSTEOSYNTHESIS

Skripnikov A.A., Krivoruchko G.A., Shein A.P.

Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: office@ilizarov.ru

In order to assess the functional status of the various neuromotor system structures in the late period of local cerebral lesion and under distraction cranioosteosynthesis by global and stimulation (M-responses) were tested muscles of the upper and lower limbs in 28 patients (11 female, 17 – male) aged 16 to 62 years (mean age $40,1 \pm 2,6$ years) with the effects of local cerebral lesions (stroke in the middle cerebral artery territory – 17 patients, with severe traumatic brain injury – 11). It was revealed that in the late period of the central motor neuron lesion occur bilateral weakly marked changes in the basic characteristics of the upper and lower extremities muscles M-responses by axonal-demyelinating type caused by dysfunction and descending in transsynaptic degeneration effects. The M-responses parameters changes in the process of replacement of bone defects of the skull characterized by a tendency to reduce of the latency and duration and increase of the amplitude and area. Global EMG data show changes, which reflect the combination of neuronal and myogenic type of neuromotor lesion.

Keywords: pyramidal syndrome, distraction cranioosteosynthesis, muscles, nerves, global EMG, M-response

В Российском научном центре «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова длительный период ведется работа по изучению особенностей функционирования нейромоторной системы в условиях локального церебрального поражения (полушарный инсульт, тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ)) и реактивно-адаптационных процессов, развивающихся при применении у данных больных метода черепно-мозгового distraction cranioosteosynthesis [9]. Анализ характеристик неврологического статуса больных с последствиями ЧМТ при замещении у них дефектов костей свода черепа выявил, что процесс образования костного регенерата оказывает влияние

на подлежащие структуры головного мозга и сопровождается увеличением силы мышц, возрастанием объема активных движений паретичных конечностей и частичным регрессом речевых расстройств [3], в связи с чем данная хирургическая технология была применена в качестве одного из компонентов реабилитационной программы при лечении больных с последствиями церебрального инсульта [7].

Цель работы состояла в оценке функционального статуса различных структур нейромоторной системы в отдаленном периоде локального церебрального поражения и в условиях distraction cranioosteosynthesis.

Материалы и методы исследования

Методом электронейромиографии (ЭНМГ) обследовано 28 больных (11 – женского, 17 – мужского пола) в возрасте от 16 до 62 лет (средний возраст $40,1 \pm 2,6$ лет) с последствиями церебрального поражения (инсульт в бассейне средней мозговой артерии – 17 больных, тяжелая ЧМТ – 11) в виде спастического гемипареза (в 16 случаях – грубого пареза, 7 – умеренного и у 5 больных – легкого). Все пациенты имели церебральный дефект (киста или рубец) сходной локализации – в лобно-теменно-височной области. Продолжительность заболевания – от 0,5 до 4 лет.

Методика хирургического вмешательства заключалась в создании костного регенерата в дефекте костей свода черепа. В проекции пораженного участка головного мозга (теменно-височная или лобно-теменно-височная область) производили костно-пластическую трепанацию. Из резецируемой костной пластины формировался лоскут, после фиксации которого у одной из кромок трепанационного окна осуществлялась его дозированная тракция при помощи аппарата наружной фиксации, продолжавшаяся до достижения лоскутом противоположного края трепанационного окна. В результате дефект закрывался новообразованной костной тканью. Средний срок присутствия аппарата на голове пациента составил $91,9 \pm 5,3$ дней.

Методом глобальной ЭМГ (проба «максимальное произвольное напряжение») тестировались восемь мышц верхних конечностей (*m. deltoideus* (cap. med.), *m. bicepsbrachii* (cap. lon.), *m. tricepsbrachii* (cap. lon.), *m. extensordigitorum*, *m. flexorcarpiradialis*, *m. flexorcarpiulnaris*, *mm. thenar*, *mm. hypothenar*) и четыре мышцы – нижних (*m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius* (cap. lat.), *m. rectus femoris*, *m. biceps femoris*). На основе показателей «средняя амплитуда» (СА-ЭМГ; мкВ) и «частота следования колебаний» (ЧСК; кол./с) рассчитывался амплитудно-частотный коэффициент (АЧК) по формуле

$$\text{АЧК} = \text{СА} - \text{ЭМГ/ЧСК}.$$

Моторные ответы (М-ответы) мышц верхних конечностей получали по аналогичным вышеприведенной методике отведениям, при тестировании нижних – использованы отведения от *m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius* (cap. lat.), *m. rectus femoris*, *m. soleus*, *m. extensordigitorumbrevis*, *m. flexordigitorumbrevis*. Анализировались: максимальная амплитуда М-ответа (мВ), латентность (мс), длительность (мс) и площадь (мВ-мс). Больные обследовались до операции, через 1 месяц после наложения аппарата наружной фиксации костей свода черепа, после его снятия, а также в течение первого года после окончания лечения – «контроль 1» и в течение второго года – «контроль 2». В качестве нормативных величин использованы данные, полученные при обследованиях 51 неврологически здорового субъекта, сопоставимого по возрасту, полу с исследуемой выборкой больных. Рассчитывались средние значения всех полученных в ходе исследования показателей (М), ошибка репрезентативности (m). Для оценки достоверности различия сопоставляемых выборок показателей, а также изменения анализируемых количественных характеристик использовались W- и T-критерий Вилкоксона. Принятый уровень статистической значимости выводов – 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что при поражении верхнего мотонейрона расстройства в системе организации и управления движениями обусловлены наряду с непосредственным ослаблением центрального моторного контроля еще и с дегенеративно-дистрофическими изменениями периферического мотонейрона вследствие развития нисходящей транссинаптической аксональной дегенерации [1], а также мультифокального эшелонированного поражения периферических нервов [10], связанного с компрессией нервных стволов, обусловленной спастичностью, длительным пребыванием пациента в постели и гиподинамией, особенностями патологического двигательного паттерна, а также развитием вторичного миофасциального синдрома [8]. При этом характеристики М-ответов достаточно полно отражают функциональное состояние сегментарных структур и периферических нервов, поскольку известно, что при надсегментарных поражениях данные параметры паретичных мышц остаются в нормальных границах, пока не сформируются вторичные дегенеративно-дистрофические изменения периферического мотонейрона на разных уровнях: снижение размеров и гибель части двигательных единиц (ДЕ) вследствие хронической дисфункции и нисходящей транссинаптической дегенерации, снижение возбудимости мотонейронов и/или аксонов, нарушение невральной проводимости, снижение числа функционирующих мышечных волокон [2, 6].

Установлено, что латентность М-ответа, характеризующая максимальную скорость распространения возбуждения по эфферентным нервным волокнам [6], до операции на стороне пареза была увеличена в 10 из 14 рассматриваемых отведений ($p < 0,05$ в половине случаев) в среднем на $7,3 \pm 1,1\%$ (таблица), что свидетельствует о преимущественном поражении фракции высокопроводящих эфферентных волокон, относящихся к двигательным единицам П типа («быстрым» ДЕ). Увеличение латентности является также признаком миелинопатии нерва [4].

После первичного снижения латентностей М-ответов, отмеченного через 1 месяц после операции (8 отведений – на $10,8 \pm 2,7\%$; $p < 0,05$ в 1 случае), на момент выписки из стационара зафиксирована тенденция к восстановлению значений анализируемого показателя до исходного уровня: в 9 отведениях латентность возросла на $12,3 \pm 3,1\%$. В течение первого года после завершения лечения по большинству

отведений отчетливой динамики латентности М-ответов не отмечалось. В сроки «контроль 2» отмечено снижение показателя в 11 отведениях в среднем на $8,4 \pm 1,8\%$, в результате чего итоговый уровень латентности М-ответов оказался в 10 случаях ниже на $10,8 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$ по 4 отведениям) относительно дооперационных ве-

личин (при этом в одном отведении значения возросли на $8,0\%$, а в 3 – оказалась на исходной отметке). Сравнение итогового уровня с нормативными показателями выявило превышение нормы лишь в 1 случае (на $7,9\%$), в то время как до операции повышенные значения отмечались в 10 из 14 рассматриваемых отведений.

Латентность М-ответов (мс) мышц паретичных конечностей у пациентов с синдромом верхнего мотонейрона на различных этапах реабилитации (M ± m)

Мышца	До лечения	Ч/з 1 мес. после операции	Окончание лечения	Контроль I	Контроль 2
m. deltoideus (c.med.)	$3,76 \pm 0,18$	$3,90 \pm 0,32$	$3,81 \pm 0,15$	$3,76 \pm 0,11$	$3,56 \pm 0,32$
m. biceps brachii(c.lon.)	$4,62 \pm 0,10$	$4,53 \pm 0,24$	$4,58 \pm 0,12$	$4,52 \pm 0,16$	$4,12 \pm 0,13^*$
m. triceps brachii(c.lon.)	$3,46 \pm 0,13$	$3,33 \pm 0,20$	$3,50 \pm 0,20$	$3,38 \pm 0,13$	$3,30 \pm 0,17$
m. flexor carpi radialis	$2,75 \pm 0,15$	$2,53 \pm 0,37$	$2,68 \pm 0,13$	$2,35 \pm 0,14^*$	$2,49 \pm 0,19$
m. flexor carpi ulnaris	$3,04 \pm 0,21$	$2,60 \pm 0,17$	$3,09 \pm 0,35$	$2,73 \pm 0,22$	$2,44 \pm 0,21^*$
m. extensor digitorum	$4,00 \pm 0,17$	$3,93 \pm 0,22$	$4,22 \pm 0,18$	$4,29 \pm 0,17$	$4,01 \pm 0,16$
mm. thenar	$7,72 \pm 0,29$	$6,50 \pm 0,20$	$7,35 \pm 0,18$	$7,58 \pm 0,18$	$7,18 \pm 0,12$
mm.hypothenar	$7,79 \pm 0,45$	$7,70 \pm 1,70$	$7,61 \pm 0,22$	$7,63 \pm 0,30$	$6,49 \pm 0,37^*$
m. rectus femoris	$3,02 \pm 0,16$	$3,29 \pm 0,29$	$3,32 \pm 0,16$	$3,25 \pm 0,15$	$2,54 \pm 0,18^*$
m. tibialis anterior	$4,18 \pm 0,26$	$4,58 \pm 0,59$	$3,93 \pm 0,22$	$4,02 \pm 0,23$	$3,56 \pm 0,28$
m. gastrocnemius (c.lat.)	$3,81 \pm 0,22$	$2,96 \pm 0,13^*$	$3,96 \pm 0,20$	$3,63 \pm 0,22$	$3,68 \pm 0,29$
m.soleus	$4,26 \pm 0,17$	$3,54 \pm 0,41$	$4,04 \pm 0,18$	$4,25 \pm 0,20$	$4,60 \pm 0,22$
m. extensor dig.br.	$12,94 \pm 0,30$	$12,59 \pm 0,61$	$13,29 \pm 0,35$	$13,17 \pm 0,42$	$12,88 \pm 0,50$
m. flexor dig. br.	$13,54 \pm 0,31$	$13,16 \pm 0,59$	$14,09 \pm 0,28$	$13,88 \pm 0,31$	$13,44 \pm 0,33$

Пр и м е ч а н и я : M – средняя величина, m – ошибка средней;

* – значения достоверно ($p < 0,05$) отличаются от дооперационных величин.

Подчеркнутые значения достоверно ($p < 0,05$) отличаются от нормативных величин.

На контралатеральной стороне латентность М-ответов исходно была увеличена лишь в 5 случаях на $9,1 \pm 2,5\%$. Затем, через 1 месяц после операции в большинстве отведений (8) отмечено снижение показателя на $8,8 \pm 1,4\%$ с последующим восстановлением до исходного уровня на момент снятия аппарата (9 отведений – на $9,9 \pm 2,1\%$). После периода стабилизации значений, отмеченного в сроки «контроль 1», зафиксирована тенденция («контроль 2») к снижению латентности моторных ответов в 12 отведениях на $8,2 \pm 1,2\%$. В результате положительная динамика показателя отмечена в отношении 11 из 14 мышц – латентность снизилась относительно исходного уровня на $8,7 \pm 1,2\%$ ($p < 0,05$ по 2 отведениям).

Снижение амплитудной характеристики М-ответа, зависящей от количества активированных мышечных волокон и синхронно-

сти их возбуждения, отражает уменьшение числа функционирующих ДЕ и их размеров в тестируемой мышце [2]. До лечения амплитуда М-ответов паретичных мышц была снижена в 12 (из 14) отведениях в среднем на $22,4 \pm 2,5\%$. В отношении контралатеральных конечностей в 7 отведениях зафиксировано соответствие нормативам, в остальных случаях снижение составило в среднем $11,0 \pm 1,5\%$. Дальнейшие ЭМГ-обследования также выявили неоднозначную динамику анализируемого показателя. В итоге на стороне гемипареза в 3 отведениях показатель оказался ниже исходного уровня на $16,4 \pm 6,6\%$, еще в 3 – не изменился, а в остальных 8 отведениях возрос на $10,5 \pm 2,2\%$. В 4 отведениях от мышц контралатеральных конечностей рассматриваемый показатель оказался ниже исходного уровня в среднем на $14,9 \pm 3,9\%$, в одном

отведении возрос на 11,2%, а в остальных 9 – не изменился.

Длительность М-ответа, характеризующая дисперсию скоростей распространения возбуждения в популяции двигательных волокон дистального отдела конкретного нерва и, соответственно, обусловленная уровнем десинхронизации возбуждения мышечных волокон, входящих в состав различных ДЕ [5], до лечения на стороне пареза оказалась ниже нормы ($p < 0,05$) в половине отведений (7) в среднем на $14,1 \pm 3,2\%$, еще в 3 превышала норму на $11,7 \pm 3,7\%$ и в оставшихся 4 отведениях от нормы не отличалась. На контралатеральной стороне снижение ($p < 0,05$) отмечено также в 7 отведениях – на $16,6 \pm 3,2\%$, значения в 5 случаях соответствовали норме, и в 2 отведениях были повышены на $14,0 \pm 1,1\%$. Таким образом, в отдаленном периоде инсульта или тяжелой ЧМТ сочетанное снижение амплитуды и длительности М-ответов интерпретируется как признак поражения части спинальных мотонейронов, формирующих быстрые ДЕ, что соответствует т.н. «аксональному типу» поражения периферических нервов [2, 5]. Через месяц после операции на паретичной стороне длительность моторных ответов в 6 отведениях снизилась на $10,2 \pm 1,0\%$, еще в 6 – не изменилась, и в 2 отведениях возросла на $13,6 \pm 0,3\%$. На менее пораженной стороне наблюдалась аналогичная ситуация. При завершении лечения анализируемый показатель М-ответов паретичных мышц в большинстве (8) случаев характеризовался возрастанием значений на $14,0 \pm 4,0\%$, а на противоположной стороне увеличение данного показателя отмечено в 7 отведениях на $8,9 \pm 1,6\%$. В остальных случаях зафиксирована стабилизация значений либо их незначительное снижение. При «контроле 1» билатерально преобладали признаки стабилизации показателя с последующим («контроль 2») снижением: на стороне пареза на $9,5 \pm 1,6\%$ (9 отведений), а на контралатеральной стороне – на $8,4 \pm 1,2\%$ (8 случаев). В итоге длительность М-ответов оказалась ниже дооперационного уровня на стороне пареза в 8 отведениях ($8,7 \pm 1,4\%$; $p < 0,05$ в 1 случае, в 5 – без изменений и в 1 возрастание на $14,2\%$), а на контралатеральной стороне в 9 отведениях ($9,9 \pm 1,4\%$; $p < 0,05$ в 3 случаях, 5 отведений – без динамики), что с учетом возрастания амплитудных характеристик и площади М-ответов может свидетельствовать о позитивных процессах и быть обусловлено повышением синхронизации в активации двигательных единиц.

Площадь моторных ответов, прямо пропорциональная амплитуде и длительности

М-ответа, характеризующая особенностью к снижению, в частности, при аксонопатиях, связанных с туннельными синдромами [5], до операции на стороне поражения была ниже нормы в 12 из 14 отведений на $21,0 \pm 3,0\%$ ($p < 0,05$; 8 отведений), а на контралатеральной стороне была снижена в 9 случаях на $14,3 \pm 3,7\%$ ($p < 0,05$; 3 отведения). Через 1 месяц после операции величины площади снизились в 7 отведениях на стороне пареза (на $19,1 \pm 5,3\%$; $p < 0,05$ в 2 случаях), но вместе с этим в ряде случаев (5) отмечена и положительная динамика в виде нарастания площади на $12,7 \pm 4,3\%$. На контралатеральной стороне в 9 отведениях показатель снизился на $17,2 \pm 4,4\%$ ($p < 0,05$ в 1 отведении). При завершении лечения положительная динамика на стороне пареза отмечена уже в 8 отведениях – прирост значений на $27,8 \pm 13,5\%$, а на контралатеральной стороне в 5 – на $34,5 \pm 7,1\%$. Снижение показателя в эти сроки зафиксировано в 4 ($12,4 \pm 3,8\%$) и 3 ($8,3 \pm 0,5\%$) случаях соответственно. За период «контроль 1» на стороне пареза преобладали (8 отведений) явления стабилизации показателя, на контралатеральной стороне отмечены слабовыраженные разнонаправленные изменения. При «контроле 2» положительные тенденции в изменении показателя возобновились: площадь моторных ответов возросла в 8 отведениях с каждой стороны: на $17,7 \pm 4,6\%$ (паретичные мышцы) и на $9,4 \pm 1,2\%$ (контралатеральная сторона), в результате чего анализируемый показатель паретичных мышц относительно дооперационного уровня возрос в 8 отведениях ($14,8 \pm 4,2\%$), снизился – в 5 ($13,7 \pm 5,8\%$). На контралатеральной стороне преобладающих тенденций не выявлено.

Зафиксированное нами исходное (дооперационное) сочетание снижения амплитуды и уменьшения длительности М-ответов является признаком поражения тел мотонейронов (передних рогов), а также поражения периферических нервов по аксональному типу [2, 5]. По имеющимся данным, при пирамидном синдроме развиваются оба этих патологических процесса [1, 10]. Блок проведения, формирующийся при туннельных синдромах у больных указанной категории, характеризуется снижением амплитуды и площади М-ответа с одновременным падением скорости распространения возбуждения [5], при этом частичный блок проведения сочетается с развитием явлений демиелинизации [2], признаки которой в виде удлинения латентности М-ответов также были выявлены нами. Таким образом, у данных пациентов выявлено наличие слабо и умеренно

выраженных ЭНМГ-признаков сочетанного (аксонально-демиелинизирующего) поражения периферических нейромоторных структур.

По данным глобальной ЭМГ (12 отведений), до лечения значения АЧК были ниже нормы на $73,6 \pm 2,1\%$ (пораженная сторона) и на $34,0 \pm 3,9\%$ (контралатеральная). Через месяц после операции на стороне пареза наблюдалась разнонаправленная динамика показателя – в 5 отведениях АЧК возрос в среднем на $29,5 \pm 9,2\%$, в одном – не изменился и 6 отведениях снизился на $18,4 \pm 4,6\%$. На контралатеральной стороне в большинстве случаев (8) отмечено снижение показателя на $21,8 \pm 3,2\%$. В оставшихся отведениях – отсутствие динамики (2 отведения) или повышение значений (2) на $16,3 \pm 0,7\%$. Далее, на момент окончания лечения уже в 8 случаях на стороне пареза (прирост на $21,0 \pm 5,1\%$) начинают регистрироваться позитивные изменения и в 5 – на противоположной стороне ($19,7 \pm 5,8\%$). Отрицательная динамика в эти сроки отмечена в отношении 3 мышц с каждой стороны – на $30,0 \pm 2,3$ и $21,6 \pm 3,9\%$ соответственно. «Контроль 1» на паретичной стороне характеризовался возрастанием АЧК в 6 отведениях (на $21,4 \pm 4,4\%$), снижением – лишь в 2 случаях (на $7,4 \pm 0,9\%$), а на контралатеральной стороне – 9 (прирост $13,1 \pm 2,0\%$) и 1 отведение (снижение на $17,6\%$) соответственно. В сроки «контроль 2» по отведениям от паретичных мышц возрастание АЧК отмечено в 9 отведениях (на $20,6 \pm 3,8\%$), снижение – в 3 случаях (на $13,4 \pm 1,3\%$), а на контралатеральной стороне – 6 отведений (прирост $20,1 \pm 3,2\%$) и 4 отведения (снижение на $13,1 \pm 3,2\%$) соответственно. При сравнении итоговых значений с дооперационным уровнем отмечено, что на стороне пареза значения АЧК во всех отведениях превышали исходные величины в среднем на $36,1 \pm 8,8\%$ ($p < 0,05$ в 3 отведениях). На контралатеральной стороне показатели вернулись к исходному уровню в 2 случаях, возросли в 4 на $12,2 \pm 3,2\%$ и снизились – в 6 отведениях на $16,3 \pm 5,5\%$.

Таким образом, выявлено характерное для миогенного патологического процесса [6] снижение амплитудных характеристик произвольной ЭМГ-активности, что мы связываем с развитием атрофических процессов в самих мышцах из-за отсутствия функциональной нагрузки. Зафиксированное снижение частоты следования колебаний свидетельствует о страдании структур передних рогов спинного мозга в связи с гибелью крупных ДЕ – при нейрональном процессе [5].

Заключение

Таким образом, в отдаленном периоде поражения центрального мотонейрона отмечены билатеральные изменения М-ответов мышц конечностей, обусловленные дисфункцией структур нервной системы на уровнях сегментарного аппарата, периферических нервов и мышц, а также эффектами нисходящей трансинаптической дегенерации и свидетельствующие о сочетанном, аксонально-демиелинизирующем, типе поражения периферических нейромоторных структур. При этом зафиксированные изменения показателей характеризуются слабой выраженностью, что говорит об относительно сохранном состоянии сегментарных структур и периферических нервов. Динамика параметров М-ответов в процессе замещения дефектов костей свода черепа и на различных этапах после его завершения характеризовалась отчетливым положительным трендом в виде снижения их латентности и длительности, а также возрастания амплитуды и площади, причем как на стороне пареза, так и на контралатеральной стороне. При анализе характеристик произвольной активности мышц конечностей обнаружены ЭМГ-изменения, свидетельствующие о сочетанном поражении нейромоторного аппарата: выявлены признаки, свойственные миогенному, а также нейрональному поражению.

Список литературы

1. Искра Д.А. Периферические компоненты парезов лицевой мускулатуры у больных с очаговыми поражениями головного мозга / Д.А. Искра, В.Н. Цыган, М.М. Одинак // Вестн. Рос. Воен.-мед. акад. – 2007. – № 3. – С. 25–28.
2. Команцев В. Н. Методические основы клинической электронейромиографии: руководство для врачей. – СПб., 2006. – 350 с.
3. Метод дистракционного остеосинтеза костей свода черепа в лечении больных с последствиями черепно-мозговой травмы / А.Т. Худяев [и др.] // Гений ортопедии. – 2010. – № 4. – С. 32–35.
4. Неврология: национальное руководство / под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, В.И. Скворцовой, А.Б. Гехт]. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2010. – 1040 с.
5. Николаев С.Г. Практикум по клинической электромиографии. – Иваново: Иван. гос. мед. академия, 2003. – 264 с.
6. Одинак М.М., Живолупов С.А. Заболевания и травмы периферической нервной системы (обобщение клинического и экспериментального опыта). – СПб.: СпецЛит, 2009. – 367 с.
7. Применение метода Г.А. Илизарова в краниохирургии / А.Н. Дьячков [и др.] // Гений ортопедии. – 2011. – № 2. – С. 49–53.
8. Реабилитация и ведение больных с полушарным инсультом в свете новой концепции патогенеза постинсультного двигательного дефицита / А.С. Васильев [и др.] // Кремельская медицина. – 2001. – № 2. – С. 34–37.

9. Реактивность и пластичность коры головного мозга в условиях вазоактивной краниоостеопластики / В.И. Шевцов [и др.]. – Курган: Дамми, 2006. – 128 с.

10. Шмырев В.И., Васильев А.С. Периферические компоненты постинсультного двигательного пареза и возможности их коррекции с применением мягкотканых мануальных техник // Врач. – 2003. – № 1. – С. 22–25.

References

1. Iskra D.A., Cygan V.N., Odina M.M. Vestn. Ros. Voen.-med. akad, 2007, no. 3, pp. 25–28.

2. Komancev V.N. Metodicheskie osnovy klinicheskoy jelektronejromiografii: rukovodstvo dlja vrachej. Saint Petersburg, 2006. 350 p.

3. Hudjaev A.T., D'jachkov A.N., Muhtjaev S.V., Prudnikova O.G., Mihajlova E.A. Genij ortopedii, 2010, no. 4, pp. 32–35.

4. Nevrologija: nacional'noe rukovodstvo / pod red. Guseva E.I., Konovalova A.N., Skvorcovoj V.I., Geht A.B. Moscow, GJeOTAR-media, 2010. 1040 p.

5. Nikolaev S.G. Praktikum po klinicheskoy jelektronejromiografii. Ivanovo: Ivan. gos. med. akademija, 2003. 264 p.

6. Odina M.M., Zhivolupov S.A. Zabolevanija i travmy perifericheskoy nervnoj sistemy (obobshhenie klinicheskogo i jeksperimental'nogo opyta). Saint Petersburg, SpecLit, 2009. 367 p.

7. D'jachkov A.N., Muhtjaev S.V., Prudnikova O.G., Mihajlova E.A. Genij ortopedii, 2011, no. 2, pp. 49–53.

8. Vasil'ev A.S., Babenkov N.V., Nosenko E.M., Andreeva N.Ja., Vasil'eva V.V., Krylova S.V., Shusharina L.Ja., Kriveckij A.V., Artamonov A.V., Ermakova E.V., Zaec T.Ja., Klachkova L.B., Gerasimenko T.Ju., Bardina N.V., Rakova-Vaulina T.S. Kremlevskaja medicina, 2001, no. 2. pp. 34–37.

9. Shevcov V.I., Shein A.P., Skripnikov A.A., Krivoruchko G.A. Reaktivnost' i plastichnost' kory golovnogoz mozga v uslovijah vazoaktivnoj kranioosteoplastiki. Kurgan, Dammi, 2006. 128 p.

10. Shmyrev V.I., Vasil'ev A.S. Vrach, 2003, no. 1. pp. 22–25.

Рецензенты:

Кузнецов А.П., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии и физиологии человека, ФГБОУ ВПО «Курганский государственный университет», г. Курган;

Щурова Е.Н., д.б.н., заведующая лабораторией функциональных исследований, ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Министерства здравоохранения России», г. Курган.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.831.-005.1-036.868

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ КАК ПРЕДИКТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПОСТИНСУЛЬТНЫХ БОЛЬНЫХ

¹Солонец И.Л., ²Ефремов В.В.¹ГБУ РО «Областная клиническая больница № 2», Ростов-на-Дону;²ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: isolonec@bk.ru

Проведена оценка показателей качества жизни больных, перенесших церебральный инсульт, до и после курса реабилитационной терапии. Обследовано 30 пациентов в раннем восстановительном периоде инсульта, разделенных на две группы, сопоставимые по возрасту, полу, исходным показателям двигательного дефицита, когнитивных и психо-эмоциональных нарушений. Пациенты основной группы получали курсы функциональной программируемой электростимуляции аппаратом «АКорД-Мультимиостим», динамической проприокоррекции с использованием устройства «Гравистат» и специальные комплексы лечебной физкультуры. Пациенты контрольной группы получали курсы специальной лечебной физкультуры с элементами методологии «Баланс-терапия». После проведенного комплекса реабилитации у больных основной группы улучшения регистрировались во всех сферах, определяющих качество жизни, включая когнитивную функцию, эмоционально-личностную сферу, устанавливались высокоадаптивные формы отношения к болезни. Сделан вывод о необходимом исследовании качества жизни постинсультных больных с целью оценки эффективности проводимых мероприятий.

Ключевые слова: церебральный инсульт, реабилитация, качество жизни

QUALITY OF LIFE – AS A PREDICTOR OF EFFICIENCY OF REHABILITATION POST-STROKE PATIENTS

¹Solonets I.L., ²Efremov V.V.¹BU RO «Regional hospital № 2», Rostov-on-Don;²GBOU VPO «Rostov State Medical University of the Ministry of Public Health of Russia»,
Rostov-on-Don? e-mail: isolonec@bk.ru

An assessment of the quality of life of patients after cerebral stroke, before and after the rehabilitation therapy. A total of 30 patients in the early recovery period of a stroke, divided into two groups matched for age, sex, baseline in motor deficits, cognitive and psycho-emotional disorders. Patients of the group received training function programmed electrical apparatus «Akordy – Multimioestim» dynamic propriokorreksii using the device «Gravistat» and special complexes of physical therapy. Patients in the control group received a special course of physiotherapy with the elements of the methodology of the «Balance – therapy». After a complex rehabilitation in the study group were recorded improvements in all areas of determining the quality of life, including cognitive, emotional and personal sphere, installed highly adaptive form of relationship to the disease. The conclusion of the necessary study of the quality of life of post-stroke patients to assess the effectiveness of interventions.

Keywords: cerebral stroke, rehabilitation, quality of life

Проблема сосудистых заболеваний головного мозга по-прежнему является одной из наиболее актуальных в современном мире, в первую очередь по причине высокой смертности и инвалидизации населения. По данным Национального регистра, заболеваемость инсультом составила 3,52 случая на 1000 населения в 2009 г. и 3,27 – в 2010 г., смертность – 1,19 и 0,96 на 1000 населения соответственно [5]. Инвалидизация после перенесенной церебральной катастрофы достигает 3 человек на 10000 населения (Н.В. Верещагин, Ю.Я. Варакин, 2011). Несомненно, в последние годы достигнуты большие успехи лечения больных в острейшем и остром периодах инсульта, чем объясняется уменьшение смертности и рост выживаемости в первый месяц с момента заболевания. Однако вопросы реабилитации в раннем восстановительном периоде

по-прежнему требуют дальнейшего углубленного изучения [7; 8].

Выраженность постинсультных расстройств, прогноз определяются исходной тяжестью повреждения мозга и затрагивают физическую и психическую сферы деятельности человека, влияя на его качество жизни. Как правило, оценка эффективности реабилитационного процесса производится непосредственно врачом с использованием различных клинических показателей, тогда как мнение самого больного о результатах лечения практически не изучено [9]. В основу новой парадигмы понимания болезни и определения эффективности ее лечения было положено понятие «качество жизни» (КЖ). КЖ – это интегральная характеристика физического, психического, эмоционального и социального функционирования больного, основанная на его субъективном восприятии [3].

Таким образом, количественная оценка КЖ в процессе реабилитации постинсультных больных является прогностически значимой в оценке эффективности проводимых мероприятий и основополагающей в составлении индивидуального дифференцированного подхода к лечению.

Цель исследования – оценка качества жизни постинсультных больных в раннем восстановительном периоде церебрального инсульта как интегрального показателя эффективности комплексной реабилитации.

Материалы и методы исследования

Обследованы 30 пациентов обоего пола в возрасте от 28 до 75 лет в раннем восстановительном периоде церебрального инсульта, разделенных на две группы – основную и контрольную. Средний срок развития сосудистой катастрофы составил $2,45 \pm 0,25$ мес. В основную группу вошли 15 больных (12 мужчин и 3 женщины), средний возраст которых составил $55,53 \pm 2,87$ лет. Нарушение мозгового кровообращения было верифицировано данными спиральной компьютерной томографии (СКТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга в бассейне левой средней мозговой артерии у 7 пациентов (47%), в бассейне правой средней мозговой артерии у 6 пациентов (40%), и у двух – в вертебро-базиллярном бассейне (13%). Пациенты данной группы в комплексном восстановительном лечении получали курсы функциональной программируемой электростимуляции (ФПЭС) аппаратом «АКорД» («Мультимиостим»), динамической проприокоррекции (ДПК) с использованием рефлекторно-нагрузочного устройства «Гравистат» и специальные комплексы лечебной физкультуры (ЛФК).

Контрольную группу составили 15 человек (11 мужчин и 4 женщины), средний возраст $54,6 \pm 3,78$, получавших курсы специальной ЛФК с элементами методологии «Баланс-терапия». В этой группе инсульт в бассейне левой СМА был визуализирован у 6 больных (40%), правой – у 7 пациентов (47%) и в ВББ – у 2 (13%).

Критериями исключения из исследования являлись выраженные когнитивные и психические нарушения, препятствующие проведению реабилитационных мероприятий; тяжелая декомпенсированная соматическая патология (сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночно-почечная недостаточности); грубая ортопедическая патология.

Всем пациентам, включенным в программу, проводился неврологический осмотр с использованием 6-балльной шкалы оценки мышечной силы (Белова А.Н., 2000; Braddom R., 1996), КТ и/или МРТ-исследование головного мозга; ультразвуковая доплерография (УЗДГ) магистральных сосудов. Обследования проводились дважды: при включении в исследование и на 14-й день от начала лечения.

Для исследования КЖ использовался опросник SF-36, содержащий 36 пунктов, сгруппированных в восемь шкал: общее состояние здоровья, физическое функционирование, влияние физического состояния на ролевое функционирование, влияние эмоционального состояния на ролевое функционирование, социальное функционирование, интенсивность боли, жизнеспособность, самооценка психи-

ческого здоровья [3; 4]. По каждой шкале показатели могут колебаться от 0 до 100 баллов, при этом, чем большее значение показателя, тем выше оценка качества жизни по данной конкретной шкале. Кроме того, количественная оценка качества жизни оценивалась с использованием визуально-аналоговой шкалы (ВАШ).

Нейропсихологическое обследование проводилось с использованием шкалы реактивной (ситуативной) и личностной тревожности Ч.Д. Спилберга–Ю.Л. Ханина [1]; шкалы депрессии Бека [1]. Для оценки когнитивных функций применялась Монреальская когнитивная шкала (MoCA-тест) [6].

Также проводилась методика оценки типов отношения к болезни (ТОБОЛ) (Вассерман Л.И. с соавт., 1987, 2005), позволяющая диагностировать паттерн отношений к самой болезни, к ее лечению, врачам и медперсоналу, родным и близким, окружающим, работе, одиночеству и будущему, а также к своим витальным функциям (самочувствие, настроение, сон, аппетит) [2].

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel, Statistica 6.0. Достоверность различий показателей определялась с помощью критерия Стьюдента, при этом различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе полученных данных обращает на себя внимание резкое снижение исходных данных по всем параметрам, определяющих КЖ по шкале SF-36 у пациентов обеих групп. Особенно низкие значения регистрировались по шкалам физического, ролевого физического и эмоционального функционирования. Динамика показателей КЖ в ходе проведения реабилитационных мероприятий представлена на рис. 1. Увеличение значений показателей соответствует улучшению качества жизни по отдельным критериям.

На 14-й день с момента начала восстановительной терапии положительная динамика наблюдалась в обеих группах. Однако у пациентов основной группы отмечалось достоверное улучшение показателей качества жизни по всем шкалам, определяющим физический и психологический компоненты здоровья. Наиболее демонстративными показателями, превысившими 60-балльный рубеж, оказались значения по шкалам – «общее здоровье» ($63,67 \pm 2,69$, $p < 0,05$), «жизнеспособность» ($61 \pm 2,68$, $p < 0,05$), «социальное функционирование» ($66,73 \pm 5,1$, $p < 0,05$) и «психическое здоровье» ($71,73 \pm 2,96$, $p < 0,05$). Тогда как у пациентов контрольной группы лишь по шкалам «общее и психическое здоровье» показатели достигли уровня $55,5 \pm 2,41$ и $57 \pm 6,71$, $p < 0,05$ соответственно. По остальным критериям значения не превышали 50 баллов.

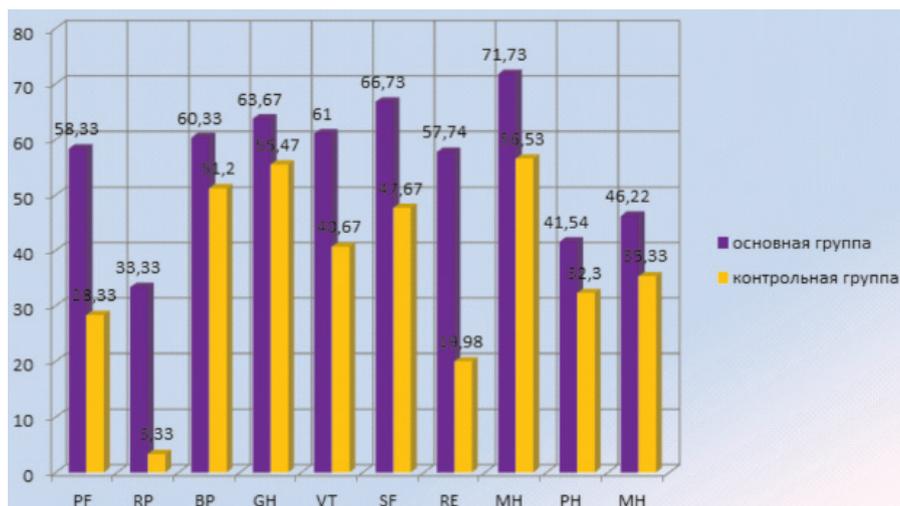


Рис. 1. Результаты исследования качества жизни пациентов в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта по методике SF-36 после лечения. Примечание: PF – физическое функционирование; RP – ролевое физическое функционирование; BP – боль; GH – общее здоровье; VT – жизнеспособность; SF – социальное функционирование; RE – ролевое эмоциональное функционирование; MH – психическое здоровье; PH – физический компонент здоровья (PF, RP, BP, GH); MH – психологический компонент здоровья (VT, SF, RE; MH)

Таким образом, у пациентов, получавших в комплексном восстановительном лечении курсы ФПЭС аппаратом «АКорД» («Мультимиостим»), ДПК с использованием устройства «Гравистат» и специальные комплексы ЛФК, отмечается более заметное улучшение показателей КЖ. Лишь по шкале боли показатели во второй группе превышают таковые в основной, что в данной конкретной ситуации расценивается как положительная динамика.

Субъективная количественная оценка качества жизни по визуально-аналоговой шкале перед началом лечения у пациентов основной группы составляла $3,13 \pm 0,37$ баллов. У пациентов контрольной группы соответственно $3,6 \pm 0,25$ баллов. На фоне проводимой терапии больные, получавшие

лишь курсы специальной ЛФК с элементами методологии «Баланс-терапии», свое качество жизни оценили в $5,3 \pm 0,4$ балла, что оказалось значимо ниже оценки, данной пациентами основной группы, которая составила $7,13 \pm 0,72$. Данный показатель по шкале ВАШ тесно коррелировал со шкалой физического функционирования в обеих группах ($r_1 = 0,64$ и $r_2 = 0,97$ соответственно). Несколько меньшая корреляция в основной группе была прослежена в отношении шкал ролевого эмоционального функционирования ($r = 0,52$) и физического компонента здоровья ($r = 0,57$). Что касается корреляционной зависимости в контрольной группе – она также была выявлена в отношении физического компонента здоровья ($r = 0,74$) и жизнеспособности ($r = 0,53$).

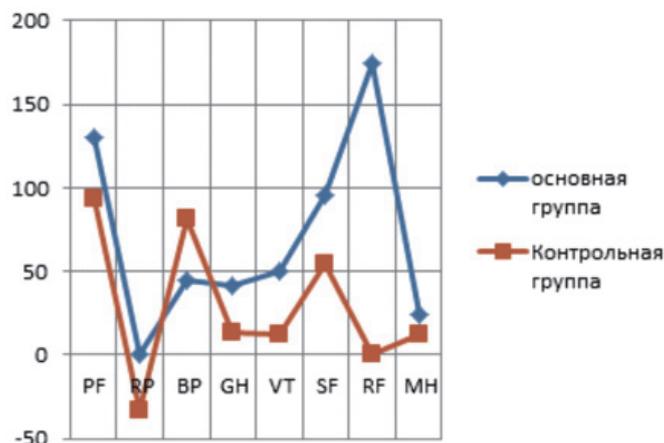


Рис. 2. Динамика прироста показателей КЖ в процессе лечения

У пациентов обеих групп до проведения реабилитационных мероприятий наблюдались расстройства в эмоционально-волевой сфере, проявляющиеся высокой тревожностью и депрессией. Причем исходный уровень данных расстройств в обеих группах был сопоставим. По опроснику Спилбергера–Ханина в большинстве случаев регистрировалась высокая ситуативная (у 67% больных) и личностная (60% случаев) тревожность. Средние значения показателей ситуативной тревожности у пациентов основной группы составили $46,93 \pm 2,07$, в контрольной группе – $47,733 \pm 1,13$; а личностной тревожности в основной и контрольной группах $46,4 \pm 1,87$ и $48,67 \pm 1,14$ соответственно. У 4-х больных (27%) в обеих группах по результатам опросника Бека были выявлены признаки легкой депрессии, средний балл которой в основной группе составил $6,93 \pm 0,86$, а в контрольной – $6,86 \pm 0,72$.

После окончания курсового лечения у пациентов основной группы отмечалось значительное улучшение психо-эмоционального состояния, проявляющееся улучшением общего фона настроения, положительными эмоциями и снижением уровня тревожности и депрессии, что коррелирует с возросшими показателями физического и психологического компонентов здоровья по шкале SF-36. У пациентов основной группы средние значения ситуативной и личностной тревожности снизились до $36,4 \pm 1,95$ и $41,73 \pm 1,81$ баллов соответственно. В контрольной группе в процессе реабилитации, представленной курсами специальной ЛФК, эти показатели составили лишь $44,33 \pm 1,05$ и $44,07 \pm 1,66$ балла соответственно. Ни у одного больного из основной группы депрессии в результате проведенных реабилитационных мероприятий выявлено не было, тогда как у 2 человек (13%) контрольной группы по-прежнему сохранялись признаки легкой депрессии.

К концу лечения общий балл оценки когнитивных функций по монреальской шкале возрос с $25,67 \pm 0,29$ до $28,53 \pm 0,31$ (при норме 26 баллов и выше) в основной группе и с $25,73 \pm 0,38$ до $26,13 \pm 0,31$ – в контрольной группе ($p < 0,05$). При детальном анализе данных МоСА-теста обращает на себя внимание значительное улучшение показателей ассоциативного мышления, заключающееся в увеличении количества приводимых пациентом ассоциаций (существительных) за 1 минуту в основной группе до $13,67 \pm 0,47$ слов (при инициальных показателях $9,53 \pm 0,4$). Тогда как больные контрольной группы после окончания курса лечения могли назвать до $10,47 \pm 0,41$ слов.

Кроме того, показатели памяти, внимания, концептуализации в основной группе оказались значимо выше таковых в контрольной группе. Так при задании на запоминание и отсроченное воспроизведение 5 слов на 14-й день проводимых реабилитационных мероприятий пациенты основной группы называли все слова в 100% случаев, а количество слов, воспроизведенных больными контрольной группы, составило $4,07 \pm 0,21$ ($p < 0,05$). Исходные показатели в обеих группах были сопоставимы ($3,86 \pm 0,19$ – в основной и $3,8 \pm 0,2$ – в контрольной).

Исследуя картину болезни по методике ТООБЛ, до лечения в основной группе в преобладающем большинстве были выявлены тревожный (15%), неврастенический (21%) и эргопатический (21%) типы реагирования на болезнь. В контрольной группе – тревожный (19%), неврастенический (12,5%), ипохондрический (19%), эргопатический (6%) типы соответственно. После завершения проводимых реабилитационных мероприятий в основной группе у 22% больных устанавливался гармоничный тип отношения к болезни и в 39% случаев – эргопатический тип. В то время как в контрольной группе преобладающими вариантами реагирования пациентов на болезнь и лечение явились: тревожный (38%) и анозогностический (19%) типы, эргопатический тип был диагностирован у 14% больных (рис. 3).

Таким образом, у пациентов основной группы в процессе комплексной реабилитации отмечено преобладание высокоадаптивных форм психологического реагирования на саму болезнь и лечебный процесс, проявляющихся активным стремлением больного преодолеть болезнь и вернуться на прежний уровень социальной активности, что в свою очередь является залогом успешной реабилитации. Тогда как в контрольной группе диагностированы преимущественно низкоадаптивные формы, свидетельствующие о тотальном снижении адаптационного потенциала вследствие сочетания интра- и интерпсихических мишеней, снижающих реабилитационный потенциал и отрицательно сказывающихся на качестве жизни в целом.

Заключение и выводы

После проведенного курса комплексной восстановительной терапии у больных основной группы улучшения регистрировались во всех сферах, определяющих качество жизни, включая когнитивную функцию, эмоционально-личностную сферу, устанавливались высокоадаптивные формы отношения к болезни. По данным катамнеза,

было установлено, что 64% пациентов основной группы из числа работающих до развития инсульта вернулись к профессии в прежней занимаемой должности. Тогда как всего 1 человек из контрольной группы смог вернуться к труду. Таким образом, становится очевидным, что оценка КЖ скла-

дывается из ряда критериев, определяющих в итоге независимость в повседневной жизни и возвращение в социально-полезную среду общества. Оценка данных параметров и их динамика должна являться основополагающей в верификации эффективности проводимых мероприятий.

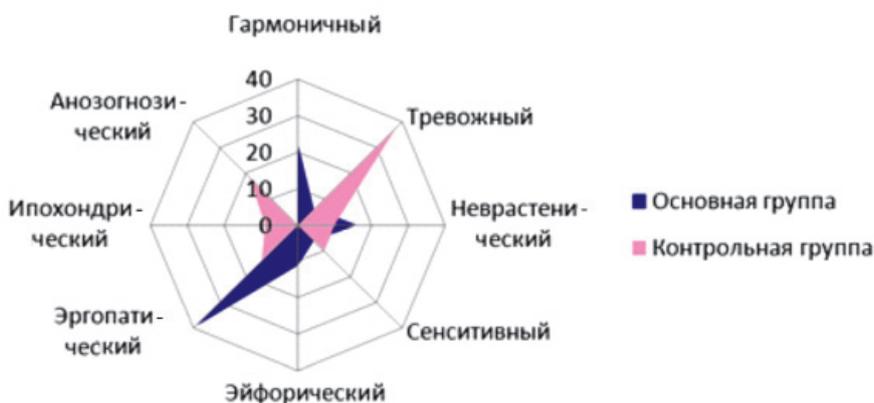


Рис. 3. Распределение больных после восстановительного лечения по типу отношения к болезни и лечению – % от общего числа обследованных в каждой группе (n = 15)

Список литературы

1. Белова, А.Н. Шкалы, тесты и опросники в неврологии и нейрохирургии. – Руководство для врачей. – М.: Медкнига, 2004. – 456 с.
2. Вассерман Л.И. Методика для психологической диагностики типов отношения к болезни: методические рекомендации / Л.И. Вассерман, В.В. Иовлев, Э.Б. Карпова, А.Я. Вукс. – СПб.: 2001. – 33 с.
3. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. 2-е издание / под ред. акад. РАМН Ю.Л. Шевченко. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2007. – 314 с.
4. Ассоциация терапевтов Иркутской области [Электронный ресурс] // Оценка качества жизни: опросник SF-36. – URL: <http://atio-irk.ru/oprosnik-sf-36.html> (дата обращения: 20.01.2013).
5. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009–2010) / Л.В. Стаховская и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – № 5. – С. 4–10.
6. Лечение недементных когнитивных нарушений у пациентов с артериальной гипертензией и церебральным атеросклерозом (По данным российского мультицентрового исследования «ФУЭТЕ») / Н.Н. Яхно и др. // Неврологический журнал. – 2012. – № 4. – С. 49–55.
7. Bruno A.A. Motor recovery in stroke. In: Physical Medicine and Rehabilitation. M.J. Klein et al. Medicine 2002.
8. De Hart M., Geurts A.C., Huijdekoper S.C. et al. Recovery of standing balance in postacute stroke patients: a rehabilitation cohort study. Arch Phys Med Rehabil 2004; 85: 6: 886–895.
9. Hackett M.L., Duncan J.R., Anderson C.S. et al. Health-related quality of life among longterm survivors of stroke: results from the Auckland Stroke Study. Stroke 2000; 31: 440–447.

References

1. Belova, A.N. Shkaly, testy i oprosniki v nevrologii i neyroxirurgii. Rukovodstvo dlya vrachej. M: Medkniga, 2004. 456 p.
2. Vasserman L.I. Metodika dlya psixologicheskoj diagnostiki tipovotno sheniya k bolezni: Metodicheskie rekomendacii /

Vasserman L.I., Iovlev V.V., Karpova E'.B., VuksA.Ya. SPb.: 2001. 33 p.

3. Novik A.A., Ionova T.I. Rukovodstvo po issledovaniyu kachestva zhizni v medicine. 2-e izdanie / Pod red.akad. RAMN Yu.L. Shevchenko. M.: OLMA Media Grupp, 2007. 314 p.

4. Associaciya terapevtov Irkutskoj oblasti [E'lektronnyj resurs] // Ocenkakachestvazhizni: oprosnik SF-36. URL: <http://atio-irk.ru/oprosnik-sf-36.html> (data obrashneniya: 20.01.2013).

5. Staxovskaya L.V. [i dr.] E'pidemiologiya insul'ta v Rossii po rezul'tatam territorial'no-populyacionnogo registra (2009–2010) // Zhurnalnevrologii i psixiatrii. S.S. Korsakova. 2013. no. 5. pp. 4–10.

6. Yaxno N.N. [i dr.] Lechenie nedementnyx kognitivnyx narushenij u pacientov s arterial'noj gipertenziej i cerebral'nyx aterosklerozom (Po dannym rossijskogo mul'ticentrovogo issledovaniya «FUE'TE») // Nevrologicheskij zhurnal. 2012. no. 4. pp. 49–55.

7. Bruno A.A. Motor recovery in stroke. In: Physical Medicine and Rehabilitation. M.J. Klein et al. Medicine 2002.

8. De Hart M., Geurts A.C., Huijdekoper S.C. et al. Recovery of standing balance in postacute stroke patients: a rehabilitation cohort study. Arch Phys Med Rehabil 2004; 85: 6: 886–895.

9. Hackett M.L., Duncan J.R., Anderson C.S. et al. Health-related quality of life among longterm survivors of stroke: results from the Auckland Stroke Study. Stroke 2000; 31: 440–447.

Рецензенты:

Балязин В.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нервных болезней и нейрохирургии, ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;

Мартиросян В.В., д.м.н., профессор кафедры нервных болезней и нейрохирургии, ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.89-008.444.9(577.19):613.95

УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА И АДРЕНОКОРТИКОТРОПНОГО ГОРМОНА У ЛИЦ С КРИМИНАЛЬНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ

¹Тошчакова В.А., ¹Вялова Н.М., ¹Бойко А.С., ²Гусев С.И., ^{1,3}Иванова С.А., ¹Бохан Н.А.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья»

Сибирского отделения РАМН, Томск, e-mail: valia_as@mail.ru;

²ФГБОУ «Кемеровский государственный университет культуры и искусств»,

Кемерово, e-mail: guss59@mail.ru;

³ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск

В основе криминального поведения лежит такое сложное явление, как агрессия. Одно из многообещающих направлений в изучении биологических механизмов агрессии – изучение роли гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и конечного ее агента – кортизола. В данной работе было проведено исследование уровня гормонов кортизола и аденокортикотропного гормона у лиц с криминальным поведением. Всего было обследовано 117 мужчин, совершивших убийство, и 77 мужчин, совершивших кражи, все они отбывали наказание в пенитенциарном учреждении. В контрольную группу вошли 37 психически и соматически здоровых мужчин той же возрастной категории. Уровень гормонов в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. У лиц с криминальным поведением выявлено повышение уровня кортизола по сравнению с контрольной группой. Различий в уровне аденокортикотропного гормона по сравнению с контролем и между двумя группами осужденных выявлено не было.

Ключевые слова: криминальное поведение, кортизол, аденокортикотропный гормон

CORTISOL AND ADRENOCORTICOTROPIC HORMONE LEVEL IN MALE CRIMINALS

¹Toshchakova V.A., ¹Vyalova N.M., ¹Boyko A.S., ²Gusev S.I., ^{1,3}Ivanova S.A., ¹Bokhan N.A.

¹Institution of Russian Academy of Medical Sciences Mental Health Research

Institute of Siberian Branch of RAMSc, Tomsk, e-mail: valia_as@mail.ru;

²Federal State educational institution higher education «Kemerovo State University

of Culture and Arts», Kemerovo, e-mail: guss59@mail.ru;

³National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk

Aggression is known to be underlying phenomenon of criminal behavior. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis seems to play a major role in the development, elicitation, and enhancement of aggressive behavior in both humans and animals. In this article the results of serum levels of cortisol and adrenocorticotrophic hormone study in male criminals are represented. In total 194 male criminals were tested, including 117 murderers and 77 males convicted of theft. Control group consisted of 37 healthy volunteers. Serum level of hormones was evaluated using ELISA method. Parametric and nonparametric tests were applied for statistical analysis. Results show that criminals have higher concentration of serum cortisol in comparison with control group. No differences in adrenocorticotrophic hormone level were found.

Keywords: criminal behavior, cortisol, adrenocorticotrophic hormone

Феномен агрессии является неотъемлемой частью человеческой психики и имеет свои эволюционные предпосылки. Значение агрессии в животном мире, да и в человеческом, трудно переоценить, однако помимо положительных аспектов, агрессивность может приобретать уродливые, губительные для вида формы. У человека внутривидовая агрессия является биологической основой криминального поведения и преступности [11].

Биологические механизмы агрессивного поведения связывают зачастую с нарушением нейротрансмиссии биогенных аминов и гормональной дисрегуляцией [2, 3]. Одно из многообещающих направлений – изучение роли гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и конечного ее агента – кортизола. Современные исследования свидетельствуют, что ГГНС играет ключевую роль в формировании и усиле-

нии агрессивного поведения у грызунов. На агрессивность влияет как базальный уровень кортизола, так и ситуационный, кроме того, существует позитивная обратная связь – при активации ГГНС усиливается агрессивное поведение, что ведет к дальнейшей активации ГГНС [9].

Несколько работ посвящены изучению роли этой системы в агрессии человека. Так, например, в эксперименте с участием здоровых волонтеров при моделировании агрессивного поведения в лабораторный условиях уровень повышения кортизола после выполнения задания коррелировал с уровнем агрессивности во время выполнения задания. Эти отличия были особенно явными у субъектов, характеризующихся более высокой агрессивностью как чертой характера [7]. Однако эти результаты оказались не всегда воспроизводимы [5].

Исследования базального уровня кортизола довольно противоречивы – часть исследователей выявили обратную взаимосвязь между уровнем кортизола и агрессией [10, 11], часть – прямую взаимосвязь либо не выявили никакой взаимосвязи [14]. Интересно, что большая часть этих работ выполнена на детях и только несколько посвящено изучению связи ГГНС с агрессией у взрослых. Bohnke et al. исследовали взрослых здоровых волонтеров, экспериментально провоцируя агрессию. Они показали, что пониженный базальный уровень кортизола связан с агрессией, в то время как уровень кортизола сразу после акта провокации оказался значительно повышенным [6].

Существует несколько типов классификации агрессии, и среди современных исследователей существует мнение, что разные ее типы могут регулироваться различными механизмами. Так, например, Lopez-Duran et al. показали, что гиперреактивность ГГНС связана с реактивным типом агрессии у детей и не связана с проактивной агрессией [10]. По классификации Басса различные типы преступлений также имеют в основе различные типы агрессии: убийство – это прямая физическая агрессия, в то время как кража – косвенная агрессия. Таким образом, целью данного исследования стало определение базального уровня кортизола и адренортикотропного гормона у лиц, совершивших различные типы преступлений – убийства и кражи – по сравнению с контрольной группой.

Уровень кортизола и АКТГ в сыворотке крови лиц с криминальным поведением

	Лица, осужденные за убийство, $n = 117$	Лица, осужденные за кражи, $n = 77$	Психически и соматически здоровые лица, $n = 37$	p , критерий Крускала-Уоллиса	p , критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони
Кортизол, нмоль/л	$863,5 \pm 21,9$	$793,7 \pm 38,7$	469 ± 33	0,000	$P_{1-2} = 0,122$ $p_{1-3} = 0,000$ $p_{2-3} = 0,000$
АКТГ, пг/мл	$20,1 \pm 1,6$	$19,2 \pm 2,2$	$22,5 \pm 3$	0,16	

В результате обработки полученных результатов не удалось выявить различий в уровне кортизола и АКТГ между группами лиц, совершившими убийства или кражи, однако выявлено повышение кортизола на уровне тенденции у лиц, совершивших убийства по сравнению с лицами, совершившими кражи. Данное разделение на группы лиц, совершивших убийство (прямая, физическая агрессия), и совершивших кражи (косвенная, непрямая агрессия) было сделано в связи с присутствующим в научной литературе мнением, что в основе

Материалы и методы исследования

Всего обследовано 231 человек в возрасте $35 \pm 1,5$ лет. Среди них 194 осужденных мужского пола, отбывающих наказание в исправительной колонии строгого режима, разделенные на 2 группы в зависимости от предполагаемого типа агрессии: 117 человек – осужденные за убийство (физическая, прямая агрессия), 77 человек, осужденные за кражи (косвенная, непрякая агрессия). Все обследуемые правонарушители были ранее неоднократно судимы, т.е. характеризовались устойчивым криминальным поведением. Контрольную группу составили 37 соматически и психически здоровых мужчин. У всех обследуемых лиц брали кровь из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 утра, натощак, в пробирки фирмы BD Vacutainer с активатором свертывания для получения сыворотки. Иммуноферментный анализ концентраций кортизола проводили с помощью наборов «АлкорБио» (Россия), согласно инструкции фирмы – производителя. Определение концентрации АКТГ проводили с помощью набора фирмы DRG (США). Детекция результатов осуществлялась с помощью приборов «Униплан» фирмы Picon, «Epoch», Biotek. Конечные результаты выражали в единицах, рекомендованных фирмой-изготовителем. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ SPSS для Windows, критерии Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни с поправкой Бонферрони для данных, не соответствующих нормальному распределению.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования базального уровня кортизола и АКТГ в сыворотке крови исследуемых лиц представлены в таблице.

различных типов агрессии могут лежать различные биологические механизмы. Однако наши данные не подтвердили данную гипотезу в отношении гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Если разделение агрессии на проактивную («холодную» агрессию, агрессию хищника) и реактивную (возникающую в ответ на стресс) находит подтверждение в биологических исследованиях [10], которые утверждают, что изменение реактивности ГГНС характерно для реактивной агрессии, но не проактивной, то в данном случае все

обследованные лица не характеризовались проактивной агрессией в момент совершения преступления, а скорее реактивной. Такой отбор был сделан на этапе формирования групп исследования с целью создания максимально однородных групп. Большая часть преступлений (в группе осужденных за убийство – 81,4%, в группе осужденных за кражи – 39,3%) была совершена в состоянии алкогольного опьянения, остальные также не были тщательно запланированными актами агрессии. Действительно, многие современные психологи сходятся на том, что склонность индивида к криминальному поведению может быть обусловлена биологическими факторами, которые могут детерминировать тот личностный порог, за которым начинается активация специфических нейрогуморальных реакций, связанных с агрессивным поведением, но вероятность высокоагрессивного деструктивного поведения в форме гомицида определяется в относительно большей мере личностными, социально-сформированными предиспозициями индивида, «детабуированием зла» [1]. Таким образом, наши результаты свидетельствуют, что если ГГНС участвует в регуляции агрессии, то скорее влияет на вероятность и интенсивность запуска механизмов агрессивного поведения, но не определяет характер и форму совершаемого действия.

Согласно таблице, уровень кортизола был значительно повышен у всех обследованных преступников по сравнению с контрольной группой психически и соматически здоровых лиц. Наши результаты противоречат некоторым данным литературы: так, данные исследования жестоких преступников [15] и лиц с антисоциальным расстройством личности [4] свидетельствуют о понижении у них базального уровня кортизола. С другой стороны, Gerга et. al. показали, что молодые люди с более высоким уровнем базального кортизола склонны в экспериментальных условиях проявлять более высокую агрессию [7]. Кроме того, van Bokhoven et. al. обнаружили взаимосвязь повышенного уровня утреннего кортизола с агрессивными чертами у мальчиков с расстройством поведения [14]. Одной из причин такой противоречивости данных может быть различная методология исследований. Так, часть исследователей измеряла базальный уровень кортизола в пробах, полученных утром [13], вечером [7] или без контроля времени взятия крови [12]. Считается, что для оценки конституциональных особенностей реагирования ГГНС лучше оценивать уровень кортизола утром, когда он максимален, тогда как в вечернее время этот показатель более подвержен

действию ситуационных факторов. Более того, в части работ предлагается оценивать уровень кортизола в момент пробуждения, а повторно через определенные промежутки времени [10]. Учитывая личностные особенности обследованных нами лиц, а также нахождение их в пенитенциарных условиях, подобный тип исследования организовать оказалось невозможно, поэтому нами для оценки активности ГГНС использовано также исследование уровня АКТГ. Тот факт, что у обследуемых заключенных при значительно повышенном уровне кортизола не было обнаружено изменение уровня АКТГ может быть результатом, с одной стороны, того, что такой повышенный уровень кортизола вообще характерен для лиц с криминальным поведением, либо, что более вероятно, что данная категория лиц характеризуется более высокореактивной ГГНС. Например, некоторые исследователи считают, что дети с низким базальным уровнем кортизола характеризуются более низким порогом тревожности [8]. Если предположить, что для лиц с криминальным поведением характерен низкий либо нормальный базальный уровень кортизола, однако ГГНС обладает более высокой реактивностью, то тогда массовое взятие крови утром в условиях пенитенциарного учреждения может быть фактором, провоцирующим значительный выброс кортизола, который мы не видим в группе здоровых лиц. Нельзя исключить также тот факт, что полученные в нашем исследовании данные можно было бы объяснить также воздействием условий пенитенциарной системы, пенитенциарного стресса. Однако корреляционный анализ не выявил связи со временем, проведенным в условиях пенитенциарной системы, не было выявлено снижения уровня АКТГ. Кроме того, на момент проведения исследования осужденные за убийство находились в заключении в течение $4,9 \pm 0,4$ лет, осужденные за кражи – $1,95 \pm 0,2$ лет, и, теоретически, должны были перейти на этап адаптации.

Таким образом, в результате анализа полученных данных не удалось выявить различий в функционировании ГГНС между лицами, совершившими различные по типу агрессии (физическая прямая и косвенная) правонарушения, однако выявлены характерные для всей группы осужденных особенности, характеризующие повышенную активность ГГНС по сравнению с психически и соматически здоровыми лицами.

Заключение

Исследование выявило повышение уровня кортизола у лиц с криминальным поведением по сравнению с контрольной

группой и отсутствие различий в уровне АКТГ. Кроме того, не было выявлено статистически достоверных различий в уровне исследуемых гормонов между лицами, совершившими различные по предполагаемому типу агрессии преступления.

Работа выполнена при поддержке гранта РГНФ № 11-06-00550 «Роль психологических и нейроэндокринных факторов в формировании агрессивного паттерна поведения в условиях пенитенциарной системы».

Список литературы

1. Леонтьев Д.А. От социальных ценностей к личностным: социогенез и феноменология ценностной регуляции деятельности (статья первая) // Вестник Моск. ун-та. Сер. 14. Психология. – 1996. – № 4. – С. 35–44.
2. Гаврилова В.А. Нейростероиды дегидроэпиандростерон и его сульфат у лиц с расстройством личности, осужденных за тяжкие насильственные преступления / В.А. Гаврилова, С.А. Иванова, С.И. Гусев, М.В. Трофимова, Н.А. Бохан // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154. – № 7. – С. 100–103.
3. Стояк В.А. Нейромедиаторные системы в регуляции агрессивного поведения (обзор литературы) / В.А. Стояк, С.А. Иванова // Сибирский вестник психиатрии и наркологии – 2010. – № 3. – С. 70–76.
4. Bergman B., Brismar B. Hormone levels and personality traits in abusive and suicidal male alcoholics // Alcohol Clin Exp Res. – 1994. – № 18. – P. 311–316.
5. Berman M. The effects of hormones, Type A behavior pattern, and provocation on aggression in men / M. Berman, B. Gladue, S. Taylor // Motiv Emot. – 1993. – № 17. – P. 125–138.
6. Böhnke R. The relationship between basal and acute HPA axis activity and aggressive behavior in adults / R. Böhnke, K. Bertsch, M.R. Kruk, E. Naumann // J Neural Transm. – 2010. – № 117(5). – P. 629–37.
7. Gerra G. Aggressive responding of male heroin addicts under methadone treatment: psychometric and neuroendocrine correlates / G. Gerra, A. Zaimovic, M. A. Raggi, F. Giusti et al. // Drug Alcohol Depend. – 2001. – № 65. – P. 85–95.
8. Kruesi M. J. Urinary free cortisol output and disruptive behavior in children / M. J. Kruesi, M. E. Schmidt, M. Donnelly, E. D. Hibbs // J American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. – 1989. – № 28(3). – P. 441–443.
9. Kruk M. R. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior / M.R. Kruk, J. Halasz, W. Meelis, J. Haller // Behav Neurosci. – 2004. – № 118 – P. 1062–1070.
10. Lopez-Duran N.L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis functioning in reactive and proactive aggression in children / N.L. Lopez-Duran, S.L. Olson, N.J. Hajal, B.T. Felt et al. // J Abnorm Child Psychol. – 2009. – № 37. – P. 169–182.
11. Maxson S.C. Potential genetic models of aggression and violences in males / S.C. Maxson / P. Driscoll (Ed.) // Genetically Defined Animals Models of Neurobehavioral Dysfunctions. – 1992. – P. 174–188.
12. McBurnett K. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior / K. McBurnett, B.B. Lahey, P.J. Rathouz, R. Loeber // Arch Gen Psychiatry. – 2000. – № 57. – P. 38–43.
13. Pajer K. Decreased cortisol levels in adolescent girls with conduct disorder / K. Pajer, W. Gardner, R.T. Rubin, J. Perel, S. Neal // Arch Gen Psychiatry. – 2001. – № 58. – P. 297–302.
14. van Bokhoven I. Salivary cortisol and aggression in a population-based longitudinal study of adolescent males / I. van Bokhoven, S. H. van Goozen, H. van Engeland, B. Schaal et al. // J Neural Transm. – 2005. – № 112(8). – P. 1083–1096.
15. Virkkunen M. Urinary free cortisol secretion in habitually violent offenders / M. Virkkunen // Acta Psychiatr Scand. – 1985. – № 72. – P. 40–44.

References

1. Leontev D.A. Ot sotsyalnykh tsnnostey k lichnostnym: sotsiogenez i fenomenologiya tsnnostey regulyatsii deyatel'nosti (statya pervaya) / D.A. Leontev // Vestik Moskovskogo un. Ser. 14. Psikhologiya. 1996. no. 4. pp. 35–44.
2. Gavrilova V.A. Neyrosteroidy degidroepiandrosteron i ego sulfat u lits s rasstoystvom lichnosti osujdennykh za tyazkie nasilstvennye prestupleniya / V.A. Gavrilova, S.A. Ivanova, S. I. Gusev, M. V. Trofimova, N. A. Bokhan // Byulleten eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2012. T. 154. no. 7. pp. 100–103.
3. Stoyak V.A. Neyromediatornye sistemy v regulyatsii agresivnogo povedeniya (obzor literatury) / V.A. Stoyak, S.A. Ivanova // Sibirskiy vestnik psikiatrii i narkologii 2010. no. 3. pp. 70–76.
4. Bergman B., Brismar B. Hormone levels and personality traits in abusive and suicidal male alcoholics // Alcohol Clin Exp Res. 1994. no. 18. pp. 311–316.
5. Berman M. The effects of hormones, Type A behavior pattern, and provocation on aggression in men. / M. Berman, B. Gladue, S. Taylor // Motiv Emot. 1993. no. 17. pp. 125–138.
6. Böhnke R. The relationship between basal and acute HPA axis activity and aggressive behavior in adults / R/ Böhnke, K. Bertsch, M.R. Kruk, E. Naumann // J Neural Transm. 2010. no. 117(5). pp. 629–37.
7. Gerra G. Aggressive responding of male heroin addicts under methadone treatment: psychometric and neuroendocrine correlates / G. Gerra, A. Zaimovic, M.A. Raggi, F. Giusti et al. // Drug Alcohol Depend. 2001. no. 65. pp. 85–95.
8. Kruesi M.J. Urinary free cortisol output and disruptive behavior in children / M.J. Kruesi, M.E. Schmidt, M. Donnelly, E.D. Hibbs // J American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. 1989. no. 28(3). pp. 441–443.
9. Kruk M.R. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior / M.R. Kruk, J. Halasz, W. Meelis, J. Haller // Behav Neurosci. 2004. no. 118 pp. 1062–1070.
10. Lopez-Duran N.L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis functioning in reactive and proactive aggression in children / N.L. Lopez-Duran, S.L. Olson, N.J. Hajal, B.T. Felt et al. // J Abnorm Child Psychol. 2009. no. 37. pp. 169–182.
11. Maxson S.C. Potential genetic models of aggression and violences in males / S.C. Maxson / P. Driscoll (Ed.) // Genetically Defined Animals Models of Neurobehavioral Dysfunctions. 1992. pp. 174–188.
12. McBurnett K. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior / K. McBurnett, B.B. Lahey, P.J. Rathouz, R. Loeber // Arch Gen Psychiatry. 2000. no. 57. pp. 38–43.
13. Pajer K. Decreased cortisol levels in adolescent girls with conduct disorder / K. Pajer, W. Gardner, R.T. Rubin, J. Perel, S. Neal // Arch Gen Psychiatry. 2001. no. 58. pp. 297–302.
14. van Bokhoven I. Salivary cortisol and aggression in a population-based longitudinal study of adolescent males / I. van Bokhoven, S. H. van Goozen, H. van Engeland, B. Schaal et al. // J Neural Transm. 2005. no. 112(8). pp. 1083–1096.
15. Virkkunen M. Urinary free cortisol secretion in habitually violent offenders / M. Virkkunen // Acta Psychiatr Scand. 1985. no. 72. pp. 40–44.

Рецензенты:

Невидимова Т.И., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск;

Аксенов М.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой психологии развития личности, ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет», г. Томск.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.314-74

ХРОНИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ ПОЛОСТИ РТА КАК ФАКТОР РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ И НИЗКОГО ВЕСА ПЛОДА

Тригонос Н.Н., Фирсова И.В., Македонова Ю.А., Ергиева С.И.

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград, e-mail: vlgmed@advent.avtig.ru

Статья представляет результаты исследования взаимосвязи стоматологического статуса женщин, родивших на ранних сроках беременности, а также имевших новорожденных с низким весом. Обследовали 67 женщин, 39 из которых родили детей до 37 недель и с достаточно низким весом. Контрольную группу составили 28 условно здоровых лиц сходного возраста, родившие доношенных детей с нормальным весом. При осмотре применялись общепринятые стоматологические методики обследования. Выяснялись жалобы, давность симптомов, выявлялись такие критерии, как распространенность, интенсивность кариеса и его осложнений, заболеваний пародонта. Установлено, что одним из факторов, определяющих риск развития преждевременных родов и низкого веса новорожденных, является очаг хронической инфекции в полости рта у обследованных родильниц.

Ключевые слова: очаг хронической инфекции, преждевременные роды, низкий вес плода, санация полости рта

CHRONIC INFECTIONS OF THE MOUTH AS A FACTOR THE RISK OF PREMATURE BIRTH AND LOW BIRTH WEIGH

Trigolos N.N., Firsova I.V., Makedonova Y.A., Ergieva S.I.

GBOU VPO «Vologograd State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Volgograd, e-mail: vlgmed@advent.avtig.ru

The article presents the results of the relationship of dental status of women who gave birth in the early stages of pregnancy, and also having a low birth weight infants. Examined 67 women, 39 of whom have given birth before 37 weeks and with a fairly low weight. The control group consisted of 28 apparently healthy individuals of similar age who gave birth to full-term babies of normal weight. On examination, the commonly used methods of dental examination. Ascertain the complaints, the duration of symptoms, identified criteria such as the prevalence rate of dental caries and its complications, periodontal disease. Found that one of the factors determining the risk of preterm birth and low birth weight is the focus of chronic infection in the mouth of the surveyed women in childbirth.

Keywords: the outbreak of chronic infection, premature birth, low birth weight, dental health

Низкий вес новорожденного (< 2500 г при рождении) в 40 раз чаще приводит к смерти в неонатальном периоде, чем нормальный вес новорожденного [1, 3, 4]. Хотя около 7% всех новорожденных имеют вес менее чем 2500 г, они составляют две трети всех смертей в неонатальном периоде. У новорожденных с низким весом, которые выживают в неонатальном периоде, существует повышенный риск врожденных аномалий, респираторных заболеваний, неврологических нарушений. Известно, что такие факторы, как курение, алкоголь или прием лекарств во время беременности, гипертензия, возраст матери, диабет, инфекция мочеполовых путей увеличивает риск преждевременных родов и рождения детей с низким весом. Однако в 25% случаев преждевременных родов и новорожденных с низким весом ни один из указанных факторов не выявляется в анамнезе, именно с этим связан поиск других причин [4].

Роль санации полости рта в оздоровлении беременной многогранна и бесспорна. Санация полости рта улучшает стоматоло-

гический статус, устраняет возможность обострения процесса в хронических одонтогенных очагах инфекции, уменьшает риск инфицирования плода и развития дородовых и послеродовых осложнений, благоприятно влияет на антенатальную профилактику стоматологических заболеваний ребенка. Устранение хронических одонтогенных очагов инфекции, которые, безусловно, являются очагами сенсibilизации организма [5, 8], значительно улучшает общее здоровье беременных и способствует устранению опасности экстрагенитальных заболеваний или облегчению их течения, что в конечном счете благоприятно сказывается и на здоровье ребенка.

С современной точки зрения хроническая инфекция полости рта является для врачей предметом повышенного интереса как возможная причина многих соматических заболеваний. В развитие представлений о хронической инфекции полости рта значительный вклад внесли труды отечественных ученых. Так, И.Г. Лукомский доказал, что вследствие длительного течения хронического воспаления в тканях

прикорневой зоны зуба происходят серьезные патофизиологические изменения, приводящие к накоплению токсинов и антигенов, которые изменяют реактивность организма. На сегодняшний день достоверно известно, что все формы хронического пародонтита и периодонтита с разнообразной микрофлорой, сохраняющиеся порой в течение нескольких лет, являются источниками хронического воспаления и сенсибилизации организма, неизменно оказывающими влияние на многие органы и системы. Опасностью возникновения указанных нарушений обусловлена необходимость тщательной санации одонтогенной инфекции, особенно лицам, входящим в группу риска развития соматической патологии и её осложнений: детям, беременным женщинам, лицам преклонного возраста.

Потребность в стоматологической помощи при беременности обусловлена несколькими обстоятельствами [2]:

- необходимостью плановой санации ротовой полости с целью сохранности общего здоровья матери, тем самым создаются наиболее благоприятные условия для развития плода;

- обращаемостью в связи со значительными изменениями в полости рта женщины, характерными для периода беременности и кормления;

- возможностью обострения имевшихся ранее хронических заболеваний в полости рта беременной женщины.

Постоянное раздражение нервных центров, хроническая интоксикация и аллергия организма – вот три основных фактора, обуславливающих развитие осложнений в течение всей беременности на фоне хронического воспаления в полости рта.

В течение нормальной гестации количество амниотического простагландина постоянно повышается, пока не достигается достаточный уровень, который вызывает роды. Инфекция матери может быть причиной увеличения продукции простагландинов до уровня, вызывающего роды до достижения полного созревания плода. Кроме простагландинов, в амниотической жидкости женщин с преждевременными родами содержатся различные провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF). Эндотоксин (липополисахарид) и биологически активные энзимы, продуцируемые микроорганизмами, ассоциируемые со стоматогенными очагами инфекции (верхушечным периодонтитом и пародонтитом), могут не только напрямую повреждать ткани, но и вызывать высво-

бождение провоспалительных цитокинов и простагландинов.

Амниотическая жидкость у женщин с преждевременными родами часто имеет позитивную реакцию на наличие высеваемых микроорганизмов при отсутствии клинической картины. Наиболее часто высеваемым видом микроорганизмов является *Fusobacterium nucleatum* [5], который в основном обнаруживается у больных с хроническим пародонтитом и верхушечным периодонтитом. Немногочисленные публикации о влиянии инфекции полости рта на течение беременности и роды противоречивы и не содержат доказательной базы, что объясняет необходимость проведения данного исследования [6].

Целью нашей работы явилось исследование стоматологического статуса матерей, родивших недоношенных детей и детей с низким весом.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач было проведено обследование 67 женщин в возрасте от 18 до 41 года, находившихся в перинатальном отделении в послеродовом периоде. Выбор данной возрастной группы продиктован закономерностью и особенностью функционирования репаративной системы у здоровых людей.

Из них 39 женщин со сроком беременности до 37 недель и низким весом рожденных младенцев (< 2500 г) составили основную группу (группа I). В контрольную группу (группа II) вошли 28 женщин, у которых родились доношенные дети с нормальным весом. Для постановки того или иного диагноза всем родильницам было проведено клиническое обследование с использованием общепринятых стоматологических методов. Для постановки диагноза, связанного с заболеваниями пародонта, определялся папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА) по Parma, характеризующий распространенность заболеваний пародонта, наличие воспаления в пародонте и пародонтальный индекс (ПИ) по Russell.

При сборе анамнеза выявляли характер течения и давность заболевания. При осмотре полости рта визуально оценивали состояние слизистой оболочки.

Также применяли оценочные критерии: распространенность и интенсивность кариеса зубов (индекс КПУ), состояние гигиены полости рта ИГ (ОНИ-S).

При обследовании родильниц на каждую заполняли «Амбулаторную карту стоматологического больного», в которой отмечали зубы, пораженные кариесом, запломбированные, удаленные и заведомо подлежащие удалению. Кариес диагностировали при выявлении в твердых тканях зуба дефекта, обнаруживаемого острым зондом. Для оценки поражаемости кариесом вычисляли показатели распространенности кариеса (в %) и его интенсивности (по индексу КПУ). В каждой возрастной группе определяли структуру КПУ, т.е. среднее число кариозных – «К», пломбированных – «П» и удаленных – «У» зубов. Кроме того, выделяли зубы, подлежащие удалению в первую очередь.

Результаты исследования и их обсуждение

В возрастном аспекте у рожениц основной и контрольной групп не выявлено значительных отличий, за исключением группы от 20 до 24 лет, которых в контрольной группе было больше на 16,7%, чем в основной. Причем число сельских и городских жителей среди рожениц практически не отличалось (контрольная группа: 14 человек в городе, 14 человек – в сельской местности; основная группа – 18 человек в городе и 21 человек – в селе).

В результате обследования выявлена высокая распространенность кариеса как в основной, так и в контрольной группе, составила 97,43 и 100% соответственно.

Интенсивность кариеса зубов составила 9,7 в контрольной группе и 11,2 – в основной. В структуре КПУ достоверных отличий не выявлено. Пломбированных зубов в контрольной группе было больше, чем в основной (6,25 и 4,21 соответственно). Количество женщин, нуждающихся в лечении зубов в группе рожениц с преждевременными родами, было в 5 раз выше (39,5%) по сравнению с женщинами, родившими в срок (7,14%). Количество санированных женщин в основной группе было в два раза меньше, чем в контрольной (13,15 и 27,6% соответственно). Кроме того, гигиеническое состояние полости рта у рожениц контрольной группы было лучше (ГИ = 2,3) по сравнению с роженицами основной группы (ГИ = 4,3).

Также хочется отметить и достаточно высокую распространенность заболеваний пародонта. Наличие признаков воспаления пародонта (индекс РМА) выявлено в обеих группах – 44,2 и 42,1% соответственно. Среди женщин, родивших доношенных детей с нормальным весом, на 13,7% было больше лиц со здоровым пародонтом. У женщин, родивших недоношенных детей с гипотрофией, чаще выявлялись клинические проявления патологии тканей пародонта, чем у рожениц контрольной группы. Так, в I группе признаки гингивита отмечались в 10 случаях (25,6%); пародонтальные карманы глубиной до 3,5 мм у 13 человек (33,3%); более 3,5 мм – у 6 женщин (10,3%), у 10 человек (25,6%) не выявлены признаки заболеваний пародонта. Во II группе распространенность заболеваний пародонта у рожениц выглядела следующим образом: отсутствие признаков воспаления пародонта отмечено у 11 человек (39,3%); симптомы гингивита выявлены у 10 рожениц (35,7%); пародонтальные карманы глубиной до 3,5 мм у 6 человек (21,4%) и более 3,5 мм в 1 случае (3,6%) соответственно.

донтальные карманы глубиной до 3,5 мм у 6 человек (21,4%) и более 3,5 мм в 1 случае (3,6%) соответственно.

Выводы

1. Стоматологическое обследование выявило высокую распространенность (100%) и интенсивность стоматологических заболеваний среди обследованных женщин вне зависимости от сроков беременности и веса новорожденных.

2. Нуждаемость в санации полости рта рожениц в группе с преждевременными родами и гипотрофией плода в 5 раз выше, чем у женщин, родивших в нормальные сроки и имевших доношенных детей.

3. Среди женщин, родивших доношенных детей с нормальным весом, на 13,7% было больше лиц со здоровым пародонтом.

Наличие в полости рта беременных хронических очагов инфекции, не может не отразиться на их и здоровье будущего потомства. В связи с изложенным хотелось бы отметить, что дальнейшее совершенствование организации санации полости рта у беременных должно определяться решением следующих вопросов:

- выяснение причин, вызывающих отказ от санации полости рта;

- оценка психоэмоционального состояния беременной и его учет при составлении плана санации полости рта и выборе обезболивания при стоматологических вмешательствах;

- активное привлечение акушеров-гинекологов к психоэмоциональной подготовке беременных перед стоматологическим вмешательством и своевременному их направлению на лечение к стоматологу.

Таким образом, стоматогенный очаг хронической инфекции является одним из факторов риска преждевременных родов и низкого веса новорожденных. Необходимость дальнейших исследований в данном направлении позволит создать доказательную базу для разработки и внедрения просветительных программ для женщин в плане подготовки к зачатию, санация очагов инфекции полости рта до беременности, поддержание стоматологического здоровья во время беременности.

Список литературы

1. Тригolos Н.Н. Высокий риск преждевременных родов и рождения ребенка с низким весом у женщин с заболеваниями пародонта // Актуальные вопросы экспериментальной, клинической и профилактической стоматологии. – Т. 66. – Волгоград, 2009. – С. 250–257.

2. Фирсова И.В., Михальченко В.Ф. Теоретические и практические аспекты комплаентности в практике стоматологии. – Волгоград, 2008. – 3 п.л. – 131 с.

3. Организация и особенности оказания стоматологической помощи беременным женщинам // Е.Е. Маслак, В.В. Шкарин, Т.Г. Хмызова, Н.Н. Тригolos. – Волгоград, 2010. – 135 с.

4. Newman M.G., Takei H.H., Klokkevold P.R. Carranza's Clinical Periodontology, tenth edition. 2006. – P. 1286.

5. Hill GB: Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora, Ann Periodontal 3:222, 1998.

6. Vitool Lohsoonthorn, Kajorn Kungsadalpipob, et al. Is Maternal Periodontal Disease a Risk Factor for Preterm Delivery // J Dent Educ. – 2009. – Vol.1, № 73. – P. 38–52.

References

1. Trigolos N.N. Vysokij risk prezhdvremennyh rodov i rozhdenija rebenka s nizkim vesom u zhenshhin s zabolevanijami parodonta. Aktual'nye voprosy jeksperimental'noj, klinicheskoj i profilakticheskoj stomatologii. T. 66. Volgograd, 2009. pp. 250–257.

2. Firsova I.V., Mihal'chenko V.F. Teoreticheskie i prakticheskie aspekty komplentnosti v praktike stomatologii. Volgograd, 2008, 3 pp. l. 131 p.

3. Organizacija i osobennosti okazanija stomatologicheskoj pomoshhi beremennym zhenshhinam. Maslak E.E., Shkarin V.V., Hmyzova T.G., Trigolos N.N. Volgograd, 2010. 135 p.

4. Newman M.G., Takei H.H., Klokkevold P.R. Carranza's Clinical Periodontology, tenth edition. 2006. pp. 1286.

5. Hill GB: Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora, Ann Periodontal 3:222, 1998.

6. Vitool Lohsoonthorn, Kajorn Kungsadalpipob, et al. Is Maternal Periodontal Disease a Risk Factor for Preterm Delivery. J Dent Educ, 2009. Vol.1 no. 73. pp. 38–52.

Рецензенты:

Михальченко В.Ф., д.м.н., профессор кафедры терапевтической стоматологии, главный стоматолог Комитета по здравоохранению Администрации Волгоградской области, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград;

Шемонаев В.И., д.м.н., заведующий кафедрой ортопедической стоматологии, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК [616.712/.713:616.717]-001-08-035(045)

ВЫБОР ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННЫМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ ГРУДИ И СЕГМЕНТОВ КОНЕЧНОСТЕЙ

^{1,3}Хмара А.Д., ^{1,2}Норкин И.А., ¹Хмара Т.Г.

¹ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России»,
Саратов, e-mail: premdania@yandex.ru;

²ФГБУ СарНИИТО Минздрава России, Саратов;

³ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, e-mail: premdania@yandex.ru.

В данной статье представлен выбор лечебной тактики, учитывающий количественную оценку тяжести состояния пострадавших с сочетанными повреждениями груди и сегментов конечностей, основанный на подсчете значения S по формуле, в которой используются линейная скорость кровотока на трансдиафрагмальном участке нижней полой вены (НПВ), диаметр НПВ под диафрагмой; жизненная емкость легких, пиковая скорость выдоха и индекс Тиффно. Согласно полученным данным, значения $S < 100$ соответствуют состоянию компенсации организма, следовательно, после дренирования плевральной полости может выполняться остеосинтез. При значениях $S > 100$ имеет место декомпенсация и велика вероятность возникновения внутриплевральных осложнений, поэтому данной категории больных после санации плевральной полости в обязательном порядке необходимо выполнять повторные спирографию и дуплексное исследование кровотока в НПВ после удаления дренажа. Если при этом значения S оцениваются менее 100, то можно выполнять остеосинтез; если S остается более 100, то показаны динамическое наблюдение за пациентом, а также активное проведение лечебных мероприятий, направленных на устранение внутриплевральных осложнений. В последующем выполняется остеосинтез в отсроченном периоде. Таким образом, выбор оптимальной лечебной тактики у больных с сочетанными повреждениями груди и сегментов конечностей, основанный на предложенном нами количественном определении тяжести состояния пострадавших, позволил сократить сроки пребывания пациентов в стационаре до 8–16 дней и избежать различных осложнений как со стороны органов грудной клетки, так и со стороны опорно-двигательного аппарата.

Ключевые слова: сочетанная травма, повреждения груди, тяжесть состояния больного

SELECT TREATMENT POLICY IN PATIENTS WITH COMBINED CHEST INJURIES AND LIMB SEGMENTS

^{1,3}Hmara A.D., ^{1,2}Norkin I.A., ¹Hmara T.G.

¹Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: premdania@yandex.ru;

²SarNIITO Ministry of Health of Russia, Saratov;

³Regional Hospital, Saratov, e-mail: premdania@yandex.ru

This article presents a selection of treatment strategy that takes into account the quantitative assessment of the severity of the patients with associated injuries chest and limb segments, based on the calculation of the values of S by a formula that uses the linear velocity of blood flow to the transdiaphragmal portion of the inferior vena cava (IVC), the diameter of IVC below the diaphragm, vital capacity, peak expiratory flow rate and index Tiffno. According to the study, the values of $S < 100$ correspond to the state compensation body, therefore, after draining the pleural cavity can be performed osteosynthesis. For values of $S > 100$ decompensation occurs and the probability of occurrence of intrapleural complications, so these patients after rehabilitation of the pleural cavity it is imperative to make repeated spirometry and duplex study of blood flow in the IVC after removing drainage. If the estimated value of S is less than 100, it is possible to perform osteosynthesis, if S is more than 100, showing the dynamic monitoring of the patient, as well as an active treatment measures aimed at eliminating the intrapleural complications. In the subsequent fixation is performed in a delayed period. Thus, the selection of the optimal treatment strategy in patients with combined injuries of the chest and limb segments, based on the proposed us quantify the severity of the victims, has reduced the length of stay of patients in hospital and up to 8–16 days to avoid various complications, such as from the side of the chest, and from the musculoskeletal system.

Keywords: combined injuries, chest injuries, severity of the patient

Сочетанные повреждения грудной клетки и сегментов конечностей составляют до 44,5% от всех повреждений опорно-двигательной системы [9]. Их характеризует тяжесть клинического течения, в большинстве случаев необходимость проведения экстренных неотложных мероприятий, направленных на компенсацию основных функций дыхательной системы и комбинированного лечения, сомнительный трудовой прогноз, длительная потеря трудоспособности и др. [2].

На современном этапе развития медицины можно выделить два основных подхода к выбору тактики лечения больных с указанными видами травмы: одновременное или последовательное выполнение хирургических пособий на грудной клетке и поврежденных сегментах конечностей. Большинство специалистов как в России, так и за рубежом отдают предпочтение последней тактике. Однако, купируя осложнения травмы грудной клетки (пневмоторакс, гемоторакс), хирурги «провоцируют»

развитие осложнений со стороны переломов костей конечностей аппарата: незавершенной репозиции, замедленной консолидации, формирование псевдоартроза и др. [5, 11–13].

На наш взгляд, избежать различного рода осложнений в лечении больных с данным видом травмы можно за счет сокращения временного промежутка между этапами хирургического лечения, а в некоторых случаях – объединения их на этапе первичного обращения в стационар. Однако не у всех пострадавших возможно проведение раннего остеосинтеза, так как основным критерием является тяжесть состояния пациента [5, 12, 13].

Цель исследования: определить критерии оценки тяжести состояния пострадавших с сочетанными повреждениями груди и сегментов конечностей.

$$S = 9,067x_1 + 4,837x_2 + 1,97x_3 - 1,08x_4 - 2,97x_5 - 83,04,$$

где S – балл тяжести состояния пациента (относительная величина); x_1 – диаметр нижней полой вены в поддиафрагмальном сегменте (мм); x_2 – скорость кровотока в НПВ под диафрагмой, выявленная при доплерографии (см/с); x_3 – жизненная емкость легких, определенная при спирографии (% от нормальных значений); x_4 – индекс Тиффно (% от нормальных значений); x_5 – пиковая скорость выдоха (% от нормальных значений); коэффициент, равный 83,04, является величиной постоянной, необходимой для получения оптимального прогноза. Установлено, что влияние вышеперечисленных признаков на тяжесть состояния пострадавшего очень высокое.

Результаты исследования и их обсуждение

Были обследованы 78 человек с сочетанными повреждениями грудной клетки и сегментов конечностей. Из них 36 (46,1 %) пациентам остеосинтез выполнялся в ранние сроки (основная группа); 42 (53,9 %) – в отдаленный период (группа сравнения). Для каждого больного проводили расчет показателя результирующего признака S по предложенной формуле с целью оценки тяжести состояния. Анализ полученных данных показал, что при поступлении значения S у пациентов с сочетанными повреждениями варьировались в пределах от 30,03 до 451,92. Отмечено, что у пациентов, у которых в последующем диагностирован свернувшийся гемоторакс, показатель состояния S был в пределах 101,15–451,92 баллов (среднее значение $252,97 \pm 100,82$). В группе больных, которым после мероприятий, направленных на ликвидацию плевральных осложнений, выполняли остеосинтез, значения S колебались от 30,03 до 88,96 баллов (среднее значение составило $69,91 \pm 18,40$).

Материал и методы исследования

Нами был проведен дискриминантный анализ [1, 6], направленный на поиск статистически значимых клинико-лабораторных, спирографических и доплерометрических показателей состояния сердечно-сосудистой, дыхательной систем и общего статуса организма. Проведенное исследование позволило установить, что из 56 параметров и признаков при сочетанных повреждениях груди и сегментов конечностей для оценки тяжести состояния пострадавших необходимо использовать: линейную скорость кровотока (ЛСК) на трансдиафрагмальном участке нижней полой вены (НПВ), диаметр НПВ под диафрагмой; жизненную емкость легких (ЖЕЛ), пиковую скорость выдоха (ПСВ) и индекс Тиффно (ИТ).

С использованием статистического пакета программ «Statistica 6.1» и «Excel MS Office-2000» STADIA 6.2 и SPSS 12.0.2 для Windows нами был разработан способ количественной оценки тяжести состояния пострадавших с сочетанными повреждениями груди и сегментов конечностей, основанный на подсчете по формуле:

Установлено, что срок госпитализации в основной группе был в диапазоне 8–16 дней, при этом среднее значение составило $11,8 \pm 2,86$ дня. В группе сравнения пострадавшие находились в стационаре от 11 до 30 дней (средний срок госпитализации – $17,2 \pm 4,18$ дня).

Нам удалось установить, что у пациентов, у которых длительно сохранялись явления дыхательной недостаточности, несмотря на активное дренирование плевральной полости, величина S колебалась в диапазоне 149,84–451,92 баллов (в среднем – $185,52 \pm 40,02$).

Согласно нашим данным, значения $S < 100$ соответствуют состоянию компенсации организма, следовательно, после дренирования плевральной полости (без удаления дренажа) выполнение остеосинтеза не усугубит положение пациента в данной ситуации. При значениях $S > 100$ имеет место декомпенсация и велика вероятность возникновения внутриплевральных осложнений, поэтому данной категории больных после санации плевральной полости в обязательном порядке необходимо выполнять повторные спирографию и дуплексное исследование кровотока в НПВ после удаления дренажа. Если при этом значения S оцениваются менее 100, то можно выполнять остеосинтез; если S остается более 100, то показаны динамическое наблюдение за пациентом, а также активное проведение лечебных мероприятий, направленных на устранение внутриплевральных осложнений (торакоскопическая ликвидация гемоторакса, пневмоторакса; при большом гемотораксе, продолжающемся

внутриплевральном кровотоке – торакотомия). В последующем выполняется остеосинтез в отсроченном периоде.

В настоящее время одни авторы для оценки тяжести пострадавшего используют анатомо-топографический подход, разделив тело человека на пять областей [3, 11]; другие – физиологические параметры: pCO_2 , pO_2 , пульс, частоту дыхания, диурез, уровень билирубина и др., а также возраст больного и различные хронические заболевания (например, СПИД, цирроз печени, метастазы рака и т.п.). Однако эти методы громоздки, субъективны, а, следовательно, неточны [11]. Практически никто не использует для оценки тяжести состояния пострадавших с сочетанными повреждениями груди и конечностей показатели нарушения функции внешнего дыхания и центральной гемодинамики [7], что, на наш взгляд, является весьма значимым для данного вида сочетанной травмы.

Известно, что торакальная травма приводит к взаимосвязанным структурно-функциональным изменениям различных органов и систем, среди которых особо важное место занимают кардиореспираторные нарушения. Их своевременное распознавание важно для диагностики осложнений, определения прогноза и тактики лечения [8]. Недооценка тяжести состояния пострадавшего приводит к нерациональной лечебной тактике, длительной госпитализации, а выполнение остеосинтеза в ранние сроки сокращает период госпитализации в среднем с 27–29 дней [10] до 15–17.

Для оценки тяжести состояния пострадавших с сочетанными повреждениями В.А. Качесов (2007) [7] рекомендует использовать показатель отношения линейных скоростей кровотока на трансдиафрагмальном участке нижней полой вены и жизненную емкость легких. О.А. Забавская (2001) [4] считает, что для выбора тактики правильного и своевременного, в том числе оперативного, лечения закрытых травм груди важным является исследование функции внешнего дыхания, в частности, ЖЕЛ и центральной гемодинамики.

На наш взгляд, недостаточно для оценки тяжести состояния пострадавших с сочетанными травмами груди и сегментов конечностей, использовать только ЖЕЛ и показатель ЛСК. Важно учитывать индекс Тиффно, поскольку это очень чувствительный показатель, отражающий состояние функции внешнего дыхания, а также пиковую скорость выдоха, оценивающую проходимость бронхов.

При сочетанной травме груди наблюдаются изменения центральной гемодинамики, проявляющиеся депонированием в бассейне нижней полой вены [11, 15], поэтому нужно учитывать не только линейную скорость кровотока в НПВ, но и ее диаметр, причем наиболее точным показателем, отражающим степень депонирования крови, является диаметр НПВ под диафрагмой.

Заключение

Выбор оптимальной лечебной тактики у больных с сочетанными повреждениями груди и сегментов конечностей, основанный на количественном определении тяжести состояния пострадавших, позволил сократить сроки пребывания пациентов в стационаре до 8–16 дней (в среднем – до $11,8 \pm 2,86$ дня) и избежать различных осложнений как со стороны органов грудной клетки, так и со стороны опорно-двигательного аппарата.

Список литературы

1. Айвазян С.А. Прикладная статистика: Классификация и снижение размерности / С.А. Айвазян, В.М. Бухштабер, И.С. Енюков, Л.Д. Мешалкин – М.: Финансы и статистика, 1989. – 607 с.
2. Анкин Л.Н. Политравма (организационные, тактические и методологические проблемы). – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 176 с.
3. Бялик Е.И. Ранний остеосинтез переломов костей конечностей при сочетанной травме: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2004. – 276 с.
4. Забавская О.А. Функция внешнего дыхания и центральной гемодинамики при травме груди, осложненной гемотораксом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2001. – 26 с.
5. Илларионов В.Е. Современные естественно-научные основы медицины. – М.: Центр, 2001. – 192 с.
6. Каримов Р.Н. Обработка экспериментальной информации: учебное пособие. Ч. 3. Многомерный анализ. – Саратов, 2000. – 108 с.
7. Качесов В.А. Интенсивная реабилитация пострадавших с сочетанной травмой. – М., 2007. – 111 с.
8. Косенок В.К. // Современные принципы лечения осложнений травмы груди. / В.К. Косенок, М.С. Коржук, О.К. Козлов // Вопросы организации оказания неотложной медицинской помощи в условиях крупного промышленного центра. – Омск, 1996. – С. 30–32.
9. Ладейщиков В.М. Оптимизация диагностики и комплексного лечения пострадавших с сочетанной травмой: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Самара, 2008. – 39 с.
10. Основные принципы диагностики и лечения тяжелой сочетанной травмы / С.Ф. Багненко, А.С. Ермолов, В.В. Стожаров, А.Е. Чикин // Скорая медицинская помощь. – 2008. – № 3. – С. 3–7.
11. Соколов В.А. Множественные и сочетанные травмы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 521 с.
12. Соколов В.А. Определение сроков проведения и показаний к применению наружного чрезкостного остеосинтеза у пострадавших с сочетанной и множественной травмой / В.А. Соколов, Ю.В. Кобзев, С.А. Страковский // Лечение больных с политравмой и изолированными повреждениями конечностей методом наружного чрезкостного остеосинтеза. – М., 1987. – С. 19–22.

13. Попов В.А. Физиологические основы военно-полевой и неотложной хирургии. – СПб.: Элби-СПб, – 2003. – 304 с.
14. Miller D.L. Mansour K.A. Blunt traumatic lung injuries / D.L. Miller, K.A. Mansour // *Thorac. Surg. Clin.* – 2007. – № 17(1). – P. 57–61.
15. Thoracic trauma / M. Mazieri et al. // *G. Chir.* – 1995. – Vol. 16, № 10. – P. 422–428.

References

1. Ayvazyan S.A. Prikladnaya statistika: Klassifikatsiya i snizheniye razmernosti / S.A. Ayvazyan, V.M. Bukhshtaber, I.S. Yenyukov, L.D. Meshalkin M.: *Finansy i statistika*, 1989. 607 p.
2. Ankin L.N. Politravma (organizatsionnyye, takticheskiye i metodologicheskiye problemy) / L.N. Ankin. M.: MEDpress-inform, 2004. 176 p.
3. Byalik Ye.I. Ranniy osteosintez perelomov kostey konechnostey pri sochetannoy travme: Diss...dokt. med. nauk. M., 2004. 276 p.
4. Zabavskaya O.A. Funktsiya vneshnego dykhaniya i tsentral'noy gemodinamiki pri travme grudi, oslozhennoy gemotoraksom: Avtoref. dis... kand. med. nauk. M., 2001. 26 p.
5. Illarionov V.Ye. Sovremennyye yestestvenno-nauchnyye osnovy meditsiny. M.: Tsentr, 2001. 192 p.
6. Karimov R.N. Obrabotka eksperimental'noy informat-sii. Uch. posobiye. CH. 3. Mnogomernyy analiz. / R.N. Karimov Saratov, 2000. 108 p.
7. Kachesov V.A. Intensivnaya reabilitatsiya postradavshikh s sochetannoy travmoy. M., 2007. 111 p.
8. Kosenok V.K. // *Sovremennyye printsipy lecheniya oslozheniy travmy grudi.* / V.K. Kosenok, M.S. Korzhuk, O.K. Kozlov / *Voprosy organizatsii okazaniya неотложной мед-*

itsinskoj pomoshchi v usloviyakh krupnogo promyshlennogo tsentra. Omsk, 1996. pp. 30–32.

9. Ladeyshchikov V.M. Optimizatsiya diagnostiki i kompleksnogo lecheniya postradavshikh s sochetannoy travmoy: Avtoref. dis... dokt. med. nauk. Samara, 2008. 39 p.
10. Osnovnyye printsipy diagnostiki i lecheniya tyazheloy sochetannoy travmy / S.F. Bagnenko, A.S. Yermolov, V.V. Stozharov, A.Ye. Chikin // *Skoraya meditsinskaya pomoshch'.* 2008. no. 3. pp. 3–7.
11. Sokolov V.A. Mnozhestvennyye i sochetannyye travmy. M.: GEOTAR-Media, 2006. 521 p.
12. Sokolov V.A. Opredeleniye srokov provedeniya i pokazaniy k primeneniyu naruzhnogo chrezkostnogo osteosinteza u postradavshikh s sochetannoy i mnozhestvennoy travmoy / V.A. Sokolov, Y.V. Kobzev, S.A. Strakovskiy // *Lecheniye bol'nykh s politravmoy i izolirovannymi povrezhdeniyami konechnostey metodom naruzhnogo chrezkostnogo osteosinteza.* M., 1987. pp. 19–22.
13. Popov V.A. *Fiziologicheskiye osnovy voyenno-polevoy i неотложной хирургии.* SPb.: Elbi-SPb, 2003. 304 p.
14. Miller D.L. Mansour K.A. Blunt traumatic lung injuries / D.L. Miller, K.A. Mansour // *Thorac. Surg. Clin.* 2007. no. 17(1). pp. 57–61.
15. Thoracic trauma / M. Mazieri et al. // *G. Chir.* 1995. Vol. 16, no. 10. pp. 422–428.

Рецензенты:

Пучиньян Д.М., д.м.н., профессор, зам. директора, ФГБУ «Саратовский НИИ травматологии и ортопедии», г. Саратов;

Слободской А.Б., д.м.н., зав. ортопедическим отделением, ГУЗ «Областная клиническая больница», г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 612.17

ВЛИЯНИЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕРДЦА НА ПОДВИЖНОСТЬ НЕРВНЫХ ПРОЦЕССОВ

Черкасова С.А., Шварц Ю.Г.

ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского
Минздрава России», Саратов, e-mail: salvete87@yandex.ru

Изучается гипотеза о влиянии биопотенциалов сердца на функцию центральной нервной системы. При проведении исследования было смоделировано увеличение частоты сердечных сокращений в два раза, для чего в середине каждого кардиоинтервала на грудную клетку здоровых добровольцев наносились искусственные электрические стимулы, по своим характеристикам сходные с естественными биоимпульсами сердца. По длительности они были равны 8 мс, а по амплитуде подбирались под высоту зубца R. Стимулы воспроизводились при помощи наружного электрокардиостимулятора и сообщались посередине каждого нормального сердечного цикла. Воздействие проводимой стимуляции оценивалось в отношении изменений подвижности нервных процессов, которая отражала состояние центральной нервной системы и проверялась посредством проведения теппинг-теста. Испытание, продолжавшееся 40 минут, было проведено на двух группах по 10 человек в возрасте 18–26 лет. Стимуляция проводилась в этих группах в противоположных режимах. Первая получала воздействие на протяжении первого и третьего десятиминутного отрезка, вторая – в продолжение второго и четвертого. В конце каждого из четырех промежутков времени по 10 минут выполнялся теппинг-тест. Оценка полученных данных показала, что проведение стимуляции оказывает воздействие на результаты теста. Под ее влиянием показатель подвижности кратковременно возрастает, при этом параллельно отмечается снижение устойчивости нервных процессов. Кроме того, регрессионный анализ данных показывает усиление взаимосвязей между исследуемыми параметрами на протяжении стимуляции. Все это подтверждает возможность воздействия изменения частоты биопотенциалов сердца на функцию ЦНС и подразумевает необходимость проведения дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: сердце, центральная нервная система, биопотенциалы сердца, подвижность нервных процессов, теппинг-тест

THE INFLUENCE OF THE HEART' BIOELECTRIC ACTIVITY ON THE NERVOUS SYSTEM MOBILITY

Cherkasova S.A., Shvarts Y.G.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: salvete87@yandex.ru

We study the hypothesis of the influence of heart' biopotentials on the function of the central nervous system. During the study it was modeled increase in heart rate in two times. In the middle of each cardiointerval we applied artificial electrical pulses on a chest of healthy volunteers; main characteristics of these pulses were similar to those of natural heart biopotentials (duration – 8 ms, amplitude as the height of the R wave). Pulses were generated by external pacemaker and applied in the middle of each normal cardiac cycle. The influence of stimulation was evaluated on changes of nervous system mobility that was verified through typing test. A forty-minute test was conducted on two groups of 10 people aged 18–26 years. They received the stimulation in two different modes. The first group received additional pulses during the first and third ten-minute interval, the second group was stimulated during the second and fourth similar interval. In the end of each 10-minute period our patients performed a typing-test. Data analysis showed a short-term increase of nervous system mobility together with a decrease of nervous processes stability. In addition, regression analysis of the data showed strengthening the connection between the studied marks for stimulation. Our findings confirm a possible influence of heart' biopotentials frequency changes on the function of the central nervous system.

Keywords: heart, central nervous system, cardiac biopotentials, nervous mobility, typing-test

В 1543 году был опубликован труд Андрея Везалия «О строении человеческого тела», в котором ученый впервые описал схему строения и механизмы работы сердца, близкие к современным. Он подверг сомнению истинность утверждений, освещенных в более ранних работах, где представлено о сердечно-сосудистой системе во многом состояло из предубеждений и домыслов, например, идее о том, что сердце является мыслительным органом, несет через себя жизненную силу и является обиталищем души [1].

Дальнейшие научные достижения, от открытия кругов кровообращения до установления авторегуляции сердечного ритма,

долго шли в одном направлении – уточнении, усовершенствовании, углублении механистического объяснения деятельности сердечной мышцы, главным тезисом которого служило утверждение «сердце – это насос, особенности работы которого зависят от влияния ряда внешних и внутренних факторов».

Однако в последние десятилетия понятие о деятельности сердца как органа расширилось: были обнаружены механизмы, при помощи которых сам орган воздействует на другие структуры, а не наоборот. Так, атриопептид, выделяющийся миоцитами предсердий, влияет на тонус кишечника, растяжение левого предсердия усиливает

диурез, ишемия миокарда «выключает» часть альвеол из вентиляции, сильное сужение коронарных сосудов ведет к развитию лейкоцитоза и т.д. [3]. В свете этого давно опровергнутые идеи древних о наличии у сердечной мышцы особых свойств уже не кажутся столь необоснованными. Весьма интересными представляются и пока немногочисленные работы о влиянии на организм естественного «продукта» деятельности сердца: магнитных и электрических полей, генерируемых в момент его сокращений [6]. Развивается гипотеза, согласно которой создание биопотенциалов является не только одним из основных проявлений жизнедеятельности и «побочным эффектом» сердечных сокращений, но и механизмом, синхронизирующим и подчиняющим себе физиологические процессы в тканях и органах человеческого организма.

Если брать это предположение за основу для последующих научных изысканий, в первую очередь следует обратить внимание на частоту генерации биоимпульсов сердца и изучить ее влияние на работу отдаленных органов. Именно частота представляется ключевым фактором возможного воздействия, так как физические характеристики полей являются практически постоянными для каждого человека и почти не меняются во времени. При этом проблемой является вычленение влияния именно этого вида активности сердца, так как просто учащение сердечных сокращений приведет к изменению всех остальных сердечных функций. Для исследования обсуждаемой гипотезы мы провели искусственную симуляцию учащения сердечных биопотенциалов в два раза и изучили результаты этого воздействия на одну из характеристик центральной нервной системы [5]. Последняя выбрана как наиболее быстро реагирующая и относительно легко тестируемая из других систем организма.

Цель исследования – изучить гипотезу о возможном влиянии биоэлектрической активности сердца на функцию центральной нервной системы, оценив изменение подвижности нервных процессов в ответ на искусственное двукратное учащение частоты биопотенциалов, возникающих в области сердца.

Материал и методы исследования

В ходе эксперимента изучалось влияние искусственного учащения «сердечного ритма» в два раза на подвижность нервных процессов (ПНП) – показатель функционального состояния ЦНС. В качестве испытуемых выступали здоровые добровольцы, мужчины и женщины 18–26 лет.

Искусственные стимулы передавались пациентам через электроды, наложенные на грудную клетку, и сообщались посередине каждого естественного

сердечного цикла, что имитировало двукратное ускорение частоты сердечных сокращений. В качестве генератора импульсов выступал наружный программируемый электрокардиостимулятор ЧЭ-ЭКСП-3 «Вектор-МС». Проводилась синхронизация сердечного ритма с искусственными стимулами; они контролировались посредством постоянного мониторинга сердечной деятельности при помощи кардиомонитора STARTECH PM-8. Продолжительность сообщаемых сигналов во всех случаях составляла 8 мс, что приблизительно равно длительности зубца R, а амплитуда подбиралась индивидуально.

Никаких ощущений, связанных со стимулами, у испытуемых при этом не отмечалось.

Так как ранее подобных исследований не проводилось и соответствующие данные в литературе отсутствуют, длительность и количество эпизодов стимуляции, а также режим тестирования подбирались эмпирически, с учетом этических соображений.

Испытания проводились на протяжении 40 минут в двух группах добровольцев по 10 человек. Первой группе (20_S0) стимуляция проводилась на протяжении первых 20 минут, а второй аналогичный отрезок времени она отсутствовала. Во второй группе воздействие выполнялось противоположным образом: первые 20 минут – отсутствие стимуляции, вторые 20 минут – стимуляция. При этом обе группы для исключения индивидуальных различий состояли из одних и тех же испытуемых, каждый из которых получал стимуляцию вначале в одном режиме, а затем (через 1–2 суток) – в другом. На протяжении эксперимента участники не знали, в каком именно режиме и на каких минутах исследования им проводится воздействие.

Выполнение теппинг-теста (ТТ) с целью оценки подвижности нервных процессов выполнялось на 10, 20, 30 и 40 минутах исследования, через каждые 10 минут. Кроме того, перед исследованием каждый участник дважды проходил пробное тестирование, что позволяло пациентам адаптироваться к условиям его проведения и по возможности исключало влияние процесса вработывания на результаты.

ТТ проводился в бланковом варианте, в сокращенной форме. Каждый тест выполнялся в течение 15 секунд, на протяжении которых испытуемые с максимальной скоростью ставили карандашом точки в трех расположенных в ряд квадратах, в каждом на протяжении 5 секунд [4].

Статистика. Данные обрабатывались программой STATISTICA6. Для оценки результатов теппинг-теста учитывались точки, поставленные в каждый квадрат, а также сумма точек во всех 3 квадратах. Для каждой группы и каждого периода тестирования определялись средние значения (Mean), стандартные ошибки среднего (SE), также на графиках использовалась величина 1,96 от SE. По результатам строились графики типа «ящик с усами» (Box&Whisker Plot).

Результаты выполнения каждого теста в каждом квадрате (промежутки времени по 5 секунд) сравнивались между собой. Для оценки статистической значимости изменений использовались критерий знаков и парный критерий Wilcoxon для зависимых выборок. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$. На графике наличие или отсутствие существенных различий демонстрируется границами SE.

Кроме того, проводился линейный регрессионный анализ результатов ТТ. Просчитывался коэффициент детерминации (R), при этом в качестве предикторов использовались первые два отрезка ТТ,

а в качестве «отклика» заключительный отрезок. Таким образом изучалась взаимосвязь между количеством точек в первом и втором квадратах с количеством точек в третьем квадрате, то есть зависимость между подвижностью нервных процессов в начальные и заключительные периоды ТТ, как во время стимуляции, так и в ее отсутствие.

Результаты исследования и их обсуждение

В группе 20_S0 после начала воздействия отмечалось достоверное увеличение ПНП, что говорит о его возможном стимулирующем влиянии (рис. 1).

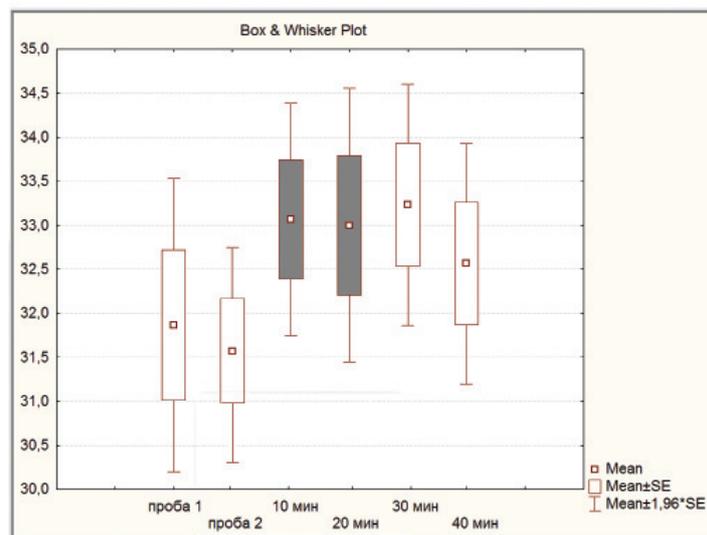


Рис. 1. Изменение суммарного показателя подвижности нервных процессов в группе испытуемых, получавших стимуляцию в режиме 20_S0

Детальный анализ показателя ПНП (оценка изменений ПНП на протяжении каждых 5 секунд теста) показал значимое улучшение результатов во время стимуляции в первом и во втором квадрате и существенное ухудшение в третьем квадрате в сравнении со вторым и первым. Таким

образом, воздействие действительно увеличивает ПНП, но только вначале, а затем под влиянием «ускорения сердечного ритма» происходит уменьшение показателя, возможно, наступающее из-за истощения нервных процессов на фоне стимуляции (рис. 2).

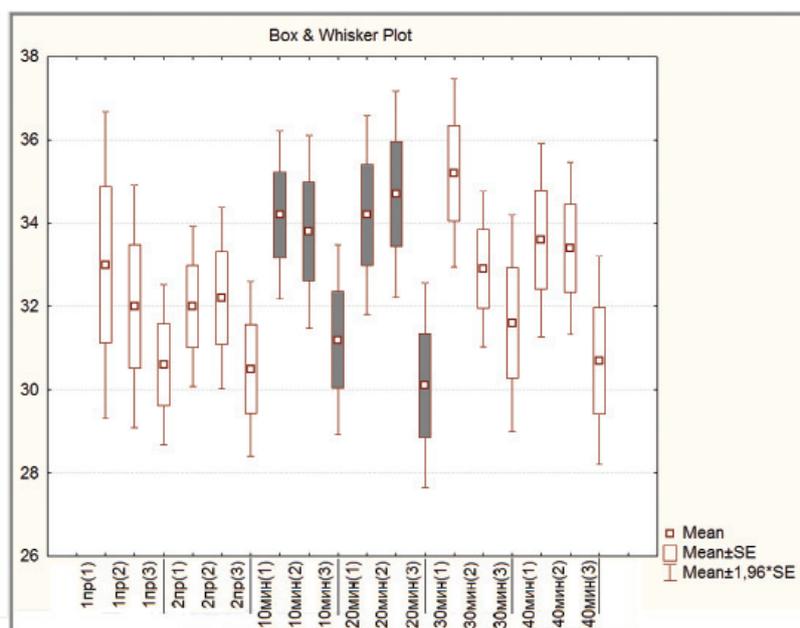


Рис. 2. Изменение показателя подвижности нервных процессов в каждом из трех квадратов в группе испытуемых, получавших стимуляцию в режиме 20_S0

Все время после ее окончания у испытуемых сохранялись несколько заниженные результаты тестирования – признаки снижения устойчивости нервных процессов. В те периоды, когда стимуляции не проводилось, описанных изменений не наблюдалось, что подтверждает предположение о наличии влияния исследуемого воздействия на нервные процессы.

В группе 20_0S в первую очередь обращает на себя внимание статистически

недостойное, но заметное ухудшение результатов ТТ на 20 минуте исследования. Вероятно, это можно объяснить спонтанными колебаниями состояния ЦНС. На фоне данного эпизода показатели ТТ, полученные на протяжении стимуляции, возросли, однако в сравнении с другими результатами тестирования прирост оказался незначительным. Траектория общей картины в данном случае затруднена (рис. 3).

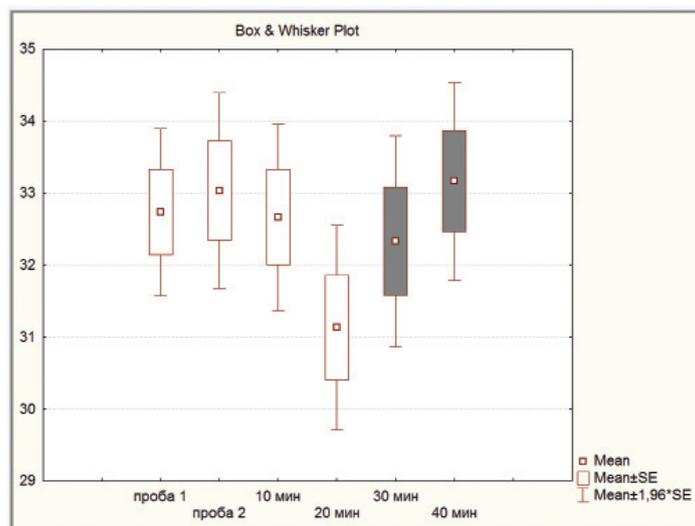


Рис. 3. Изменение суммарного показателя подвижности нервных процессов в группе испытуемых, получавших стимуляцию в режиме 20_0S

Оценка подробных результатов показывает то же, что и в группе 20_S0: вначале небольшое возрастание, а затем значительное паде-

ние подвижности нервных процессов, чего не наблюдалось во время тестирования, проводимого вне эпизодов стимуляции (рис. 4).

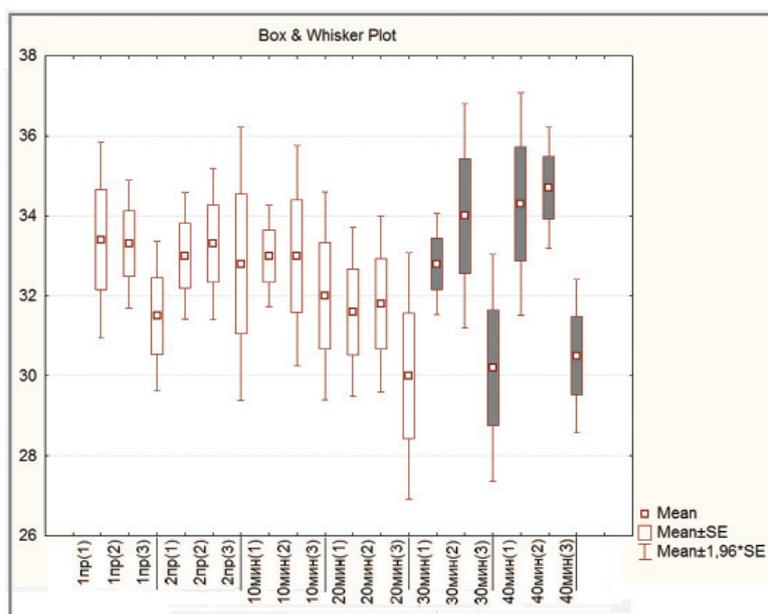


Рис. 4. Изменение показателя подвижности нервных процессов в каждом из трех квадратов в группе испытуемых, получавших стимуляцию в режиме 20_0S

Регрессионный анализ продемонстрировал (таблица), что максимальная взаимосвязь между изучаемыми показателями ГТ в группах обследуемых отмечалась в период стимуляции, вне зависимости от того, в какой последовательности проводилось испытание. Единственная статистически достоверная связь вне стимуляции зафиксирована в период, непосредственно следующий за стимуляцией в груп-

пе 20_S0. Поскольку у здоровых лиц усиление взаимосвязей между исследуемыми параметрами может свидетельствовать о повышении напряженности регуляторных механизмов, полученные регрессионным методом результаты в определенной мере подтверждают высказанное выше предположение о характере влияния стимуляции на показатель подвижности нервных процессов.

Коэффициенты детерминации (R) результатов показателей теппинг-теста в зависимости от периодов стимуляции

	Проба 1	Проба 2	10 мин	20 мин	30 мин	40 мин
Стимуляция	---	---	+++	+++	---	---
Группа 1	0,233283	0,295123	0,448452*	0,714712*	0,586439*	0,285861
Стимуляция	---	---	---	---	+++	+++
Группа 2	0,035513	0,338974	0,096871	0,382954	0,77856*	0,333112

Примечания: «*» – статистически значимая корреляция; «+++» – период стимуляции; «---» период отсутствия стимуляции.

Получение результатов, подтверждающих друг друга, свидетельствует в пользу правомочности выдвигаемой гипотезы, однако стоит отметить, что исследование данного феномена связано с рядом ограничений и методических проблем.

Один из центральных вопросов исследуемой концепции состоит в значимости влияния полей с заданными характеристиками на нервную проводимость, учитывая слабость стимулов и их искусственное происхождение.

Что касается характеристик генерируемых полей, то даже слабые электромагнитные волны способны легко распространяться в биологических средах, несмотря на существование затухания, дифракции, рассеивания и других феноменов, присущих волнам. Больше всего особенности распространения электромагнитных полей в живых тканях сходны с их распространением в электролитах, что во многом объясняется химическим составом клеток и плазмы. Проводимость электролитов, особенно для волн низких частот, весьма высока, так что поля распространяются в пределах организма и даже за его пределы, хоть и недалеко [2]. В частности, магнитное излучение может регистрироваться на расстоянии без соприкосновения с кожей человека. Таким образом, воздействие длинноволновым низкочастотным электромагнитным излучением, которое используется в ходе эксперимента, способно распространяться по всему телу, чтобы оказывать воздействие даже на отдаленные от сердца органы и ткани, в том числе элементы нервной системы.

Объяснение физических основ распространения полей может служить одним

из доказательств его влияния на нервные процессы, однако основная сложность исследования состоит в невозможности подтвердить идентичность искусственных стимулов и естественных биоимпульсов работающего сердца, что связано с многочисленными техническими ограничениями.

Некоторые физиологические процессы, в частности, электрические явления, возникающие в тканях, настолько самобытны, что их сложно воссоздать. К примеру, кардиостимулятор воспроизводит прямоугольные импульсы, тогда как кардиомиоциты продуцируют электрические стимулы, близкие по форме к синусоидным. Отдельной дискуссии заслуживает выбор продолжительности и амплитуды сигнала. В ходе эксперимента использовались стимулы длительностью 8 мс, так как «действующим» фактором представляется биоэлектрическая активность сердца, возникающая во время сокращения желудочков. Не исключено, что этот интервал должен быть больше или меньше.

Амплитуда стимулов подбиралась индивидуально, по высоте зубца R, что представляется логичным, однако высота искусственных сигналов, отслеживаемая по монитору, во многом зависела от того, как далеко активные электроды стимулятора находились от воспринимающих электродов монитора. Малейшее изменение расстояния между ними приводило к изменению картины на мониторе. Между тем в процессе повторного наложения электродов на тело пациента точно воспроизвести их положение не представлялось возможным. В результате один и тот же человек, проходя стимуляцию в разных режимах, мог

получать сигналы с отличающейся амплитудой, что, возможно, отразилось на результатах исследования. В нашем случае, ввиду технических ограничений, провести соответствующие измерения для выявления соответствия искусственных сигналов естественным не представляется возможным еще и из-за отсутствия необходимого оборудования.

Следующий вопрос состоит в том, насколько исследуемое воздействие является значимым в условиях постоянного влияния на пациента посторонних электромагнитных полей. В идеальных условиях эксперименты подобного рода следует проводить в специальных изолированных помещениях, где исключено зашумляющее воздействие побочных волн от проводки, медицинской аппаратуры, компьютеров и других приборов, так как создаваемые при этом поля воздействуют на организм человека и, возможно, вносят несоответствие в наблюдаемые результаты. Подобные исследования рекомендуют проводить либо вдали от городов, в помещениях, построенных из немагнитных материалов, либо в специальных комнатах с магнитными экранами. И то, и другое в нашем случае недоступно. Тем не менее на это препятствие, судя по всему, не стоит обращать столь пристальное внимание. Во-первых, подобные требования более актуальны в исследованиях, в которых проводятся измерения характеристик полей, а не оценка их влияния на физиологические показатели, а во-вторых, согласно выдвигаемой гипотезе, биоимпульсы сердца действуют на организм человека всегда, независимо от того, в насколько «зашумленной» обстановке он находится.

Особого внимания заслуживает объяснение полученных результатов. Мы склонны предполагать, что наблюдаемые изменения подвижности нервных процессов вызваны увеличением количества электромагнитных импульсов, исходящих из области сердца, однако есть мнение, что наблюдаемый феномен может быть вызван изменением свойств мембран нервных волокон под действием внешнего импульсного электромагнитного излучателя, что оказывает влияние на реакцию рецепторов и проводимость нервных стволов.

Таким образом, проводимый нами эксперимент, несмотря на попытки сделать его максимально «чистым», проводится при наличии ряда ограничений, и пока сложно говорить, насколько большое значение имеют перечисленные методические погрешности. Тем не менее получение достоверных результатов говорит о том, что гипотеза выбрана небезосновательно. Чтобы говорить о происхождении наблюдаемых эффектов

с большей уверенностью, необходимо продолжить исследование, проводя стимуляцию в других режимах, с другой частотой и характеристиками стимулов, на большем количестве испытуемых, синхронно и асинхронно с деятельностью сердца.

Выводы

Искусственное удвоение частоты биоимпульсов, возникающих в области сердца, оказывает стимулирующее действие на показатель ПНП наряду с негативным влиянием на устойчивость нервных процессов. Это частично подтверждает гипотезу о возможном влиянии биоэлектрической активности сердца на функцию центральной нервной системы.

Список литературы

1. Андрей Везалий. Остроении человеческого тела в семи книгах. В 2-х т. Т. 2. – М.: АН СССР, 1954. – 960 с.
2. Литвинов О.С., Павлов К.Б., Горелик В.С. Электромагнитные волны и оптика. Т. 4. – М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана. Кафедра физики. 2002. – 763 с.
3. Черешнев В.А., Юшков Б.Г. Патопсихология. – М.: ВЕЧЕ, 2001. – 703 с.
4. Райгородский Д.Я. Практическая психодиагностика. Методики и тесты: учебное пособие. – Самара: издательский дом «БАХРАХ», 1998. – 672 с.
5. Шварц Ю.Г., Черкасова С.А., Кондальская Ю.О. Влияют ли биопотенциалы сердца на функциональное состояние центральной нервной системы: первый шаг в исследовании гипотезы // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 947–953.
6. Bradley R.T., McCraty R., Atkinson M. Emotion self-regulation, psychophysiological coherence, and test anxiety: results from an experiment using electrophysiological measures. Appl. Psychophysiol Biofeedback, 2010, Dec; no. 35(4), pp. 261–83.

References

1. Andrey Vezaliy. O stroenii chelovecheskogo tela v semi knigah. V 2-h tomah. Tom 2. M.: AN SSSR, 1954, 960 p.
2. Litvinov O.S., Pavlov K.B., Gprelik V.S. Electromagnitnye volni i optika. Tom 4. M.: MGTU im. N.E. Baumana. Kafedra fiziki. 2002, 763 p.
3. Chereshevnev V.A., Yushkov B.G. Patofiziologia. M.: VECHЕ, 2001, 703 p.
4. Raygorodskiy D.Ya. Prakticheskaya psihodiagnostika. Metodiki i testy: uchebnoe posobie, Samara: izdatel'skiy dom «BAHRAH», 1998, 672 p.
5. Shvarts Yu.G., Cherkasova S.A., Kondal'skaya Yu.O. Vliyayut li biopotentsialy serdtsa na funktsional'noe sostoyanie tsentral'noi nervnoi sistemy: pervyi shag v issledovanii gipotezy// Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal. 2012, no. 4, 947–953 p.
6. Bradley R.T., McCraty R., Atkinson M. Emotion self-regulation, psychophysiological coherence, and test anxiety: results from an experiment using electrophysiological measures. Appl. Psychophysiol Biofeedback, 2010, Dec; no. 35(4), pp. 261–83.

Рецензенты:

Олейников В.Э., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии Медицинского института Пензенского государственного университета, г. Пенза;

Лямина Н.П., д.м.н., профессор, зам. директора по науке, ФБГУ «Саратовский научно-исследовательский институт кардиологии» Минздрава России, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.8 – 002.6 – 005 – 07

ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ И ПОЗДНИМ НЕЙРОСИФИЛИСОМ

Шепило С.А., Разнатовский К.И., Александров Н.Ю.

ГОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»,
Санкт-Петербург, e-mail: brainxman@mail.ru

В последнее десятилетие в Российской Федерации отмечается тенденция к возрастанию заболеваемости нейросифилисом. Увеличивается количество публикаций, посвященных данной проблеме. Как известно, одним из патогенетических механизмов развития нейросифилиса является поражение церебральных сосудов. Этот факт и способствовал проведению исследования мозговой гемодинамики у больных нейросифилисом. В результате исследования скоростных показателей кровотока в церебральных сосудах у больных нейросифилисом было обнаружено снижение скоростных характеристик ЛСК. Межполушарной асимметрии мозгового кровотока обнаружено не было. Состояние регионального периферического сосудистого сопротивления у больных нейросифилисом характеризовалось снижением упруго-эластических свойств артерий за счет повышения индексов S/D и RI. В результате проведенных гипер- и гипокпапнических функциональных проб обнаружено снижение реактивности церебральных артерий.

Ключевые слова: сифилис, ранний нейросифилис, поздний нейросифилис, церебральная гемодинамика, ультразвуковая доплерография

CEREBRAL HEMODYNAMICS AT PATIENTS WITH EARLY AND LATE NEUROSYPHILIS

Shepilo S.A., Raznatovskiy K.I., Aleksandrov N.Y.

North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov,
Saint-Petersburg, e-mail: brainxman@mail.ru

In the last decade in the Russian Federation the tendency to increase of incidence by neurosyphilis is noted. The number of publications devoted to this problem increases. It is known that one of pathogenetic mechanisms of development of neurosyphilis is defeat of cerebral vessels. This fact also promoted carrying out research of brain haemodynamics at patients with neurosyphilis. As a result of research of high-speed indicators of a blood-groove in cerebral vessels at patients with neurosyphilis decrease in high-speed characteristics revealed. Asymmetry of a brain blood-groove it was revealed not. The condition of regional peripheral vascular resistance at patients with neurosyphilis was characterized by decrease elastic properties of arteries at the expense of increase of the S/D and RI indexes. As a result of carried out the hyper – and hypocapnia functional tests decrease in reactivity of cerebral arteries is revealed.

Keywords: syphilis, early neurosyphilis, late neurosyphilis, cerebral hemodynamics, Doppler ultrasound

Нейросифилис (*lues nervosa*, *neurolues* – лат.) – сифилитическое поражение нервной системы, вызываемое инвазией бледной трепонемы (*Treponema Pallidum*) в организм плода (при врожденном сифилисе) или взрослого человека (приобретенный сифилис) с последующим вторичным поражением центральной и/или периферической нервной системы [12].

В последнее десятилетие наблюдается тенденция к снижению заболеваемости сифилисом, тем не менее отмечается рост случаев регистрации нейросифилиса в Российской Федерации [4].

По мнению многих исследователей, *T. pallidum* проникают в нервную систему уже на самых ранних стадиях сифилиса [13–15], вызывая мезенхимный нейросифилис (специфическое поражение мозговых оболочек и сосудов), а поздние стадии характеризуются поражением паренхимы нервной системы [6]. Тем не менее на данный момент не существует ни клинических, ни лабораторных критериев, которые могли бы позволить различить отдельные клинические формы заболевания при жизни па-

циентов. В настоящее время решающую роль в диагностике нейросифилиса играет исследование спинномозговой жидкости (СМЖ). Диагноз нейросифилиса с симптомами устанавливается на основании комбинации результатов серологических тестов и изменений в составе СМЖ числа клеток и уровня белка в сочетании с клиническими проявлениями, скрытого – на основании результатов исследования СМЖ [7].

Учитывая факты преобладания в структуре современного нейросифилиса асимптомных форм и отсутствия абсолютной точности лабораторных методов диагностики нейросифилиса, приобретают актуальность дополнительные инструментальные методы исследования. Одним из таких методов является ультразвуковая доплерография (УЗДГ). УЗДГ позволяет объективизировать недостаточность кровообращения в церебральных сосудах. Полная безвредность и безопасность метода позволяют применять его не только для первичной диагностики, но и для динамического наблюдения и оценки эффективности лечения [6].

В последнее время появляются работы, указывающие на наличие недостаточности мозгового кровообращения при разных формах сифилиса [1–3, 5, 8–11]. Тем не менее остается малоизученной роль цереброваскулярных нарушений в развитии нейросифилиса, не существует принципов прижизненной диагностики сифилитического васкулита.

Цель исследования – изучить состояние церебральной гемодинамики у пациентов с ранним и поздним нейросифилисом.

Материалы и методы исследования

Нами было обследовано 88 больных ранним (РН) и поздним нейросифилисом (ПН) (53 мужчины и 35 женщин), возраст 18–55 лет, средний возраст 40,3 лет. Из них 44 (50%) пациентам был поставлен диагноз РН, 44 (50%) – ПН.

В 1 группу вошли пациенты с РН. Во 2 группу – пациенты с ПН. В 3 группу контроля – 30 добровольцев, считающих себя здоровыми и не страдающих какими-либо хроническими заболеваниями. К РН мы относили специфическую неврологическую патологию, развившуюся до 5 лет от начала заболевания, к ПН – после 5 лет от начала заболевания. Диагноз нейросифилиса (НС) у всех пациентов подтвержден серологическими тестами с ликвором (МР, ИФА, РПГА, РИФц) и ликворограммой (белок, цитоз).

Для оценки мозгового кровотока у этих пациентов проводилось доплерографическое исследование в среднемозговых артериях (СМА) на ультразвуковом диагностическом аппарате «Sonara»

фирмы ViasysHealthcare (США) при помощи датчика с частотой 2 МГц. Параметры регистрировались в покое и при проведении функциональных проб. Функциональные пробы выполнялись в строгой последовательности: гиперкапническая проба, гипокапническая проба. Гиперкапническая проба использовалась для оценки дилататорной реактивности церебральных сосудов к CO_2 . Гипокапническая проба использовалась для оценки констрикторной реактивности церебральных сосудов в ответ на возникшую гипокапнию.

В СМА регистрировали автоматически на «замороженном» экране следующие показатели гемодинамики: пиковую систолическую скорость кровотока (V_s , см/с), конечную диастолическую скорость кровотока (V_d , см/с), среднюю скорость кровотока (V_m , см/с), индекс периферического сопротивления (RI), систоло-диастолический коэффициент Стюарта (S/D). Рассчитывались коэффициент асимметрии (КА), индекс вазомоторной реактивности (ИВМР), коэффициент реактивности на гиперкапническую пробу (Кр+), коэффициент реактивности на гипокапническую пробу (Кр–).

Результаты исследования и их обсуждение

Скоростные показатели кровотока в церебральных сосудах больных нейросифилисом

В контрольной группе скоростные показатели кровотока в церебральных сосудах и коэффициент межполушарной асимметрии линейной скорости кровотока (КА) были в пределах возрастной нормы (рис. 1).

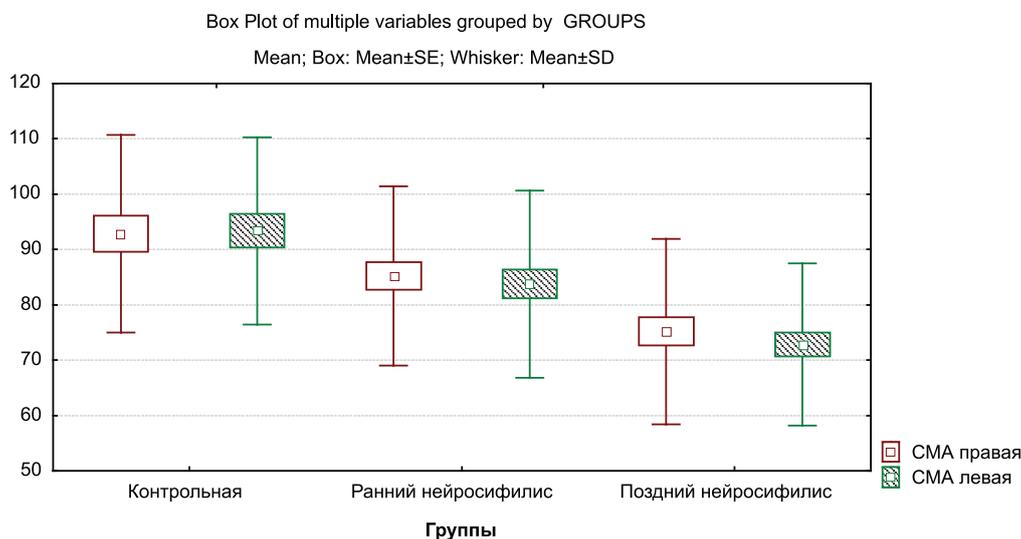


Рис. 1. Пиковая систолическая скорость кровотока у больных нейросифилисом

При оценке скоростных характеристик потока крови в СМА в группе раннего нейросифилиса отмечалось снижение всех скоростных показателей ЛСК: систолической – на 10%, средней – на 13%, диастолической – на 21%. Коэффициент межполушарной асимметрии линейной скорости

кровотока (КА) был в пределах нормы и составил $6,4 \pm 0,7\%$.

В группе позднего нейросифилиса отмечалось более значительное снижение ЛСК: систолической – на 22%, средней – на 18%, диастолической – на 32%. КА был в пределах нормы и составил $5,5 \pm 0,6\%$ (табл. 1).

Таблица 1

Состояние ЛСК у больных нейросифилисом

Группа	Правая СМА			Левая СМА			КА, %
	Vs	Vd	Vm	Vs	Vd	Vm	
КГ	92,9 ± 3,3	44,8 ± 2,1	58,3 ± 1,9	93,4 ± 3,1	42,8 ± 2,0	58,0 ± 2,0	4,9 ± 0,9
РН	85,2 ± 2,4	35,5 ± 1,3**	51,4 ± 1,5***	83,8 ± 2,5*	34,9 ± 1,3***	50,5 ± 1,7**	6,4 ± 0,7
ПН	75,2 ± 2,5***	30,6 ± 1,4***	48,2 ± 1,7***	72,9 ± 2,2***	29,9 ± 1,3***	47,7 ± 1,7***	5,5 ± 0,6

Примечание: различия достоверны относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Межгрупповые различия по всем параметрам ЛСК за исключением КА были достоверны ($p < 0,001$ по Mann–Whitney).

Состояние регионального периферического сосудистого сопротивления у больных нейросифилисом

Состояние регионального периферического сопротивления у больных нейросифилисом, которое отражает состояние тонуса

резистивных сосудов пиально-капиллярной сосудистой стенки и стенок мелких артерий, оценивалось с помощью индекса сопротивления Пурсело (RI) и систоло-диастолического индекса Стюарта (S/D).

При оценке регионального периферического сопротивления в СМА в группе раннего нейросифилиса отмечалось повышение индексов RI на 18%, и S/D на 17% по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

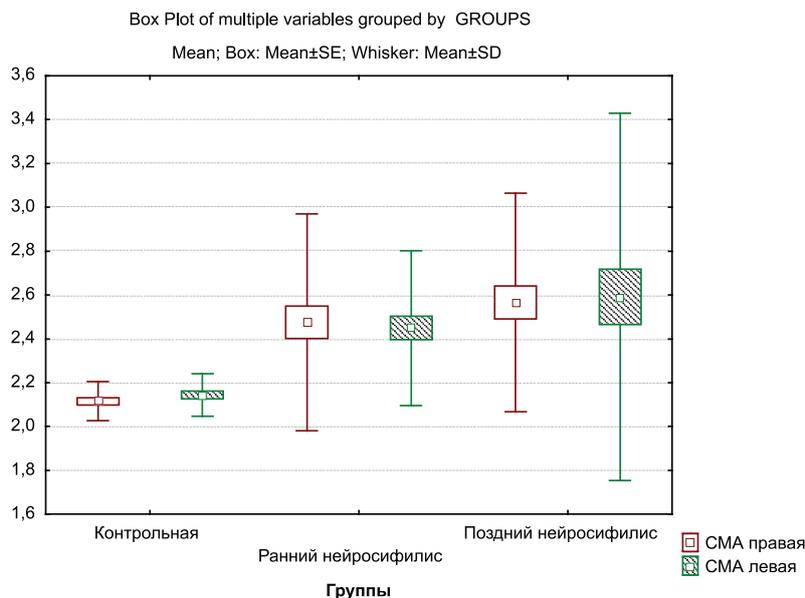


Рис. 2. Систоло-диастолический коэффициент у больных нейросифилисом

В группе позднего нейросифилиса отмечалось более значительное повышение индексов RI на 22% и S/D на 21% (табл. 2).

Межгрупповые различия по параметрам RI и S/D были достоверны ($p < 0,05$ по Mann–Whitney).

Таблица 2

Состояние периферического сопротивления у больных НС

Группа	RI		S/D	
	Правая СМА	Левая СМА	Правая СМА	Левая СМА
Контрольная	0,55 ± 0,03	0,54 ± 0,03	2,11 ± 0,02	2,14 ± 0,02
РН	0,65 ± 0,01*	0,64 ± 0,01***	2,47 ± 0,07***	2,45 ± 0,05***
ПН	0,67 ± 0,01**	0,66 ± 0,08***	2,56 ± 0,07***	2,59 ± 0,01**

Примечание: различия достоверны относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

*Цереброваскулярный резерв
мозгового кровообращения у больных
нейросифилисом*

Состояние цереброваскулярного резерва в контрольной группе в бассейнах СМА было в пределах нормы.

У больных ранним нейросифилисом в бассейнах СМА отмечалось снижение реактивности на гиперкапническую пробу на 13 %, гипокапническую – на 26 %.

У больных поздним нейросифилисом в бассейнах СМА отмечалось снижение ре-

активности на гиперкапническую пробу на 23 %, гипокапническую – на 46 % (табл. 3).

Для оценки колебания линейной скорости кровотока от минимальных на фоне гипокапнии до максимальных на фоне гиперкапнии, которые отражают ширину гомеостатического диапазона, использовался индекс вазомоторной реактивности.

ИВМР в контрольной группе был в пределах нормы. ИВМР у больных с ранним нейросифилисом оказался снижен на 43 %. ИВМР у больных с поздним нейросифилисом был снижен на 58 % (рис. 3).

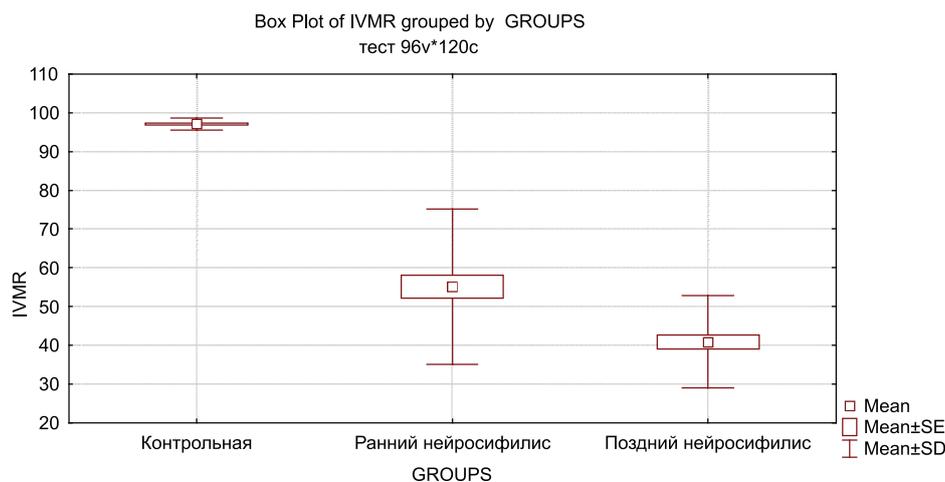


Рис. 3. Индекс вазомоторной реактивности у больных нейросифилисом

Таблица 3

Состояние индексов ИВМР, Кр+ и Кр- у больных нейросифилисом

Группа	СМА		
	Кр+	Кр-	ИВМР
Контрольная	1,44 ± 0,004	0,55 ± 0,002	97,13 ± 0,28
Ранний нейросифилис	1,25 ± 0,013***	0,41 ± 0,01***	55,14 ± 3,02***
Поздний нейросифилис	1,11 ± 0,013***	0,29 ± 0,014***	40,84 ± 1,79***

Примечание: различия достоверны относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Выводы

В результате исследования скоростных показателей кровотока в церебральных сосудах у больных нейросифилисом было обнаружено снижение скоростных характеристик ЛСК (пиковой, средней, диастолической скоростей кровотока). Наиболее выраженные изменения определялись в группе позднего нейросифилиса. Гемодинамически значимой асимметрии мозгового кровотока ни в одной группе обнаружено не было.

Состояние регионального периферического сосудистого сопротивления у больных

нейросифилисом характеризовалось снижением упруго-эластических свойств артерий за счет повышения индексов S/D и RI.

В результате проведенных гипер- и гипокапнических функциональных проб обнаружено снижение реактивности церебральных артерий.

Полученные нами результаты согласуются с данными Самцова А.М. и Одинак О.М. (1998), которые сообщали о гемодинамических нарушениях у больных ранними формами сифилиса. Эти нарушения были обусловлены, по мнению авторов, воспалительным повреждением сосудистой

стенки мозговых артерий инфекционно-аллергического генеза и нарушением регуляции тонуса сосудов со стороны автономной нервной системы, формирующееся вследствие действия цитокинов на диэнцефальные структуры.

Таким образом, проведенное исследование доказывает существование нарушений мозговой гемодинамики у больных нейросифилисом. Ультразвуковая доплерография позволяет объективизировать нарушения мозгового кровообращения у больных нейросифилисом и осуществлять мониторинг состояния сосудистой системы в ходе лечения.

Список литературы

1. Богомолов В.В. Показатели церебральной гемодинамики по данным транскраниальной доплерографии у больных ранними формами сифилиса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2004. – 19 с.
2. Васильева О.А., Казиев А.Х., Кубрин Е.А. Патогенетические особенности течения позднего нейросифилиса // *Фунд. исследования*. – 2012. – № 2. – С. 35–38.
3. Казиев А.Х. Церебральная гемодинамика при ранних и поздних проявлениях нейросифилиса // *Мед. вестн. Северного Кавказа*. – 2010. – № 4. – С. 10–13.
4. Катунин Г.Л. Анализ заболеваемости и качества лабораторной диагностики нейросифилиса в Российской Федерации // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2011. – № 3. – С. 18–26.
5. Колоколов О.В. Сифилитический церебральный васкулит: возможности диагностики // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2012. – № 4. – С. 11–17.
6. Красносельских Т.В. Суставной синдром в практике дерматовенеролога. Нейросифилис / Т.В. Красносельских, К.Н. Монахов, Е.В. Соколовский. – СПб.: Сотис, 2001. – С. 72–270.
7. Кубанова А.А. Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями / И.Н. Авдиенко, А.Л. Бакулев, В.В. Гладко, М.И. Глузмин; под общ. ред. А.А. Кубановой. – М.: ДЭКС-Пресс, 2012. – 112 с.
8. Лукьянов А.М., Михайлова Е.А., Дорох Е.А. Параклинические методы исследования в диагностике нейросифилиса // *Здравоохранение*. – 2009. – № 1. – С. 55–61.
9. Назаренко Т.В. Клинические проявления и функциональное состояние мозговой гемодинамики манифестных форм раннего нейросифилиса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2005. – 17 с.
10. Никоненко М.В. Особенности мозговой гемодинамики при раннем нейросифилисе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2001. – 24 с.
11. Одинак О.М., Никоненко М.В. Нарушения мозгового кровообращения в разные периоды сифилиса // *Журнал дерматовенерологии и косметологии*. – 2001. – № 2. – С. 53–55.
12. Родиков М.В. Нейросифилис // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2009. – № 2. – С. 78–81.
13. Самцов А.В. Нейросифилис. Современные представления о диагностике и лечении: руководство для врачей / А.В. Самцов, И.Н. Теличко, А.М. Иванов [и др.] / под ред. А.В. Самцова. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 128 с.
14. Chung K.Y. Detection of *Treponema pallidum* by polymerase chain reaction in the cerebrospinal fluid of syphilis patients // *Yonsei Medical Journal*. – 1994. – Vol. 35. – no. 2. – P. 190–197.
15. Lukehart S.A. Invasion of the central nervous system by *Treponema pallidum*: implications for diagnosis and treatment // *Ann. Intern. Med.* – 1988. – Vol. 109. – no. 11. – P. 855–862.

References

1. Bogomolov V.V. Pokazateli cerebralnoy gemodinamiki po dannym transkranalnoy dopplerografii u bolnyh rannimi formami sifilisa: Avtoref. dis. kand. med. nauk. Sankt-Peterburg. 2004. 19 p.
2. Vasil'eva O.A., Kaziev A.H., Kubrin E.A. Patogeneticheskie osobennosti techeniya pozdnego nejrosifilisa // *Fund. issledovaniya*. 2012. no. 2. pp. 35–38.
3. Kaziev A.H. Cerebralnaya gemodinamika pri rannih i pozdnh projavlenijah nejrosifilisa // *Med. vestn. Severnogo Kavkaza*. 2010. no. 4. pp. 10–13.
4. Katunin G.L. Analiz zabolevaemosti i kachestva laboratornoj diagnostiki nejrosifilisa v Rossijskoj Federacii // *Vestn. dermatologii i venerologii*. 2011. no. 3. pp. 18–26.
5. Kolokolov O.V. Sifiliticheskij cerebralnyj vaskulit: vozmozhnosti diagnostiki // *Zhurnal nevrologii i psixiatrii*. 2012. no. 4. pp. 11–17.
6. Krasnosel'skih T.V. Sustavnoj sindrom v praktike dermatovenerologa. Nejrrosifil is. / T.V. Krasnosel'skih, K.N. Monahov, E.V. Sokolovskij. SPb.: Sotis, 2001. pp. 72–270.
7. Kubanova A.A. Klinicheskie rekomendacii po vedeniju bolnyh infekcijami, peredavaemymi polovym putem, i urogenitalnyimi infekcijami / I.N. Avdienko, A.L. Bakulev, V.V. Gladko, M.I. Gluzmin; pod obshh. red. A.A. Kubanovoj. M.: DEKS-Press 2012. 112 p.
8. Lukjanov A.M., Mihajlova E.A., Doroh E.A. Paraklinicheskie metody issledovaniya v diagnostike nejrosifilisa // *Zdravoohranenie*. 2009. no. 1. pp. 55–61.
9. Nazarenko T.V. Klinicheskie projavleniya i funkcionalnoe sostojanie mozgovoj gemodinamiki manifestnyh form rannego nejrosifilisa: Avtoref. dis. kand. med. nauk. Novosibirsk. 2005. 17 p.
10. Nikonenko M.V. Osobennosti mozgovoj gemodinamiki pri rannem nejrosifilise: Avtoref. dis. kand. med. nauk. Sankt-Peterburg. 2001. 24 p.
11. Oдинак О.М., Никоненко М.В. Narusheniya mozgovogo krovoobrashheniya v raznye periody sifilisa // *Zhurnal dermatovenerologii i kosmetologii*. 2001. no. 2. pp. 53–55.
12. Rodikov M.V. Nejrrosifilis // *Zhurnal nevrologii i psixiatrii*. 2009. no. 2. pp. 78–81.
13. Nejrrosifilis. Sovremennye predstavleniya o diagnostike i lechenii: rukovodstvo dlja vrachej / A.V. Samcov, I.N. Telichko, A.M. Ivanov [i dr.] / pod red. A.V. Samcova. SPb.: SpecLit, 2006. 128 p.
14. Chung K.Y. Detection of *Treponema pallidum* by polymerase chain reaction in the cerebrospinal fluid of syphilis patients // *Yonsei Medical Journal*. 1994. Vol. 35. no. 2. pp. 190–197.
15. Lukehart S.A. Invasion of the central nervous system by *Treponema pallidum*: implications for diagnosis and treatment // *Ann. Intern. Med.* 1988. Vol. 109. no. 11. pp. 855–862.

Рецензенты:

Корнишева В.Г., д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии, ГОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, НИИ Медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, г. Санкт-Петербург;

Данилов С.И., д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии, ГОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 612.015:618.1/2-008.8

СОДЕРЖАНИЕ МУЦИНОВ (MUC 5 AC, MUC 6) И ТРЕФОИЛОВОГО ПЕПТИДА-3 (TFF-3) В ЭНДОМЕТРИИ И ЦЕРВИКО-ВАГИНАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ У ЖЕНЩИН С ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

Шестопапов А.В., Мирошниченко Ю.А., Рымашевский А.Н.

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения России», Ростов-на-Дону, e-mail: okt@rostgmu.ru

В настоящей работе представлены результаты обследования 50 женщин с физиологической беременностью, родоразрешенных путем кесарева сечения в возрасте 21–40 лет. Беременные были поделены на группы: 25 беременных – первородящие женщины, 25 беременных – повторнородящие. Исследован уровень содержания муцина 5 AC (MUC 5AC), муцина 6 (MUC 6) и треоилового пептида-3 (TFF-3) в эндометрии и цервико-вагинальном секрете методом иммуноферментного анализа. В результате исследования было установлено, что у первородящих женщин факторы мукозальной защиты локализируются преимущественно в нижнем отделе репродуктивного тракта. Тогда как у повторнородящих женщин эти факторы сосредоточены в эндометрии.

Ключевые слова: муцины (MUC5 AC, MUC 6), треоиловый пептид-3 (TFF-3), беременные женщины, эндометрий, цервико-вагинальный секрет

THE CONCENTRATION OF MUCIN (MUC 5 AC, MUC 6) AND TREFOIL PEPTIDE-3 (TFF-3) IN THE ENDOMETRIUM AND CERVICO-VAGINAL SECRETIONS OF WOMEN WITH PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

Shestopalov A.V., Miroshnichenko Y.A., Rymashevskiy A.N.

The Rostov Medical University, Rostov-on-Don, e-mail: okt@rostgmu.ru

In this article are offered the results of examination of 50 women with physiological pregnancy, who were delivered by cesarean section at the age from 21 till 40 years. Are presented women were divided into 2 groups of nulliparous (25 pregnant women) and of multiparous (25 pregnant women). The levels of mucin 5 AC (MUC 5AC), mucin 6 (MUC 6) and trefoil peptide – 3 (TFF-3) in the endometrium and cervico-vaginal secretions were detected by enzyme immunoassay. There was found that in first group factors mucosal protection are localized in the lower reproductive tract. In second group these factors are concentrated in the endometrium.

Keywords: mucins (MUC5 AC, MUC 6) trefoil peptide-3 (TFF-3), pregnant women, the endometrium, cervico-vaginal secretions

На сегодняшний день актуальным вопросом остается родоразрешение путем кесарева сечения. Имеется тенденция к росту частоты выполнения данной операции преимущественно за счет увеличения количества первородящих старше 30 лет и роста сопутствующей соматической патологии [1].

Кесарево сечение часто сопровождается развитием инфекционных осложнений, в основе которых лежит бактериальная обсемененность. Множество исследований посвящено изучению влияния как комменсальной, так и патогенной микрофлоры на исход беременности, а также течение послеоперационного периода. При малой обсемененности дальнейшее развитие воспаления зависит от иммунореактивности организма [2]. На данный момент недостаточно освещены вопросы, связанные с факторами неспецифической защиты репродуктивного тракта беременных, а также влияния самой беременности на эти факторы. Важным моментом в формировании хронического эндометрита является репаративная способность ткани репродуктивного тракта.

В связи с этим особый интерес представляют такие факторы, как муцины

и треоиловые пептиды, которые играют ведущую роль в мукозальной защите и регенерации слизистых. Изучение муцинов и TFFs invitro показало, что они стимулируют эпителиальную реституцию, но клеточно-молекулярный механизм еще до конца не ясен. Дальнейшие исследования в этой области помогут более четко определить роль TFFs и муцинов в механизмах репарации слизистых тканей.

Цель исследования – определить содержание муцинов (MUC 5AC, MUC 6) и треоилового пептида-3 (TFF-3) в эндометрии и цервико-вагинальном секрете у женщин с физиологической беременностью, родоразрешенных путем кесарева сечения.

Материалы и методы исследования

Для выполнения поставленной задачи в исследование включены 50 беременных женщин в сроке 38–40 недель гестации, в возрасте 21–40 лет, рекомендованные на плановое кесарево сечение, находившиеся в МБУЗ «ГБ № 1 им. Семашко Н.А.» г. Ростова-на-Дону, роддоме № 1, подписавших информированное согласие на участие в исследовании. Беременные были поделены на группы. Первую группу составили 25 беременных с первыми родами в анамнезе ($n = 25$). Вторую группу составили 25 беременных

с повторными родами ($n = 25$). Средний возраст беременных в I группе составил $28,5 \pm 4,7$ лет, во II группе – $30,5 \pm 5,9$ лет.

Помимо стандартных исследований выполнялось определение содержания трефоилового фактора-3, муцинов 5 AC и 6. Материалом для исследования служили цервико-вагинальный секрет, забранный перед операцией и эндометрий, забранный сразу же после извлечения плода.

Исследование проводилось методом иммуноферментного анализа наборами компании «Bio Vendor» (Чехия) и «CUSABIO» (Китай). Статистическая обработка выполнена с использованием программы «Statistica 6», методами параметрической и непараметрической статистики по критериям Стьюдента и Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Описательная статистика отображала количественную информацию: среднее значение (M), стандартную ошибку среднего (m).

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании концентрации MUC 5 AC в ткани эндометрия было отмечено достоверное повышение его уровня в группе повторнородящих женщин в сравнении с первородящими ($p < 0,04$). Вместе с тем содержание MUC 6 в группе повторнородящих женщин статистически значимо снижалось относительно группы первородящих женщин ($p < 0,05$). При этом как

в первой, так и во второй группе корреляционная связь между MUC 5 AC и MUC 6 отсутствовала. Наряду с этим концентрация трефоилового пептида-3 в эндометрии, как и в случае с MUC 5 AC, достоверно повышалась во II группе относительно I группы ($p < 0,03$). В группе первородящих женщин присутствовала положительная корреляционная связь между TFF-3 и MUC 5 AC ($r = 0,44$), а во II группе данная связь отсутствовала (табл. 1). Напротив, содержание факторов мукозального барьера в цервико-вагинальном секрете было значительно выше у женщин I группы.

Исследование цервико-вагинального секрета показало тенденцию к повышению концентрации MUC 5 AC у первородящих женщин относительно группы повторнородящих ($p < 0,07$). Также установлено достоверное повышение концентрации MUC 6 в группе первородящих женщин ($p < 0,001$). В I группе женщин была отмечена слабая положительная корреляционная связь между MUC 5 AC и MUC 6 ($r = 0,47$). Вместе с этим в I группе статистически значимым было повышение концентрации трефоилового пептида-3 ($p < 0,02$) и положительная корреляция между TFF-3 и MUC 6 ($r = 0,76$) (табл. 2).

Таблица 1

Содержание муцинов (MUC 5AC и MUC 6) и трефоилового пептида -3 (TFF-3) в ткани эндометрия

Группы	Муцин 5 AC (MUC 5AC), нг/мл			Муцин 6 (MUC 6), нг/мл			Трефоиловый пептид -3 (TFF-3), нг/мл		
	M ± m	Me	[25–75] перцентили	M ± m	Me	[25–75] перцентили	M ± m	Me	[25–75] перцентили
I	201,15 ± 23,78	168,61	119,62–308,72	63,03 ± 3,14	66,63	62,24–68,21	1,90 ± 0,08	1,82	1,68–2,17
II	288,58 ± 30,24*	257,60	187,90–374,14	51,62 ± 4,76*	64,98	38,08–67,99	2,22 ± 0,1*	2,11	1,92–2,70

Примечание. * – различия статистически значимы в сравнении с первородящими.

Таблица 2

Содержание муцинов (MUC 5AC и MUC 6) и трефоилового пептида-3 (TFF-3) в цервико-вагинальном секрете

Группы	Муцин 5 AC (MUC 5AC), нг/мл			Муцин 6 (MUC 6), нг/мл			Трефоиловый пептид -3 (TFF-3), нг/мл		
	M ± m	Me	[25–75] перцентили	M ± m	Me	[25–75] перцентили	M ± m	Me	[25–75] перцентили
I	51,03 ± 11,67	52,62	14,85–76,46	23,77 ± 4,97	14,32	12,01–32,73	2,42 ± 0,18	2,22	1,86–3,09
II	14,54 ± 7,8*	10,17	2,88–13,0	11,71 ± 29,18*	6,89	4,68–7,99	1,65 ± 0,19*	1,80	1,04–2,19

Примечание. * – различия статистически значимы в сравнении с первородящими.

Как известно, совместная локализация муцинов и трефоиловых пептидов имеет функциональную значимость. В литературных данных указывается, что TFF-3 в ком-

плексе с муцинами не увеличивают вязкость слизи, но образуют в ней комплексы. Таким образом, слизь с низкой вязкостью, которая имеется в репродуктивном тракте,

выполняет свои функции по удалению бактерий и микрочастиц. Также к функциональным свойствам TFF-3 и муцинов относится увеличение трансэпителиального сопротивления, то есть повышение резистентности эпителиального барьера [3].

Данные, полученные в ходе исследования, наглядно показывают, что в группе первородящих женщин, матка которых была интакта до беременности, факторы неспецифической защиты локализируются преимущественно в нижнем репродуктивном тракте. Тогда как у повторнородящих женщин, имеющих в анамнезе оперативное родоразрешение, эти факторы локализируются, главным образом, в матке.

Можно предположить, что действие муцинов и трефоилового пептида, локализуемых в нижнем отделе репродуктивного тракта, направлено на ограничение распространения микроорганизмов и сохранение стерильности верхнего отдела репродуктивного тракта.

Как известно, после оперативного родоразрешения часто формируется хронический эндометрит. И как при любом воспалении происходит экспрессия провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 β и ФНО α , которые в свою очередь являются индукторами TFF-3[4]. Это, вероятнее всего, и объясняет повышенное содержание муцина 5AC и трефоилового фактора-3 в эндометрии у повторнородящих женщин. Также обращает на себя внимание «мотогенный» эффект TFF-3[5], то есть участие в миграции эпителиальных клеток, что актуально при оперативном вмешательстве при восстановлении эндометрия.

Закключение

У первородящих женщин в цервико-вагинальном секрете отмечается повышение содержания MUC 5AC и TFF-3, MUC 6. Вместе с тем наблюдается положительная корреляция между TFF-3 и MUC 6, MUC 5AC и MUC 6. В эндометрии повышена концентрация MUC 6, но снижена MUC 5AC и TFF-3. Отмечается положительная корреляция между MUC 5AC и TFF-3.

У повторнородящих женщин в цервико-вагинальном секрете отмечается снижение концентрации MUC 5AC и TFF-3, MUC 6. Тогда как в эндометрии наблюдается повышение концентрации MUC 5AC и TFF-3, но

снижение MUC 6. Корреляция между показателями как в секрете, так и в эндометрии отсутствует.

Таким образом, после оперативного родоразрешения наблюдается транслокация факторов мукозальной защиты из нижнего отдела репродуктивного тракта в верхние.

Список литературы

1. Айламазян Э.К. Кесарево сечение: общие проблемы и региональные особенности // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – № 10. – С. 3–10.
2. Лебедева О.П. Роль системы врожденного иммунитета, генетических факторов и антиоксидантных ферментов в патогенезе послеродового эндометрита // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2011. – Т. 15, № 16. – С. 95–99.
3. Gipson I.K. Human Endocervical Mucins // Ernst Schering Research Foundation Workshop. – 2005. – Vol. 52. – P. 219–244.
4. Ute Schulze, Ulrike Hampel. et al. Fresh and cryopreserved amniotic membrane secrete the trefoil factor family peptide 3 that is well known to promote wound healing // Histochem Cell Biol. – 2012. – Vol. 138. – P. 243–250.
5. Antje Wiede, Margitta Hinz. et al. Synthesis and localization of the mucin-associated TFF-peptides in the human uterus // Cell Tissue Res. – 2001. – Vol. 303. – P. 109–115.

References

1. Ajlamazyan E.K. Kesarevo sечenie: obshhie problemy i regionalnye osobennosti // Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej. 2005. no. 10. pp. 3–10.
2. Lebedeva O.P. Rol' sistemy vrozhdennoho immuniteta, geneticheskix faktorov i antioksidantnyx fermentov v patogeneze poslerodovogo endometrita // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. 2011. T. 15, no. 16. pp. 95–99.
3. Gipson I.K. Human Endocervical Mucins // Ernst Schering Research Foundation Workshop. 2005. Vol. 52. pp. 219–244.
4. Ute Schulze, Ulrike Hampel. et al. Fresh and cryopreserved amniotic membrane secrete the trefoil factor family peptide 3 that is well known to promote wound healing // Histochem Cell Biol. 2012. Vol. 138. pp. 243–250.
5. Antje Wiede, Margitta Hinz. et al. Synthesis and localization of the mucin-associated TFF-peptides in the human uterus // Cell Tissue Res. 2001. Vol. 303. pp. 109–115.

Рецензенты:

Шкурат Т.П., д.б.н., профессор, директор НИИ биологии ЮФУ, ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону;

Чистяков В.А., д.б.н., доцент, заведующий лабораторией экспериментального мутагенеза НИИ биологии ЮФУ, ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 575.191:616.895

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА PIP5K2A С ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

¹Вялова Н.М., ^{1,2}Федоренко О.Ю., ¹Лосенков И.С., ¹Симуткин Г.Г.,
^{1,2}Иванова С.А., ¹Бохан Н.А.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск, e-mail: Natarakitina@yandex.ru;
²Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

Изучение киназных сигнальных путей представляет собой новое и быстро развивающееся направление в области нейрональной сигнальной трансдукции, которое связано с нарушением нейробиологических процессов при психических расстройствах. Нарушения функций фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназы типа II-альфа (PIP5K2A) в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена могут быть вовлечены в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при депрессивных расстройствах. Целью исследования явилось выявление ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с депрессивными расстройствами. Обследованы 218 пациентов с депрессивными расстройствами (F31-F33, МКБ-10) в возрасте от 20 до 60 лет. Группу контроля составили 85 психически и соматически здоровых доноров, соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе больных. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью флуоресцентных Taq-man-зондов с использованием наборов реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США). Полученные результаты не подтверждают нашу гипотезу об ассоциации полиморфных rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с развитием депрессивных расстройств. Возможно, это связано с недостаточно большими выборками пациентов и здоровых доноров, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

Ключевые слова: фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназа типа II-альфа, PIP5K2A, депрессивные расстройства

STUDY OF ASSOCIATION OF PIP5K2A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE DISORDERS

¹Vyalova N.M., ^{1,2}Fedorenko O.Y., ¹Losenkov I.S., ¹Simutkin G.G.,
^{1,2}Ivanova S.A., ¹Bokhan N.A.

¹Mental Health Research Institute SB RAMSci, Tomsk, e-mail: Natarakitina@yandex.ru;
²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk

Study of kinase signaling pathways which involved in neurobiological processes dysregulation in psychiatric disorders is a rapidly developing field of research. Dysfunction of phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase 2-alpha (PIP5K2A) as a result of high frequency of its functional gene polymorphisms can be pathogenetic mechanism underlying a disturbance of dopaminergic and glutamatergic neurotransmission in depressive disorders. The aim of this study was to find an association of PIP5K2A gene polymorphisms rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 with depressive disorders. 218 patients with depressive disorders (F31-F33, ICD-10) in an age of 20 to 60 years were investigated. Control group was presented by 85 physically and mentally healthy donors. For genotyping was chosen real-time PCR based on Taq-man probes and TaqMan® SNP genotyping assay kits (Applied Biosystems, USA). Research findings don not confirm our hypothesis that PIP5K2A gene polymorphisms rs943190, rs1417374, rs11013052 are associated with depressive disorders. Possible reason could be insufficiently large size of groups of patients and healthy donors, further studies needed.

Keywords: phosphatidylinositol-4-phosphste 5-kinase type II-alpha, PIP5K2A, depressive disorders

Нейробиологические и молекулярно-генетические исследования патогенеза депрессии представляют собой быстро развивающееся направление в области биологической психиатрии в связи с высокой актуальностью и социальной значимостью психических и поведенческих расстройств [3, 5, 8]. Результаты молекулярных и фармакологических исследований указывают на участие гена, кодирующего фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназу типа II-альфа (PIP5K2A) в развитии шизофрении и биполярных аффективных расстройств [2, 4, 6, 11]. На клеточном уровне PIP5K2A является ферментным компонентом метаболизма инозитфосфата, который был рассмотрен как потенциальная мишень

для терапевтического действия у пациентов с биполярными аффективными расстройствами [9]. Нарушение функционирования PIP5K2A в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена может быть вовлечено в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при депрессивных расстройствах. Возможное участие PIP5K2A киназы в патогенезе депрессий подтверждают данные P. Stopkova с соавторами о локализации числа генов, вовлеченных в процессы синтеза и дефосфорилирования фосфатидилинозитол 4,5-бифосфата (PIP₂) в регионах генома, ассоциированных с биполярными

расстройствами, включая 10p12, 21q22 и 22q11, а также другие [11]. Механизмы, лежащие в основе терапевтического эффекта лития при хроническом лечении биполярных расстройств, связывают с дифференциальной экспрессией генов, ассоциированных с фосфоинозитидным метаболизмом, включая и PIP5K2A [10].

В связи с открытием в последние годы новых механизмов функционирования PIP5K2A (влияние на KCNQ каналы и глутаматные транспортеры EAAT3) [6; 7], мы предполагаем, что нарушение функций PIP5K2A в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена могут быть вовлечены в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при социально значимых психических и поведенческих расстройствах, в том числе и депрессивных.

Целью нашего исследования являлось изучение ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с депрессивными расстройствами.

Материалы и методы исследования

Нами были обследованы 218 пациентов с депрессивными расстройствами (F31-F33, МКБ-10) русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область) в возрасте от 20 до 60 лет. Пациенты проходили лечение в отделении аффективных состояний клиник ФГБУ НИИПЗ СО РАМН (научный руководитель отделения – д.м.н., профессор Е.Д. Счастный). Группу контроля составили 85 психически и соматически здоровых доноров русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область), соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе больных, не имеющих хронических заболеваний и не стоящих на диспансерном учете, без признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний на момент обследования. Отбор здоровых лиц планируется проводить, используя углубленный опрос с помощью специальной анкеты, разработанной в ФГБУ НИИПЗ СО РАМН.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натошак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. ДНК выделяли из лейкоцитов цельной периферической крови индивидов. Для получения ДНК использовался стандартный фенол-хлороформный микрометод.

В рамках исследования было проведено генотипирование 218 больных с депрессивными расстройствами по 4 полиморфным вариантам гена PIP5K2A: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816. Генотипирование проводили методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с помощью флуоресцентных Taq-манзондов с использованием наборов реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США). Амплификацию ДНК проводили в объеме реакционной смеси, равной 15 мкл и содержащей 1 мкл ДНК матрицы и 14 мкл реакци-

онной смеси набора в следующем режиме: первичный прогрев и регистрация флуоресцентных сигналов – 30 с при 60°C; начальная денатурация – 10 мин при 95°C; затем 45 циклов: денатурация – 15 с при 95°C; отжиг – 15 с при 60°C для пар праймеров; элонгация – 45 с при 60°C; регистрация флуоресцентных сигналов – 15 с при 60°C; после чего конечная элонгация и регистрация флуоресцентных сигналов в конечной точке – 30 с при 60°C. Для проведения полимеразно-цепной реакции использовали Real-Time ДНК амплификатор «Step One Plus» фирмы Applied Biosystems (США).

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованному полиморфному локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ [1].

Результаты исследования и их обсуждение

Для выбора функционально значимых SNP в гене PIP5K2A использовали биоинформационные программы для поиска и оценки фенотипической значимости SNPs. Критериями отбора послужили: расположение SNP в промоторной или интронной области гена, аллельная частота, изменение количества сайтов связывания для факторов транскрипции, содержащих анализируемые SNP. После проведенного отбора в поле зрения попали следующие полиморфные варианты гена PIP5K2A: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816.

Анализ исследуемых полиморфных вариантов гена PIP5K2A в контрольной выборке показал соответствие наблюдаемого распределения генотипов для всех изученных вариантов гена ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. Такое равновесие говорит о том, что на генетическую структуру популяции по изучаемым полиморфизмам не оказывают никакого влияние различные воздействия (не действует отбор, не идет мутационный процесс, отсутствует обмен особями с другими популяциями, не происходит дрейф генов, все скрещивания случайны).

Нами были определены частоты полиморфизмов гена PIP5K2A у пациентов с депрессивными расстройствами и здоровых лиц. В группе контроля частоты генотипов по полиморфному варианту rs943190 гена PIP5K2A составили: СС – 19,90%, СТ – 52,50%, ТТ – 27,60%, что соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 1,03$, $p = 0,31$). В группе больных с депрессивными расстройствами частота генотипа СС составила 15,3%, СТ – 51,8% и ТТ – 32,9%. Достоверных различий между группами больных депрессивными расстройствами

и здоровых доноров в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 1,310, p = 0,51$) и аллелей ($\chi^2 = 0,53, p = 0,47$) полиморфного варианта rs943190 гена PIP5K2A выявлено не было.

В отношении полиморфного варианта rs1417374 гена PIP5K2A в группе больных депрессивными расстройствами были получены следующие частоты генотипов: AA – 9,40%, AG – 44,70%, GG – 45,90%, что соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,21, p = 0,65$). В группе контроля частоты генотипов по данному полиморфному варианту составили: AA – 10,40%, AG – 48,90%, GG – 40,70%, что также соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,001, p = 1$). Статистических различий между группами в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 0,670, p = 0,71$) полиморфного варианта rs1417374 гена PIP5K2A не обнаружено.

Анализ распределения генотипов полиморфного варианта rs1132816 гена PIP5K2A

у больных депрессивными расстройствами выявил следующие частоты: AA – 55,30%, AG – 40,00%, GG – 4,70%, что соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,01, p = 0,94$). В группе контроля частоты генотипов по данному полиморфному варианту составили: AA – 51,60%, AG – 43,90%, GG – 4,50%, что также соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 1,62, p = 0,2$). Достоверных различий между группами больных депрессивными расстройствами и здоровых доноров в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 0,382, p = 0,82$) полиморфного варианта rs1132816 гена PIP5K2A выявлено не было.

Оценка распределения частот генотипов полиморфного варианта rs11013052 гена PIP5K2A показала отсутствие различий между группами больных депрессивными расстройствами и здоровых доноров (таблица).

Распределение генотипов полиморфных вариантов гена PIP5K2A в группах больных депрессивными расстройствами и здоровых индивидов

Ген	Генотипы	Контроль	Больные	χ^2 (p)
rs943190	CC	19,9%	15,3%	1,310 $p = 0,51$
	CT	52,5%	51,8%	
	TT	27,6%	32,9%	
rs1417374	AA	10,4%	9,4%	0,670 $p = 0,71$
	AG	48,9%	44,7%	
	GG	40,7%	45,9%	
rs11013052	AA	52,5%	56,5%	0,391 $p = 0,53$
	AC	47,5%	43,5%	
rs1132816	AA	51,6%	55,3%	0,382 $p = 0,82$
	AG	43,9%	40,0%	
	GG	4,5%	4,7%	

Таким образом, при сравнении больных с депрессивными расстройствами и здоровых лиц не выявлено ассоциации ни с одним из исследуемых полиморфных вариантов гена PIP5K2A: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816, что может быть связано с особенностями генофонда обследуемой популяции. Полученные результаты не подтверждают нашу гипотезу об ассоциации полиморфных вариантов гена PIP5K2A с развитием депрессивных расстройств. Возможно, это связано с недостаточно большими выборками пациентов и здоровых доноров, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

Заключение

Показано отсутствие ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A

с депрессивными расстройствами в русской популяции Сибирского региона.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФЦП «Разработка комплекса маркеров основных социально значимых психических расстройств на основе изучения молекулярно-генетических механизмов дизрегуляции нейрональных протеинкиназных сигнальных путей» соглашение от 24 августа 2012 г. № 8140 и гранта РФФИ 11-04-01102-а «Изучение ассоциации полиморфизма гена PIP5K2A киназы с социально значимыми психическими и поведенческими расстройствами».

Список литературы

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
2. Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Смирнова Л.П., Семке А.В. Поиск биомаркеров и разработка фармакогенетических подходов к персонализированной терапии больных

шизофренией // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2013. – № 1. – С. 12–16.

3. Иванова С.А., Гуткевич Е.В., Семке В.Я., Рядовая Л.А., Ракитина Н.М., Перчаткина О.Э., Епанчинцева Е.М. Методологические подходы к оценке биологических факторов психической дезадаптации (на примере невротических расстройств): методические рекомендации. – Томск, 2006. – 33 с.

4. Федоренко О.Ю., Рудиков Е.В., Гаврилова В.А., Боярко Е.Г., Семке А.В., Иванова С.А. Ассоциация (N251S)-PIP5K2A с расстройствами шизофренического спектра: исследование русской популяции Сибири // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – Т. 113. – № 5. – С. 58–61.

5. Семке В.Я., Гуткевич Е.В., Иванова С.А. Психосоциальные и биологические факторы психической дезадаптации (на модели невротических расстройств). – Томск, 2008. – 204 с.

6. Fedorenko O., Strutz-Seebohm N., Henrion U., Ureche O. N., Lang F., Seebohm G., Lang U. E. A schizophrenia-linked mutation in PIP5K2A falls to activate neuronal M channels // *Psychopharmacology*. – 2008. – Vol. 199, № 1. – P. 47–54.

7. Fedorenko O., Tang C., Sopjani M., Föller M., Gehring E. M., Strutz-Seebohm N., Ureche O. N., Lang F., Seebohm G., Ivanova S., Semke A., Lang U. E. PIP5K2A-dependent regulation of excitatory amino acid transporter EAAT3 // *Psychopharmacology*. – 2009. – Vol. 206, № 3. – P. 429–435

8. Ivanova S.A., Semke V.Ya., Vetlugina T.P., Rakitina N.M., Kudyakova T.A., Simutkin G.G. Signs of apoptosis of immunocompetent cells in patients with depression // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2007. – Т. 37. – № 5. – P. 527–530.

9. Jamra R.A. Association study between genetic variants at the PIP5K2A gene locus and schizophrenia and bipolar affective disorder // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. – 2006. – Vol. 141. – P. 663–665.

10. Seelan R.S., Khalyfa A., Lakshmanan J., Casanova M.F., Parthasarathy R.N. Deciphering the lithium transcriptome: microarray profiling of lithium-modulated gene expression in human neuronal cells // *Neuroscience*. – 2008. – Vol. 151(4). – P. 1184–1197.

11. Stopkova P., Saito T., Fann C.S., Papolos D.F. Polymorphism screening of PIP5K2A: a candidate gene for chromosome 10p-linked psychiatric disorders // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. – 2003. – Vol. 123B(1). – P. 50–58.

References

1. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. Moscow: Praktika, 1999. 459 p.

2. Ivanova S.A., Fedorenko O.Y., Smirnova L.P., Semke A.V. *Sibirskiy vestnik psikiatrii i narkologii*, 2013, no. 1, pp. 12–16.

3. Ivanova S.A., Gutkevich E.V., Semke V.Y., Ryadovaya L.A., Rakitina N.M., Perchatkina O.E., Epanchincheva E.M. Methodological approaches to assessment of biological factors of mental disadaptation (on example of neurotic disorders): methodical recommendations. Tomsk, 2006, 33 p.

4. Fedorenko O., Rudikov E.V., Gavrilova V.A., Boyarko E.G., Semke A.V., Ivanova S.A. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*, 2013, T. 113, no. 5, pp. 58–61.

5. Semke V.Y., Gutkevich E.V., Ivanova S.A. Psychosocial and biological factors of mental disadaptation (on model of neurotic disorders). Tomsk, 2008, 204 p.

6. Fedorenko O., Strutz-Seebohm N., Henrion U., Ureche O. N., Lang F., Seebohm G., Lang U. E. *Psychopharmacology*, 2008, Vol. 199, no. 1, pp. 47–54.

7. Fedorenko O., Tang C., Sopjani M., Föller M., Gehring E. M., Strutz-Seebohm N., Ureche O.N., Lang F., Seebohm G., Ivanova S., Semke A., Lang U.E. *Psychopharmacology*, 2009, Vol. 206, no.3, pp. 429–435

8. Ivanova S.A., Semke V.Ya., Vetlugina T.P., Rakitina N.M., Kudyakova T.A., Simutkin G.G. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2007, T. 37, no. 5, pp. 527–530.

9. Jamra R.A. Association study between genetic variants at the PIP5K2A gene locus and schizophrenia and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2006, Vol. 141, pp. 663–665.

10. Seelan R.S., Khalyfa A., Lakshmanan J., Casanova M.F., Parthasarathy R.N. *Neuroscience*, 2008, Vol. 151(4), pp. 1184–1197.

11. Stopkova P., Saito T., Fann C.S., Papolos D.F. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003, Vol. 123B(1). pp. 50–58

Рецензенты:

Аксенов М.М., д.м.н., профессор кафедры психологии развития личности, ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Томск;

Невидимова Т.И., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.089.843:611.8

ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СИНАПСОВ МШИСТЫХ ВОЛОКОН ГИППОКАМПОВОЙ ФОРМАЦИИ В НОРМЕ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ЦИНК-ЙОД-ОСМИЕВОЙ ИМПРЕГНАЦИИ

¹Журавлева З.Н., ¹Ермаков А.А., ²Журавлев Г.И.

¹ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН»,
Пуццино, e-mail: zhuravleva@iteb.ru;

²ФГБУН «Институт биофизики клетки РАН», Пуццино, e-mail: genzhur1@rambler.ru

Проводили ультраструктурное изучение гигантских синаптических окончаний аксонов гранулярных клеток гиппокамповой формации (мшистых волокон) в норме и в гетеротопических трансплантатах зубчатой фасции после цинк-йод-осмиевой (ЦИО) импрегнации. Для аллотрансплантации в соматосенсорную область неокортекса взрослых крыс использовали закладку зубчатой фасции из 20-дневных плодов; трансплантаты развивались в течение 5 месяцев. Показано, что в обеих экспериментальных группах гигантские бутоны содержали гетерогенную популяцию синаптических везикул: часть (более 40%) малых светлых пузырьков реагировала с ЦИО-смесью, остальные малые пузырьки, а также большие везикулы с электроноплотной сердцевинкой, митохондрии и постсинаптические области были ЦИО-негативны. На основании обнаруженных особенностей окрашивания синаптических органелл в гигантских синапсах и анализа соответствующей литературы можно предположить, что ЦИО-позитивные органеллы имеют физиологическое значение. Кроме того, сравнительная оценка показала, что по общему числу везикул и количеству ЦИО-позитивных органелл синаптические окончания трансплантатов значительно отстают от синапсов интактного гиппокампа. Полученные данные свидетельствуют о сниженной функциональной активности гигантских синапсов в нейротрансплантатах.

Ключевые слова: гетеротопический трансплантат, гиппокамповая формация, мшистые волокна, гигантские синаптические окончания, синаптические везикулы, ЦИО-импрегнация

CYTOCHEMICAL STUDY OF MOSSY FIBER SYNAPSES IN INTACT HIPPOCAMPAL FORMATION AND AFTER TRANSPLANTATION BY THE ZINC- IODIDE-OSMIUM IMPREGNATION

¹Zhuravleva Z.N., ¹Ermakov A.A., ²Zhuravlev G.I.

¹*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino,*
e-mail: zhuravleva@iteb.ru;

²*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino*

Using electron microscopy and zinc-iodide-osmium (ZIO) impregnation, we studied giant synaptic endings of the granule cell axons (mossy fibers) in the intact hippocampal formation and heterotopic fascia dentate transplants. The dentate tissue anlage dissected from the brain of 20-day-old rat fetuses was used for allotransplantation into somatosensory neocortex of the adult Wistar rats. The grafts were survived during 5 months. Ultrastructural and cytochemical investigations revealed heterogeneous population of the synaptic vesicles within the giant boutons in both experimental and norm cases. The reaction product was recognized in a part (over 40%) of the small clear synaptic vesicles; the remaining small vesicles and all large dense core ones were ZIO-negative. The synaptic mitochondria and postsynaptic densities were also not stained with the ZIO mixture. On the basis of above staining features of synaptic organelles in the mossy giant synapses and an analysis of the available literature reports, can be proposed that ZIO-positive organelles have a physiological significance. In addition, the comparative estimation showed that both the total number of vesicles and number of ZIO-positive organelles per unit area (1 μm^2) of synaptic bouton were significantly lower in the grafts than in normal hippocampal formation. The data obtained demonstrate an impaired functional activity of the graft's mossy fiber synapses.

Keywords: heterotopic transplant, hippocampal formation, mossy fibers, giant synaptic endings, synaptic vesicles, ZIO-impregnation

Гиппокамповая формация мозга, имеющая большое значение для процессов обучения и памяти, состоит из собственно гиппокампа и зубчатой фасции. Гранулярные нейроны зубчатой фасции получают информацию из неокортекса и передают ее в гиппокамп через свои аксоны, так называемые мшистые волокна. Пучки тонких немиелинизированных аксонов следуют вдоль слоя апикальных дендритов пирамидных нейронов поля СА3 и образуют на них гигантские синаптические комплексы. Нервные

элементы этой афферентной системы гиппокампа являются чрезвычайно пластичными и подвергаются структурной и функциональной перестройке в ответ на разные внутренние и внешние воздействия [11]. Способность нейронов зубчатой фасции к пластической реорганизации проявляется также в том, что они могут генерироваться в течение всей жизни и функционально встраиваться в уже существующие нейронные сети [15]. В условиях гетеротопической нейротрансплантации они формируют

синаптические взаимодействия с нейронами, с которыми в норме не контактируют [3, 4]. По-видимому, столь высокая функциональная пластичность гранулярных нейронов зубчатой фасции обусловлена их сложным и гетерогенным нейрохимическим составом. Основным нейромедиатором синаптических окончаний гранулярных нейронов является глутамат. Во время постнатального развития и при повышенной активности дополнительно к глутамату в них экспрессируется гамма-аминомасляная кислота [9]. Гранулярные клетки, их аксоны и синаптические терминалы имеют самое большое в мозге количество ионов цинка. Кроме того, они содержат нейропептидные ко-трансммиттеры и богаты ростовыми факторами [10]. Ранее мы показали, что при формировании синапсов мшистых волокон с несвойственными им в норме нейрональными мишенями роль нейропептидных котрансммиттеров значительно возрастает [3, 4]. **Целью настоящей работы** было изучение нейрохимических особенностей синапсов мшистых волокон в норме и после нейротрансплантации с помощью цинк-йод-осмиевой импрегнации.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на крысах породы Вистар в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009. Объектами для изучения были гиппокамповая формация интактного мозга и гетеротопические трансплантаты зубчатой фасции. Донорским материалом для трансплантации служили закладки фасции 20-дневных плодов, которые выделяли в растворе Игла под стереомикроскопом. В качестве реципиентов использовали крыс-самцов ($n = 5$) возрастом 3 мес. Трансплантацию производили в полость в соматосенсорной области неокортекса, где эмбриональная ткань развивалась в течение 5 месяцев. Более детально процедура нейротрансплантации описана ранее [1, 2]. Образцы ткани, взятые из нормального мозга (зона окончания мшистых волокон – *str. lucidum*) и из нейротрансплантатов, фиксировали 4% раствором формальдегида на фосфатном буфере, разрезали его на кусочки объемом 1 мм³ и дофиксировали 6,25% раствором глутарового альдегида. После промывки в трис-НСI буфере образцы импрегнировали в течение 16 час. при 4°C в цинк-йод-осмиевой смеси, которую готовили следующим образом. Раствор А – 6 г цинка в порошке и 2 г перекристаллизованного йода растворяли в 40 мл дистиллированной воды. Раствор Б – 4 мл фильтрованного раствора А доводили 4 мл трис-НСI до pH 7,4. Перед употреблением к 8 мл полученной смеси добавляли 2 мл 2% раствора четырехокси осмия. Затем материал обезживали в спиртах восходящей крепости и абсолютном ацетоне и заливали в эпон 812. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе. Гигантские синапсы мшистых волокон идентифицировали благодаря большим размерам синаптической терминали (до 4–6 мкм) и другим структурным признакам,

известным из литературы и собственных наблюдений [1, 14]. Сравнительный количественный анализ общего числа синаптических везикул и ЦИО-положительных органелл в гигантских синапсах гиппокамповой формации *in situ* и нейротрансплантатов проводили с помощью компьютерной программы UTHSCSA Image Tool. Для этого использовали отцифрованные электронно-микроскопические изображения гигантских синаптических бутонов и производили подсчет на площади 1 мкм² (по 25 квадратов в 4 разных вариантах эксперимента); достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

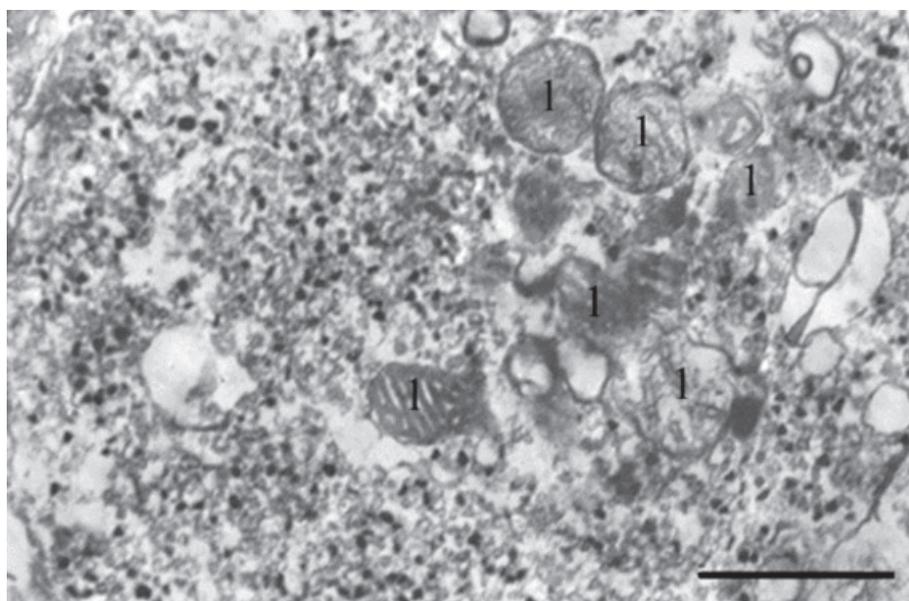
Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании полутонких срезов под световым микроскопом было обнаружено, что цинк-йод-осмиевый реагент проник в кусочки ткани не на всю глубину. Поэтому для электронной микроскопии использовали только поверхностные участки образцов. Сохранность ткани была хорошей и гигантские синаптические окончания мшистых волокон легко распознавались среди других нервных элементов как в контрольном, так и в экспериментальном материале. Огромные аксонные расширения диаметром около 5–6 мкм, густо заполненные синаптическими пузырьками, широко распластывались по апикальным дендритам пирамидных нейронов гиппокампа, образуя с ними преимущественно симметричные адгезивные соединения. Вместе с тем мшистые волокна формировали синаптические контакты с асимметричными активными зонами на инвагинированных в терминали дендритных шипиках. Хотя в трансплантированной ткани зубчатой фасции наблюдались некоторые нетипичные для нормального гиппокампа функциональные взаимодействия, их изучение не входило в задачу настоящей работы. Основные особенности ультраструктуры гетеротопических нейротрансплантатов были нами описаны ранее [1]. Электронно-микроскопическое изучение обоих типов образцов после проведения ЦИО-импрегнации показало, что продукт реакции выявлялся не только в гигантских аксональных бутонах, но и в более мелких синаптических профилях. К сожалению, достоверно определить происхождение синаптических бутонов малого размера не представлялось возможным, и они для настоящего анализа не использовались, хотя и могли быть перерезанными фрагментами крупных терминалей мшистых волокон.

Характер распределения продукта импрегнации в гигантских синаптических окончаниях нормальной гиппокамповой формации и в нейротрансплантатах зубчатой фасции был аналогичен. При этом была выявлена определенная специфичность

проведенной реакции, выражающаяся в том, что реакционный продукт четко ассоциировался с малыми (около 40 нм в диаметре) светлыми синаптическими пузырьками, в то время как митохондрии и постсинаптические плотности были всегда негативны (рисунок). Большие везикулы диаметром 80–120 нм с осмиофильной сердцевиной, которые в гигантских синапсах мшистых волокон являются вместилищем нейропептидных ко-трансмиттеров, также никогда не реагировали с ЦИО-реагентом. Гранулы ЦИО-преципитата по размеру варьировались от 20 до 60 нм в диаметре и распределялись по аксоплазме не равномерно, а формировали не очень выраженные скопления. Редкие везикулы с положительной реакцией наблюдались также в непосредственном контакте с плазматической мембраной. В некоторых синаптических окончаниях, как правило, имеющих более осмиофильный матрикс, окрашенные везикулы концентрировались в области активных зон. В большинстве синаптических везикул продукт реакции плотно заполнял внутренний объем, а особенно крупные, грубые конгломераты неправильной формы даже выходили за границу пузырьков. В то же время некоторые пузырьки были заполнены продуктом реакции только частично, а иногда ЦИО-окрашенные зерна точечного размера

лишь контурировали везикулярные мембраны. Часть окрашенных пузырьков имела овальную форму, напоминая эллипсоидные синаптические везикулы, которые типичны для тормозных синапсов, хранящих гамма-аминомасляную кислоту. Возможно, окрашенные эллипсоидные везикулы в нашем материале также имеют отношение к хранению тормозного нейромедиатора. В пользу такого предположения говорят данные об обнаружении в системе мшистых волокон помимо основного нейромедиатора глутамата гамма-аминомасляной кислоты, количество которой увеличивается при развитии и функциональной нагрузке [9]. Визуальная оценка наших препаратов указывает на возрастание числа эллипсоидных везикул в гигантских синапсах трансплантированной зубчатой фасции. Взаимодействие ЦИО-реагента с везикулами разной нейромедиаторной природы свидетельствует о том, что он имеет химическое сродство не к самим трансмиттерам, а к неким субстратам, связанным с их метаболизмом или функционированием. Кроме синаптических пузырьков реакционный продукт выявлялся в тубулярных цистернах эндоплазматического ретикула и лизосомоподобных телах, которые присутствуют в пресинаптических бутонах мшистых волокон и участвуют в рециклировании везикул.



Гигантский синаптический бутон мшистого волокна из гиппокамповой формации in situ. Темные гранулы – ЦИО-положительные синаптические везикулы; 1 – ЦИО-негативные митохондрии. Масштаб – 0,5 мкм

Сравнительная количественная оценка везикулярного состава в расчете на 1 мкм² поперечных сечений гигантских окончаний в нормальном гиппокампе и в транс-

плантатах показала уменьшение числа как ЦИО-положительных, так и ЦИО-отрицательных органелл в трансплантированной ткани. Наиболее заметная разница средних

величин была обнаружена при подсчете числа ЦИО-положительных гранул ($101,1 \pm 5,5$ в норме и $83,0 \pm 3,0$ в нейротрансплантатах; $p < 0,01$). Менее значимые различия двух экспериментальных групп были выявлены при сравнении общего пула синаптических пузырьков ($226,3 \pm 9,0$ в норме и $200,1 \pm 6,1$ в нейротрансплантатах; $p \leq 0,025$). При этом доля ЦИО-положительных пузырьков в общей популяции синаптических везикул также была ниже в категории синапсов из трансплантатов зубчатой фасции. Если в синаптических окончаниях нормального гиппокампа она составляла $0,450 \pm 0,012$ (или 45%), то в синапсах нейротрансплантатов – только $0,414 \pm 0,013$ (или 41,4%); различия достоверны при $p \leq 0,05$. Известно, что число везикул в терминальных бутонах наряду с другими параметрами синаптических окончаний коррелирует с функциональной активностью синапсов [13]. Проведенный нами анализ общего количества везикул свидетельствует о том, что гигантские синапсы, развивающиеся в гетеротопических трансплантатах зубчатой фасции, функционируют менее активно, чем таковые в мозге *in situ*. Кроме того, из полученных данных следует, что метаболиты синаптических везикул, вступающие в реакцию с ЦИО-смесью, также ответственны за интенсивность нейрореперации в этом типе синапсов.

Химическая основа окрашивания ЦИО-реагентом пока окончательно не ясна. Сначала его предлагали применять для обнаружения ацетилхолина в синаптических пузырьках нервно-мышечных синапсов [5]. Затем другие авторы обнаружили, что при определенных условиях в симпатических ганглионарных нервах он выявляет моноаминергические нейромедиаторы [7]. Рентгено-структурный анализ ЦИО-преципитата показал, что осмиевокислый цинк ассоциируется с субклеточными местами, обладающими высокой аффинностью к бивалентным ионам кальция. При этом ЦИО-смесь взаимодействует с этими локусами через сульфгидрильные группы, замещая ионы кальция в белковых макромолекулах [8]. В условиях наших экспериментов основными ЦИО-положительными субклеточными органеллами были синаптические везикулы малого размера. Из литературы известно, что в них присутствует несколько $\text{Ca}(2+)$ -связывающих белков, таких как синаптофизин, синаптотагмин, синаптобревин. Синаптотагмин 1, например, вовлекается в быстрый процесс везикулярного захвата и секвестирования ионов кальция, используя $\text{Ca}(2+)/\text{H}(+)$ антипорт [6]. Этот

белок также участвует в эндо-экзоцитозе синаптических пузырьков и в синхронизации синаптической передачи [12]. Однако следует отметить, что в нашем материале ЦИО-реакция затрагивает не все интраклеточные хранилища ионов кальция. Во-первых, продукт реакции не выявляется в главном депо кальция, синаптических митохондриях, осуществляющих основной гомеостатический контроль этих ионов в пресинаптических бутонах. Во-вторых, лишены преципитата постсинаптические отделы синаптических комплексов, содержащие кальций-связывающие белки потенциал-зависимых ионотропных каналов. Известно, что в гигантских синапсах гиппокампальной формации важные модулирующие влияния на синаптическую передачу оказывают ионы цинка, которые также локализуются в малых светлых глутаматергических везикулах [10]. Возможно, в условиях нашего эксперимента с реагентами ЦИО-смеси через сульфгидрильные группы могут взаимодействовать также бивалентные ионы цинка.

Заключение

Таким образом, данные ультраструктурного и цитохимического анализа показали, что окончания мшистых волокон гиппокампальной формации как в норме, так и после ее гетеротопической трансплантации в неокортексе, содержат гетерогенную популяцию синаптических пузырьков. При этом более 40% малых светлых синаптических везикул реагировали с ЦИО-реагентом, остальные везикулы малого размера и крупные пузырьки с осмиофильной сердцевиной не содержали ЦИО-преципитата. Митохондрии и постсинаптические плотности также не взаимодействовали с реакционной смесью. Характер распределения ЦИО-позитивных везикул внутри синаптических бутонцов был сходным в обеих экспериментальных вариантах. Вместе с тем количественный анализ везикулярного состава обнаружил между ними значительную разницу. В синаптических бутонцах трансплантатов по сравнению с нормой было уменьшено не только общее количество пузырьков, но и число ЦИО-положительных органелл. Это свидетельствует о сниженной функциональной активности синапсов в трансплантатах. При сопоставлении полученных и литературных данных сделано заключение, что реагенты ЦИО-смеси взаимодействуют с локусами синаптических везикул, обладающими химическим сродством к бивалентным ионам, таким как кальций и цинк. В связи с этим можно заключить, что ЦИО-импрегнация субсинаптических органелл может быть

одним из маркеров интенсивности функциональных процессов в гигантских синапсах мшистых волокон.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-00812).

Список литературы

1. Журавлева З.Н. Дифференцировка нейронов и синапсов мшистых волокон в трансплантатах зубчатой фасции, развивающейся в неокортексе крыс // Онтогенез. – 1998. – Т. 29, № 2. – С. 85–91.
2. Журавлева З.Н., Ермаков А.А., Журавлев Г.И. Вовлечение нейропептидных механизмов в процесс интеграции гетеротопических трансплантатов зубчатой фасции с мозгом реципиента // Журн. высш. нервн. деят. – 2007. – Т. 57, № 2. – С. 205–209.
3. Журавлева З.Н., Журавлев Г.И., Муганцева Е.А. Синаптические взаимодействия трансплантатов нервной ткани с мозгом животного-реципиента // Фунд. исслед. – 2011. – № 10, часть 3. – С. 577–580.
4. Журавлева З.Н., Хуцян С.С. Структурные признаки динамического состояния синаптических контактов между нейротрансплантатом и мозгом // Бюлл. экспер. биол. мед. – 2013. – Т. 156, № 10. – С. 433–437.
5. Akert K., Kawana E., Sandri C. ZIO-positive and ZIO-negative vesicles in nerve terminals // Prog. Brain Res. – 1971. – Vol. 34. – P. 305–317.
6. Cordeiro J.M., Boda B., Gonçalves P.P., Dunant Y. Synaptotagmin 1 is required for vesicular Ca²⁺/H⁺ -antiport activity // J. Neurochem. – 2013. – Vol. 126, № 1. – P. 37–46.
7. De Iraldi A.P. Localizing-SH groups in monoaminergic synaptic vesicles with the mixture of zinc iodide-osmium tetroxide (ZIO) // Brain Res. – 1975. – Vol. 94. – P. 363–367.
8. Gilloteaux J., Naud J. The zinc-iodide osmium tetroxide staining-fixative of Maillet. Nature of the precipitate studied by X-ray microanalysis and detection of Ca⁺⁺-affinity subcellular sites in a tonic smooth muscle // Histochem. – 1979. – Vol. 63. – P. 227–243.
9. Gutierrez R. The dual glutamatergic-GABAergic phenotype of hippocampal granule cells // Trends Neurosci. – 2005. – Vol. 28. – P. 297–303.
10. Henze D.A., Urban N.N., Barrionuevo G. The multifarious hippocampal mossy fiber pathway: a review // Neurosci. – 2000. – Vol. 98, № 3. – P. 407–427.
11. Nicoll R.A., Schmitz D. Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses // Nat. Rev. Neurosci. – 2005. – Vol. 6. – P. 863–876.
12. Nishiki T., Augustine G.J. Synaptotagmin I synchronizes transmitter release in mouse hippocampal neurons // J. Neurosci. – 2004. – Vol. 24, № 27. – P. 6127–6132.
13. Rollenhagen A., Lübke J.H. The morphology of excitatory central synapses: from structure to function // Cell Tissue Res. – 2006. – Vol. 326. – P. 221–237.

14. Rollenhagen A., Sätzler K., Rodríguez E.P., Jonas P., Frotscher M., Lübke J.H. Structural determinants of transmission at large hippocampal mossy fiber synapses // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27, № 39. – P. 10434–10444.

15. Toni N., Laplagne D.A., Zhao C., Lombardi G., Ribak C.E., Gage F.H., Schinder A.F. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells // Nat. Neurosci. – 2008. – Vol. 11. – P. 901–907.

References

1. Zhuravleva Z.N. *Rus. J. Development. Biol.*, 1998, vol. 29, no. 2, pp. 44–50
2. Zhuravleva Z.N., Ermakov A.A., Zhuravlev G.I. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 2008, vol. 38, no. 3, pp. 309–312.
3. Zhuravleva Z.N., Zhuravlev G.I., Mugantseva E.A. *Fundamental. Issledov.*, 2011, no. 10 (3), pp. 577–580.
4. Zhuravleva Z.N., Khutsyan S.S. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2013, vol. 156, no. 10, pp. 433–437.
5. Akert K., Kawana E., Sandri C. *Prog. Brain Res.*, 1971, vol. 34, pp. 305–317.
6. Cordeiro J.M., Boda B., Gonçalves P.P., Dunant Y. *J. Neurochem.*, 2013, vol. 126, no. 1, pp. 37–46.
7. De Iraldi A.P. *Brain Res.*, 1975, vol. 94, pp. 363–367.
8. Gilloteaux J., Naud J. *Histochem.*, 1979, vol. 63, pp. 227–243.
9. Gutierrez R. *Trends Neurosci.*, 2005, vol. 28, pp. 297–303.
10. Henze D.A., Urban N.N., Barrionuevo G. *Neurosci.*, 2000, vol. 98, no. 3, pp. 407–427.
11. Nicoll R.A., Schmitz D. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2005, vol. 6, pp. 863–876.
12. Nishiki T., Augustine G.J. *J. Neurosci.*, 2004, vol. 24, no. 27, pp. 6127–6132.
13. Rollenhagen A., Lübke J.H. *Cell Tissue Res.*, 2006, vol. 326, pp. 221–237.
14. Rollenhagen A., Sätzler K., Rodríguez E.P., Jonas P., Frotscher M., Lübke J.H. *J. Neurosci.*, 2007, vol. 27, no. 39, pp. 10434–10444.
15. Toni N., Laplagne D.A., Zhao C., Lombardi G., Ribak C.E., Gage F.H., Schinder A.F. *Nat. Neurosci.*, 2008, vol. 11, pp. 901–907.

Рецензенты:

Куликов А.В., д.б.н., зав. сектором, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», г. Пущино;
Павлик Л.Л., д.б.н., ведущий научный сотрудник, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», г. Пущино.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 616.441-008.64-092.9

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИПОТИРЕОИДНОГО СОСТОЯНИЯ У КРЫСЫ ПОСРЕДСТВОМ КОАГУЛЯЦИИ ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ ЩИТОВИДНОЙ АРТЕРИИ СПРАВА

Каде А.Х., Смянова Л.А., Лиева К.А., Занин С.А.,
Трофименко А.И., Джиджихия К.М.

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, Краснодар, e-mail: zanin77@mail.ru

В литературе представлены как медикаментозные, так и хирургические модели гипотиреоза. Большинство медикаментозных. Но хирургические позволяют более информативно изучить патофизиологические последствия этой патологии. Поэтому нами предпринята попытка создания модели хирургического гипотиреоза у крысы для дальнейшего использования на этой модели ТЭС-терапии. В эксперимент включены 10 нелинейных крыс-самцов, которым после наркоза проводили коагуляцию верхней и нижней щитовидной артерии справа. В ходе эксперимента всем животным проводили запись ЭКГ. Из 10 животных, не выходя из наркоза, погибло 3. Нами проведено гистологическое исследование головного мозга и сердца умерших животных, которое подтверждает, что смерть животных наступила от полиорганной недостаточности на фоне глубокой брадикардии. Нами продолжается поиск причин синдрома полиорганной недостаточности, возникающего при создании данной модели.

Ключевые слова: гипотиреозное состояние, электрокардиограмма у крысы, гистологическая картина

GIPOITIREOID MODELLING OF THE CONDITION AT THE RAT BY MEANS OF COAGULATION OF THE TOP AND BOTTOM THYROID ARTERY ON THE RIGHT

Kade A.K., Smeyanova L.A., Liyeva K.A., Zanin S.A.,
Trofimenko A.I., Dzhidzhikhiya K.M.

Kuban state medical university of the Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, e-mail: zanin77@mail.ru

In literature are presented both medicamentous, and surgical models of a hypothyroidism. Majority of the medicamentous. But surgical allow to study pathophysiological consequences of this pathology more informatively. Therefore we made attempt of creation of model of a surgical hypothyroidism at a rat for further use on this model of TES-THERAPY. 10 nonlinear rats males to whom after an anesthesia carried out coagulation of the top and bottom thyroid artery on the right are included in experiment. During experiment by all animal carried out record electrocardiogram. From 10 animals without leaving an anesthesia, was lost 3. We conducted histologic research of a brain and heart of the dead of animals which confirms that the death of animals came from polyorgan insufficiency, against deep bradycardia. Us search of the reasons of a syndrome of the polyorgan insufficiency arising at creation of this model proceeds.

Keywords: gipotireoid condition, the electrocardiogram at a rat, a histologic picture

Существуют различные модели гипотиреоза у крыс. В литературе рассматриваются как медикаментозные, так и хирургические модели. Так, Кулиббетов М.Т. и соавт. [4] разработали модель гипотиреоза с применением йододефицитной диеты у крыс. При создании экспериментальной модели с дефицитом йода в питании крыс ими были использованы продукты местного происхождения с низким содержанием йода. Как основной продукт питания использовался комбикорм с добавкой премикса, не содержащего йод. Ряд авторов моделируют гипотиреоз путем применения тиреостатиков, например, путем введения через специальный зонд в желудок мерказолила в дозе 10 мг/кг в течение 8 недель [3, 9, 10]. Цвиркун Д.В. вызывала гипотиреоз у крыс мерказолилом («Акрихин», Россия), который давали животным с питьевой водой: первые 2 недели – 0,02%-й раствор,

затем 0,01% [15]. Щеглакова Г.Ю. и соавт. [16] предлагают моделировать гипотиреоз путем введения через пищевой зонд сечением 4 мм водно-крахмальной суспензии мерказолила 1 раз в сутки на протяжении 30 дней из расчета 25 мг/кг. Некоторые авторы для моделирования дисфункции щитовидной железы животным в течение 2-х месяцев вводили с питьевой водой 0,005%-й раствор препарата «Мерказолил» (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) [17]. Некоторые исследователи вызывают гипотиреоз ежедневным внутривенным введением тиамазола в дозе 2,5 мг на 100 г массы тела в течение 3 недель [2]. При всех нехирургических моделях экспериментальный гипотиреоз характеризовался снижением концентрации свободного тироксина (Т₄), повышением содержания общего трийодтиронина (Т₃) и тиреотропного гормона (ТТГ). Обращает

на себя внимание тот факт, что в литературе описано немного хирургических моделей этого состояния [7, 11]. Однако эта модель является наиболее сходной с клинической ситуацией, так как она воспроизводит механизм послеоперационного гипотиреоза и нивелирует влияние тиреостатиков на организм животного, что позволяет более информативно изучить патофизиологические последствия тиреоидэктомии. Кроме того, в описанных нами моделях гипотиреоза последний моделируют путем удаления части органа или всей щитовидной железы, что может осложняться кровотечением, асфиксией, гипопаратиреозом [7]. Поэтому нами предпринята попытка создания модели хирургического гипотиреоза без удаления органа, за счет коагуляции верхней и нижней щитовидной артерии справа.

Целью работы было создание технически несложной, адекватной модели хирургического гипотиреоза у крысы. На предложенной модели предполагается исследовать комплексное влияние ТЭС-терапии на течение гипотиреоза, в частности, на баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, а также показатели опиоидергической стресс-лимитирующей системы [5, 6].

Материалы и методы исследования

Все эксперименты были проведены в лаборатории кафедры общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России.

В эксперимент включены 10 нелинейных крыс-самцов средней массой – 250 ± 50 г. Содержание животных и постановка экспериментов проведена в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 года, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». В экспериментах использован общий комбинированный наркоз (0,03 мг – золетила, 0,4 мг – ксиланита и 0,01 мл – 0,1% раствора атропина на 100 г веса животных) [14]. Препараты для наркоза, использованные в экспериментах, доступны. Они в меньшей степени угнетают функцию дыхания и гемодинамику (по сравнению с другими видами наркоза с включением барбитуратов и хлоралгидрата). Их совокупное применение обеспечивает продолжительный глубокий наркоз с редкими осложнениями в отличие от других видов обезболивания, описанных в литературе [18].

Регистрацию ЭКГ крысам проводили на электрокардиографе ЭК 1Т- 1/3- 07 «АКСИОН» в I стандартном отведении (двухполюсные отведения от конечностей: I – левая и правая передние конечности, II – левая задняя и правая передняя конечности, III – левая задняя и левая передняя конечности) в положении на спине с использованием игольчатых электродов, помещаемых подкожно на конечности [1, 13]. Запись ЭКГ осуществляли сразу же после введения в наркоз, во время разреза кожи, до и после коагуляции артерий и через один час после операции.

Техника операции представлена следующими этапами. После обработки операционного поля производили разрез кожи и разводили края раны на держалках. Тупым способом раздвигали мышцы и обнажали трахею [8, 12, 19], открывая доступ к щитовидной железе. Далее электрокоагулятором производили коагуляцию верхней и нижней щитовидной артерии справа.

После прекращения кровотока появлялись признаки ишемии – железа становилась синюшной. Затем по возможности послойно восстанавливали топографию мышц и мягких тканей.

Из 10 животных, не выходя из наркоза, умерло 3, примерно через 12 часов по окончании операции. Оставшиеся 7 животных легко вышли из наркоза и через 6 часов уже подходили к корму и воде.

После смерти умерших животных выделяли ГМ и сердце, ополаскивали их 2-кратно в холодном 0,9% растворе хлорида натрия, далее проводили фиксацию органов в 10% нейтральном формалине, с последующей проводкой в изопропанол, заливкой образцов в парафин и приготовлением срезов и стекол. Окрашивание полученных стекол выполняли гематоксилином-эозином.

Результаты исследования и их обсуждение

Умерших животных с моделью гипотиреоидного состояния подвергали аутопсии. Ниже представлена патологоанатомическая (увеличение объектива в 4, 10 и 100 раз) картина изменений головного мозга животных и сердца. При внешнем осмотре головного мозга крысы обращает внимание его выраженная отечность, сглаженность поверхности и полнокровие сосудов, кроме того, артериальные сосуды на поверхности «пустые», что свидетельствует о гипоксическом повреждении (рис. 1, а). При гистологическом исследовании ткани мозга (рис. 1, б, в, г) на рис. 1, б при 4-кратном увеличении обращает на себя внимание неоднородность ткани мозга (А), полнокровные сосуды (Б), что, вероятно свидетельствует об ишемическом стазе. На рис. 1, в при десятикратном увеличении обнаруживаем деградацию ткани мозга (В) и резкое полнокровие сосудов с формированием истинных стазов и образованием «монетных столбиков» (Г). Эти факты свидетельствуют об остром генерализованном гипоксическом поражении головного мозга с нарушением перфузии органа. Данные изменения возможны при шоке, который связан с уменьшением эффективного сердечного выброса. Наконец, на рис. 1, г мы видим формирование эритроцитарных «монетных столбиков» (Г) и инфильтрацию мозговой ткани нейтрофилами (Д), что опять же характерно для ишемического повреждения ткани мозга с характерными ишемическими проявлениями – ткани по периферии сосуда резко бледные (Е).

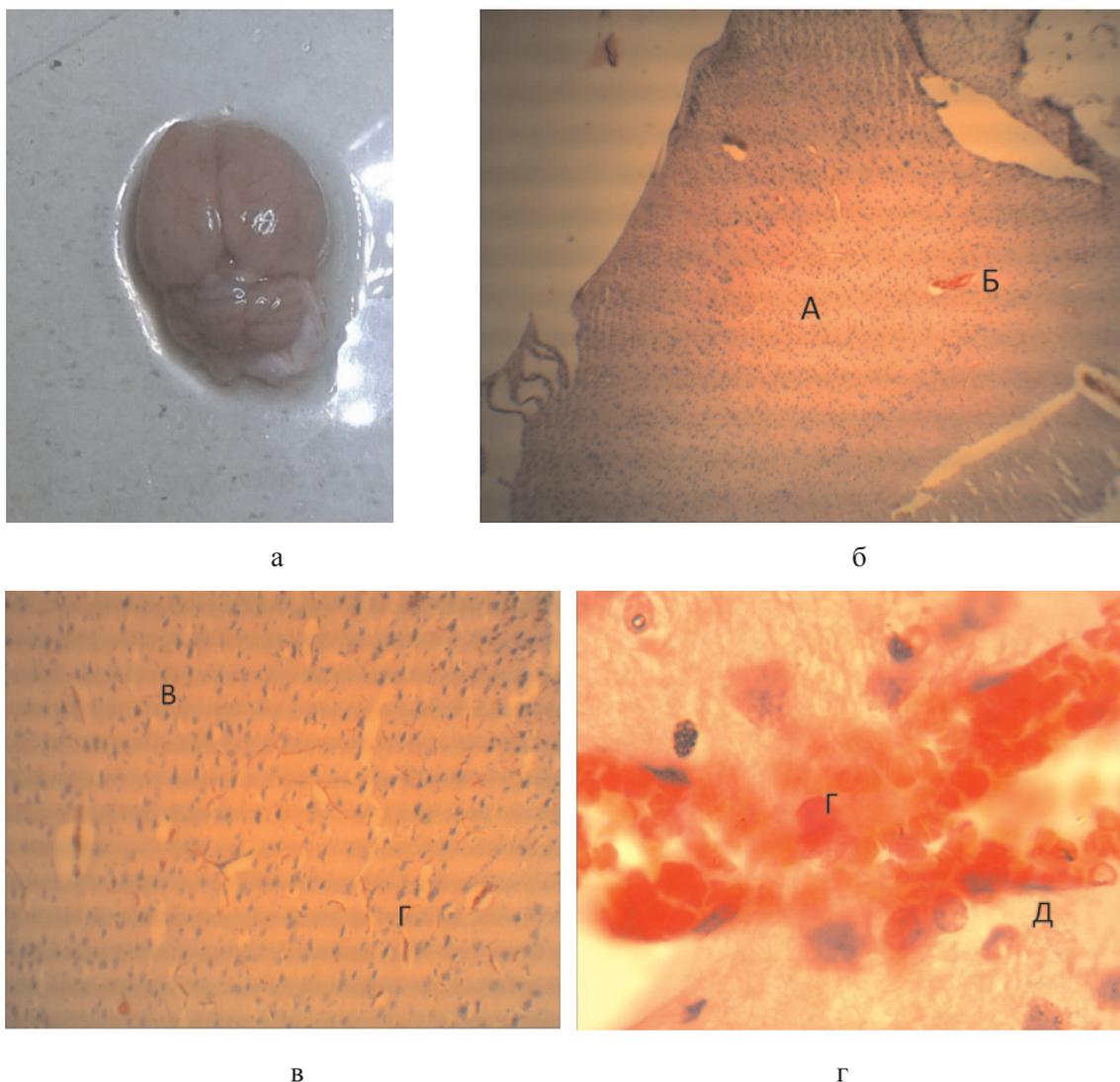


Рис. 1. а – патоморфологическая картина головного мозга умершей крысы; б – гистологическая картина ткани мозга (x4); в – гистологическая картина ткани мозга (x10); г – гистологическая картина ткани мозга (x100)

При внешнем осмотре сердца (рис. 2, а) крысы обращает внимание на себя изменение тканей желудочков: они бледные, дряблые. Кроме того, в полости предсердий обнаруживаются тромбы и их венозное полнокровие. При увеличении в 4 раза (рис. 2, б) мы видим разволокнение миокарда (А), полнокровные сосуды (Б), что свидетельствует об ишемии миокарда. При 10-кратном увеличении (рис. 2, в) также прослеживается разволокнение миокарда (А) и резко полнокровные сосуды со стазом (Б), здесь же обнаруживается инфильтрация ткани миокарда нейтрофилами (В). На рис. 2, г представлено 100-кратное увеличе-

ние ткани миокарда. Здесь ярко видно полнокровие сосудов и нарушение микроциркуляции по типу «монетных столбиков» (Е), деградация миофибрилл и их разнонаправленность (Ж). Все представленные выше гистологические данные свидетельствуют о повреждении миокарда в результате шокового состояния.

Ниже (рис. 3) представлена электрокардиограмма одного из умерших животных с моделированным гипотиреоидным состоянием. Обращает на себя внимание, что через час после операции имеет место выраженная брадикардия (ЧСС – 111 уд./мин). В норме у крыс ЧСС – 200–300 уд./мин [12].

У всех 3-х животных изменения на ЭКГ были аналогичными. Замедление сердечного ритма может быть связано с острым ги-

потиреозным состоянием, генез которого до конца не ясен. Оно и привело к «эндокринному шоку».

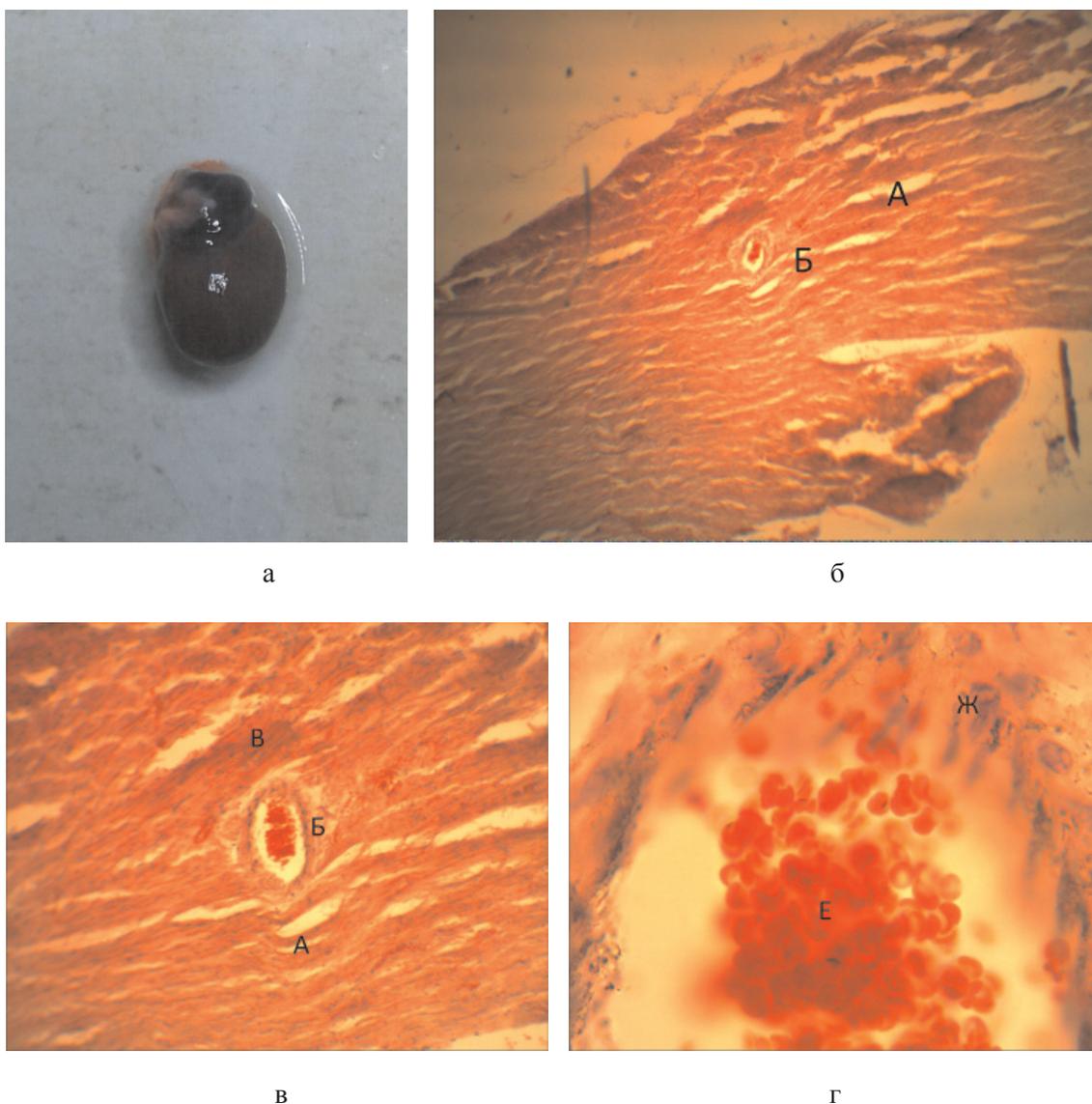


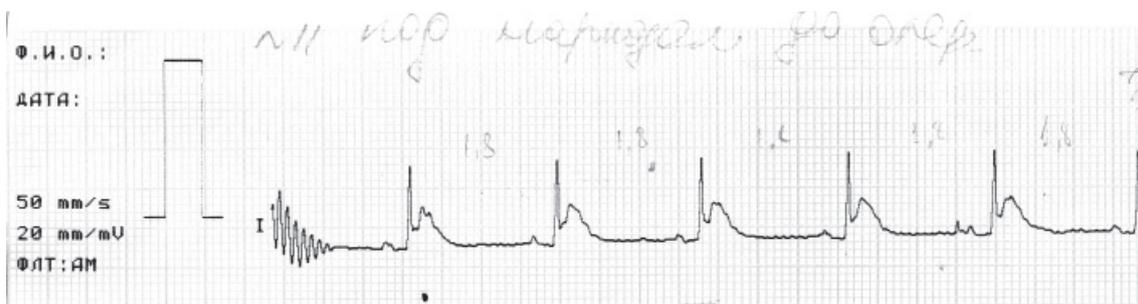
Рис. 2. а – патоморфологическая картина сердца умершей крысы; б – гистологическая картина ткани сердца (x4); в – гистологическая картина ткани сердца (x10); г – гистологическая картина ткани сердца (x100)

Таким образом, смерть животного наступила от полиорганной недостаточности, развившейся на фоне глубокой брадикардии, которая спровоцирована острым гипотиреозным состоянием.

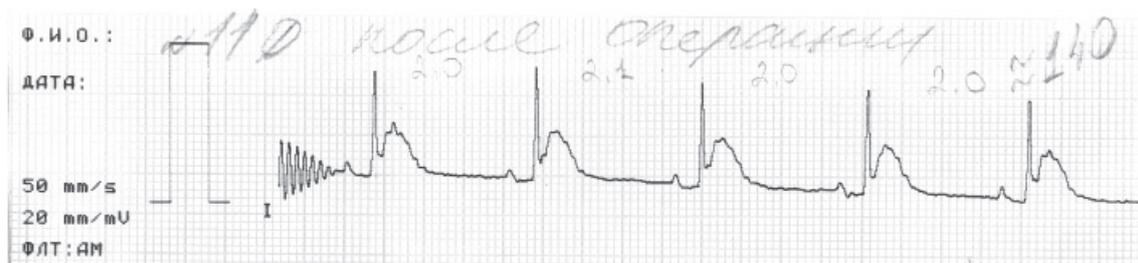
Выводы

Нами получена модель острого гипотиреозного состояния у крысы, которая пригодна для использования в качестве модели

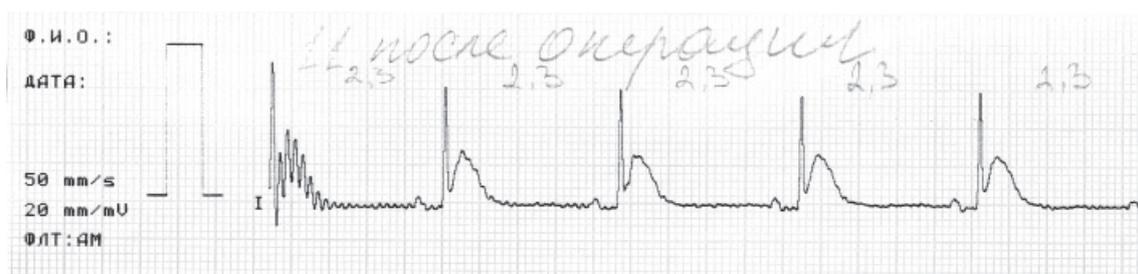
для оценки эффектов ТЭС-терапии в комплексном лечении этой нозологии. Необходимо отметить, что полученная модель хирургического гипотиреоза имеет высокую летальность, однако может быть использована в качестве адекватной модели для изучения этой патологии. Нами продолжается поиск причин синдрома полиорганной недостаточности, возникающего при создании данной модели.



а



б



в



г

Рис. 3. ЭКГ умершей крысы:

а – ЭКГ умершего животного (ЧСС – 176 ударов в минуту). Запись произведена после введения в наркоз; б – ЭКГ умершего животного (ЧСС – 146 ударов в минуту). Запись произведена сразу же после разреза кожи; в – ЭКГ умершего животного (ЧСС – 113 ударов в минуту). Запись произведена после коагуляции щитовидных сосудов справа; г – ЭКГ умершего животного (ЧСС – 111 ударов в минуту). Запись произведена через один час после эксперимента. Стрелками показана депрессия зубца S, что свидетельствует об ишемии миокарда

Список литературы

1. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: Вища школа. 1983. – 383 с.
2. Камилов Ф.Х. Коррекция тиреоидных сдвигов йодированным полисахаридным комплексом / Ф.Х. Камилов, А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 116–119.
3. Крюк Ю.Я. Особенности проявления оксидантного стресса при гипотиреозе разной степени тяжести в эксперименте / Ю.Я. Крюк, А.В. Махнева, С.Е. Золотухин [и др.] // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 62–65.
4. Кулиббетов М.Т. Моделирование экспериментального гипотиреоза, обусловленного естественным хроническим дефицитом йода в питании / М.Т. Кулиббетов, М.М. Рашитов, Т.С. Саатов // Эл. Версия International journal of endocrinology. – 2009. – № 2.

5. Лебедев В.П. Об опиатном механизме транскраниальной электроанальгезии у крыс и мышей / В.П. Лебедев, А.Б. Савченко, Н.В. Петряевская // Физиол. журн. СССР. – 1988. – Т. 74, № 9. – С. 1249–1256.
6. Лебедев В.П. Участие опиоидных и других медиаторных механизмов в регуляторных функциях антиноцицептивной системы мозга при ее транскраниальной активации // 15 съезд Всесоюз. физиол. о-ва им. И.П. Павлова: тез. докл. – Кишинёв, 1986. – Т. 1. – С. 162–163.
7. Легач Е.И. Ретроградный способ тиреоидэктомии крыс как адекватная модель гипотиреоза // Трансплантология. – 2005. – Т. 8. № 2. – С. 92–93.
8. Лопухин Ю.М. Экспериментальная хирургия. – М.: Медицина. 1971. – 346 с.
9. Манюк Е.С. Моделирование гипо- и гипертиреоза в эксперименте // Актуальные проблемы медицинской биологии: сб. научн. работ. – Новосибирск, 2002. – С. 41–42.
10. Манюк Е.С. Коррекция экспериментального гипотиреоза растительным препаратом «Баянкон» / Е.С. Манюк, В.Г. Изатулин, Л.С. Васильева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 1. – С. 54–57.
11. Михайличенко В.Ю. Патологические аспекты гипотиреоза у крыс в эксперименте / В.Ю. Михайличенко, В.А. Коноплянка, О.В. Василянская [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 86–89.
12. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы. – СПб.: Лань, 2001. – 464 с.
13. Орлов В.Н. Руководство по электрокардиографии. – М., 1983. – 67 с.
14. Трофименко А.И. Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и соавт.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 215–218.
15. Цвиркун Д.В. Влияние аутоантител к тиреоидным гормонам на зависимые от тиреоидного статуса физиологические функции у крыс: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2007. – 26 с.
16. Щеглакова Г.Ю. Структурные и морфометрические изменения элементов височно-нижнечелюстного сустава при экспериментальном гипотиреозе / Г.Ю. Щеглакова, Ю.Л. Писаревский, В.П. Сmealов [и др.] // Сб. работ Рязанского гос. Мед. ун-та. – 2010. – С. 12–15.
17. Bhargava H.N. Brain and pituitary receptors for thyrotropin-releasing hormone in hypothyroid rats / H.N. Bhargava, P. Ramarao, A. Gulati [et al.] // Pharmacology. – 1989. – Vol. 38, № 4. – P. 243–352.
18. Cardenas A. Up-regulation of TACE/ADAM17 after ischemic preconditioning is involved in brain tolerance / A. Cardenas [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2002. – Vol. 22. – P. 1297–1302.
19. Zahedi S. A study on the fragility of red blood cells in hypothyroid rats / S. Zahedi, F. Nabavizadeh // Irn. J. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 4, № 2. – P. 134–138.
- deficitom joda vitanii / M.T. Kulimbetov, M.M. Rashitov, T.S. Saatov // Jel. Versija International journal of endocrinology. 2009. no. 2.
5. Lebedev V.P. Ob opiatnom mehanizme transkraniāl'noj jelektroanal'gezii u krysi i myshej / V.P. Lebedev, A.B. Savchenko, N.V. Petryaevskaja // Fiziol. zhurn. SSSR/ 1988. T. 74, no. 9. pp. 1249–1256.
6. Lebedev V.P. Uchastie opioidnyh i drugih mediatornyh mehanizmov v reguljatornyh funkcijah antinociceptivnoj sistemy mozga pri ee transkraniāl'noj aktivacii // 15 s#ezd Vsesojuzn. fiziol. o-va im. I.P.Pavlova : tez. dokl. Kishinjov, 1986. T. 1. pp. 162–163.
7. Legach E.I. Retrogradnyj sposob tireoidjektomii krysa kak adekvatnaja model' gipotireoza / E. I. Legach // Transplantologija. 2005. T. 8. no. 2. pp. 92–93.
8. Lopuhin, Ju.M. Jeksperimental'naja hirurgija. M.: Medicina. 1971. 346 p.
9. Manjuk E.S. Modelirovanie gipo- i gipertireoza v jeksperimente / E. S. Manjuk // Aktual'nye problemy medicinskoj biologii: sb. nauchn. robot. Novosibirsk 2002. pp. 41–42.
10. Manjuk E.S. Korrekcija jeksperimental'nogo gipotireoza rastitel'nym preparatom «Bajankon» / E.S. Manjuk, V.G. Izatulin, L.S. Vasil'eva // Bjulleten' VSNC SO RAMN. 2008. no. 1. pp. 54–57.
11. Mihajlichenko V.J. Patofiziologicheskie aspekty gipotireoza u krysa v jeksperimente / V.Ju. Mihajlichenko, V.A. Konopljanko, O.V. Vasiljanskaja [i dr.] // Vestnik neotloznoj i vosstanovitel'noj mediciny. T. 13, no. 1. 2012. pp. 86–89.
12. Nozdrachev A.D. Anatomija krysy. S.-Peterburg.: Lan'. 2001. 464 p.
13. Orlov V.N. Rukovodstvo po jelektrokardiografii. M.: 1983. 67 p.
14. Trofimenko A.I. Modelirovanie cerebral'noj ishemii posredstvom koaguljacji srednej mozgovoj arterii u krysa / A.I. Trofimenko, A.H. Kade, V.P. Lebedev [i soavt.] // Zhur. fundamental'nye issledovanija. 2012. no. 2. pp. 215–218.
15. Cvirkun D.V. Vlijanie autoantitel k tireoidnym gormonom na zavisimye ot tireoidnogo statusa fiziologicheskie funkcii u krysa: Avtoref. dis. ... kand. med. n. Moskva, 2007. 26 p.
16. Shheglakova G.Ju. Strukturnye i morfometricheskie izmenenija jelementov visochno-nizhnecheljustnogo sustava pri jeksperimental'nom gipotireoze / G.Ju. Shheglakova, Ju.L. Pisarevskij, V.P. Smealov [i dr.] // Sb. robot Rjazanskogo gos. Med. un-ta. 2010. pp. 12–15.
17. Bhargava H.N. Brain and pituitary receptors for thyrotropin-releasing hormone in hypothyroid rats / H.N. Bhargava, P. Ramarao, A. Gulati [et al.] // Pharmacology. 1989. Vol. 38, no. 4. pp. 243–352.
18. Cardenas A. Up-regulation of TACE/ADAM17 after ischemic preconditioning is involved in brain tolerance / A. Cardenas [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2002. Vol. 22. pp. 1297–1302.
19. Zahedi S. A study on the fragility of red blood cells in hypothyroid rats / S. Zahedi, F. Nabavizadeh // Irn. J. Endocrinol. Metab. 2002. Vol. 4, no. 2. pp. 134–138.

References

1. Zapadnjuk I.P., Zapadnjuk V.I., Zaharija E.A., Zapadnjuk B.V. Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v jeksperimente. Kiev.: Vishha shkola. 1983. 383 p.
2. Kamilov F.H. Korrekcija tireoidnyh sdvigov jodirovanym polisaharidnym kompleksom / F. H. Kamilov, A.N. Mamcev, V.N. Kozlov [i dr.] // Kazanskij medicinskij zhurnal. 2012. no. 1. pp. 116–119.
3. Krjuk Ju.Ja. Osobennosti projavlenija oksidantnogo stressa pri gipotireoze raznoj stepeni tjazhesti v jeksperimente / Ju.Ja. Krjuk, A.V. Mahneva, S.E. Zolotuhin [i dr.] // Patologija. 2011. T. 8, no. 2. pp. 62–65.
4. Kulimbetov M.T. Modelirovanie jeksperimental'nogo gipotireoza, obuslovlennogo estestvennym hronicheskim

Рецензенты:

Шантыз А.Ю., д.б.н., профессор кафедры анатомии, ветеринарного акушерства и хирургии, ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», г. Краснодар;

Могильная Г.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии с эмбриологией, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 579.22

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИПАЗЫ, ЭКСПРЕССИРОВАННОЙ В *ESCHERICHIA COLI***¹Кригер А.В., ²Дышлюк Л.С., ²Долганюк В.Ф., ²Зими́на М.И., ²Асякина Л.К.**¹*ГНУ СибНИИС Россельхозакадемии, Барнаул, e-mail: olgakruger58@mail.ru;*²*ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности», Кемерово, e-mail: soldatovals1984@mail.ru*

Получен очищенный препарат рекомбинантной липазы *Thermosyntrophalipolytica* с величиной гидролитической активности 280000 Ед/г, степень очистки белка 85%. Изучены физико-химические свойства рекомбинантного белка. Установлено, что значение изоэлектрической точки для рекомбинантной липазы находится в интервале $pI\ 3,7 \pm 0,1$ ед. Молекулярная масса фермента, определенная гель-фильтрацией на сефадексе G-150, составляет 14520 ± 20 Да. По результатам электрофореза получена величина молекулярной массы 14500 ± 10 Да. Определены оптимальные условия функционирования рекомбинантного фермента: pH 8,0 и температура 80°C. Показана высокая термостабильность рекомбинантной липазы: при температуре 70°C фермент сохраняет 100% активности в течение 180 мин. При температуре 80°C наблюдается сохранение 53,5% гидролитической активности липазы в течение 120 мин, при 90°C теряется 64% активности фермента в течение 60 мин.

Ключевые слова: рекомбинантная липаза, фермент, экспрессия, очистка, хроматография, изоэлектрическая точка, гидролитическая активность, молекулярная масса, pH-оптимум, температурный оптимум, термостабильность

ALLOCATION, CLEANING AND STUDYING OF PROPERTIES OF THE RECOMBINANT LIPASE, EXPRESSED IN *ESCHERICHIA COLI***¹Kruger A.V., ²Dyshlyuk L.S., ²Dolganyuk V.F., ²Zimina M.I., ²Asyakina L.K.**¹*State Scientific institution «Siberian Research Institute of Cheesemaking»**of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Barnaul, e-mail: olgakruger58@mail.ru;*²*Kemerovo Institute of Food Science and Technology, Kemerovo, e-mail: soldatovals1984@mail.ru*

The cleared preparation of recombinant lipase of *Thermosyntrophalipolytica* with hydrolytic activity of 280000 Units/g, extent of purification of protein of 85% is received. Physical and chemical properties of recombinant protein are studied. It is established that value of an isoelectric point for a recombinant lipase is in an interval of $pI\ 3,7 \pm 0,1$ of unit. The molecular mass of the enzyme, defined gel filtration on sephadex G-150, makes 14520 ± 20 Da. By results of an electrophoresis the size of molecular weight 14500 ± 10 Da is received. Optimum operating conditions of recombinant enzyme are defined: pH 8,0 and temperature is 80°C. High heat stability of a recombinant lipase is shown: at a temperature of 70°C enzyme keeps 100% of activity within 180 min. At a temperature of 80°C preservation of 53,5% of hydrolytic activity of a lipase within 120 min is observed, at 90°C 64% of activity of enzyme within 60 min are lost.

Keywords: recombinant lipase, enzyme, expression, cleaning, chromatography, isoelectric point, hydrolytic activity, molecular weight, pH-optimium, temperature optimium, thermal stability

В последние годы значительно возрос удельный вес пищевых продуктов, вырабатываемых с добавлением ферментов или ферментных препаратов. Использование ферментов в технологии продуктов питания способствует повышению их качества, сокращает сроки производства, в ряде случаев повышает выход готовой продукции и облегчает контроль желаемых биохимических процессов [1]. Наряду с прочно вошедшими в практику микробными, растительными и животными протеазами, амилазами, пектиназами широкое применение находят ферменты липолитического действия [2].

В частности, в последнее время возрос интерес к одному из важнейших гидролитических ферментов – липазе. Перспективы практического применения липаз делают целесообразным исследование таких свойств липазы, как субстратная специфичность, оптимальные условия действия,

стабильность при изменении кислотности среды и температуры. Многочисленные исследования посвящены изучению оптимальных условий действия липаз микроорганизмов, а также свойствам липазы как ферментного белка [2].

Фермент липаза-триглицеридгидролаза (КФ 3.1.1.3) широко распространен среди грибных микроорганизмов. Известно значительное количество продуцентов липазы, относящихся к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Candida*, *Yarrowia* и др., изученных в различной степени [3].

В последние годы в качестве одного из наиболее перспективных микробных продуцентов липазы рассматривают дрожжи *Yarrowialipolytica*, у которых выявлено несколько внутриклеточных и секретируемых липаз. Повышенный интерес к созданию высокоэффективных продуцентов липаз на основе *Yarrowialipolytica* связан также

с достаточно хорошей генетической изученностью этого объекта и тем, что данный вид дрожжей удобен для промышленной ферментации.

Известен дикий штамм *Yarrowialipolytica* W29 (ATCC 20460), на основе которого получен ряд штаммов реципиентов, в том числе *Yarrowialipolytica* Pold (CLIB 139) и *Yarrowialipolytica* Polf (ATCC MYA-2613), широко используемых для конструирования продуцентов секретируемых белков [4].

В патенте РФ № 2355754 описан рекомбинантный штамм дрожжей *Yarrowialipolytica* ВКПМУ-3260 – продуцент липазы, сконструированный путем трансформации штамма *Yarrowialipolytica* Polf (ATCC MYA-2613) интегративной плазмидой pZ-ura3d4-hp4d-LIP2.

Однако описанные штаммы *Yarrowialipolytica* W29, Pold, Polf и ВКПМУ-3260 имеют низкий уровень продукции липазы.

Перспективным штаммом-продуцентом ферментов липолитического действия является термоалкалофильная анаэробная бактерия *Thermosyntrophalipolytica*. Особенностью *T. lipolytica* является способность расщеплять триглицериды и утилизировать жирные кислоты при росте в синтрофном симбиотическом сообществе с метаногенной археей (род *Methanobacterium*). В природе синтрофный метаболизм является важной промежуточной стадией в анаэробной конверсии биополимеров, таких как полисахариды, белки и липиды до углекислого газа и метана [5]. Синтрофный рост на липидах обеспечивается за счет липаз, секретируемых из клетки в окружающую среду [6]. При росте в отсутствие синтрофного партнера липазы также синтезируются и секретируются из клетки, однако в этих условиях *T. lipolytica* не способна использовать жирные кислоты и, следовательно, расти на липидах.

В работе [7] показано, что геном термоалкалофильной бактерии *T. lipolytica* кодирует набор гидролитических ферментов, которые могут секретироваться из клетки в окружающую среду. Идентифицированные протеазы различных типов и липазы обеспечивают использование *T. lipolytica* белковых субстратов и липидов соответственно.

В РФ применение липаз в пищевой промышленности сдерживается отсутствием достаточного количества эффективных продуцентов, поскольку для каждого технологического процесса необходимо иметь липазы с определенными свойствами.

Цель работы – выделение, очистка и изучение свойств рекомбинантной липазы *Thermosyntrophalipolytica*, экспрессированной в клетках *Escherichiacoli*.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлась рекомбинантная липаза, продуцированная клетками *Escherichiacoli*. На предварительном этапе исследования проводили выделение гена липазы из штамма *Thermosyntrophalipolytica*, клонирование гена, кодирующего липазу, создание системы устойчивой экспрессии гена в *Escherichiacoli*, наработку биомассы.

Для выделения фермента использовали метод осаждения серноокислым аммонием: раствор после добавления соли выдерживали в течение 16 ч при 4°C. Сформировавшийся осадок отделяли сепарированием, растворяли в минимальном объеме 0,005 М фосфатного буфера.

Очистку фермента осуществляли хроматографическим методом. Для этого фракцию, полученную после осаждения сульфатом аммония, пропускали через колонку с сефадексом G-150, уравновешенную фосфатно-цитратным буфером (рН 7,5) со скоростью элюции 10 мл/ч по 1 мл.

Для определения изоэлектрической точки рекомбинантной липазы методом изоэлектрического фокусирования использовали очищенный препарат, исследование проводили при градиенте рН от 4,0 до 8,0, создаваемого амфолитом с пределом рН в указанном диапазоне.

Молекулярную массу рекомбинантной липазы определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле по Лэммли и с применением гель-хроматографического метода на сефадексе G-150.

Гидролитическую активность рекомбинантной липазы определяли модифицированным методом Yamada и Machida, в котором в качестве субстрата использовали эмульсию оливкового масла. Реакционная смесь состояла из 5 мл эмульсии оливкового масла в 2%-м растворе поливинилового спирта и 4 мл фосфатно-цитратного буфера (рН 7,0) и 1 мл раствора фермента. Липолиз проводили в стационарных условиях в течение часа при оптимальной температуре. Реакцию останавливали добавлением 30 мл этанола, продукты гидролиза титровали 0,05 М раствором NaOH в присутствии 1%-го спиртового раствора фенолфталеина. За единицу липазной активности принимали такое количество фермента, которое отщепляет 1 мкмоль олеиновой кислоты от 40%-й эмульсии оливкового масла за 1 час при оптимальной температуре. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Для выяснения оптимального значения рН субстрата, при котором гидролиз происходит наиболее активно, проверяли диапазон рН от 4,0 до 9,0 на субстрате – эмульсии оливкового масла с поливиниловым спиртом. Величину рН субстрата устанавливали фосфатно-цитратным буфером. Гидролиз проводился на протяжении 30 мин.

При исследовании температурного оптимума липазы исследовали ее термостабильность. Для этого раствор фермента (1:1000) выдерживали при различных температурах в диапазоне от 60 до 100°C в течение 30–180 мин, после чего определяли активность липазы.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе хроматографической очистки получен препарат рекомбинантной липазы с гидролитической активностью

280000 Ед/г, массовая доля белка равна 32,0%. Степень очистки ферментного препарата составила 85%.

Изучали такие физико-химические свойства рекомбинантной липазы, как изоэлектрическая точка, молекулярная масса, влияние рН и температуры на стабильность фермента, термостабильность.

Результаты определения изоэлектрической точки фермента представлены на

рис. 1, из которого следует, что значение изоэлектрической точки для рекомбинантной липазы находится в интервале рI $3,7 \pm 0,1$ ед. Следует отметить, что пик активности фермента фактически совпадает с пиком выхода белка, иными словами, наблюдается один белковый пик в широком интервале рН, что является признаком высокой степени чистоты исследуемого препарата.

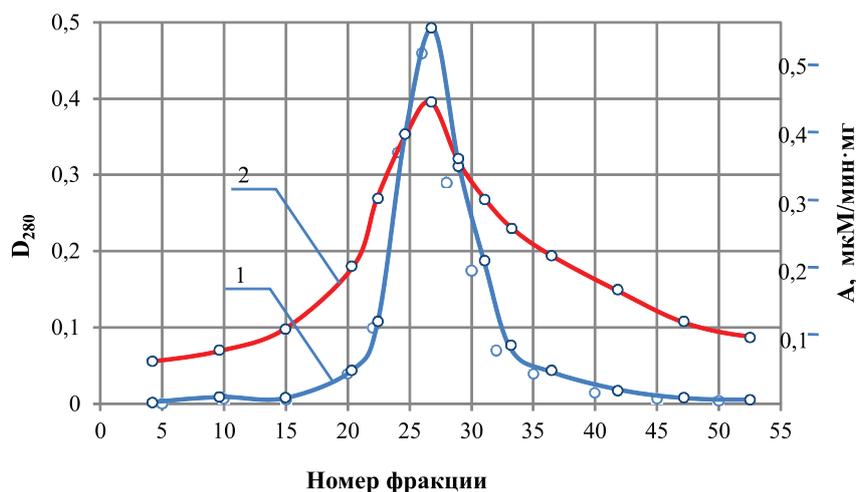


Рис. 1. Определение изоэлектрической точки липазы в градиенте рН от 4,0 до 8,0: 1 – удельная активность, мкМ/мин·мг; 2 – оптическая плотность при 280 нм, D_{280}

Молекулярная масса рекомбинантной липазы, определенная гель-фильтрацией на сефадексе G-150, находится в пределах 14520 ± 20 Да (рис. 2). Исследования молекулярной массы методом электрофореза в полиакриламидном геле показали, что она равна 14500 ± 10 Да (рис. 3).

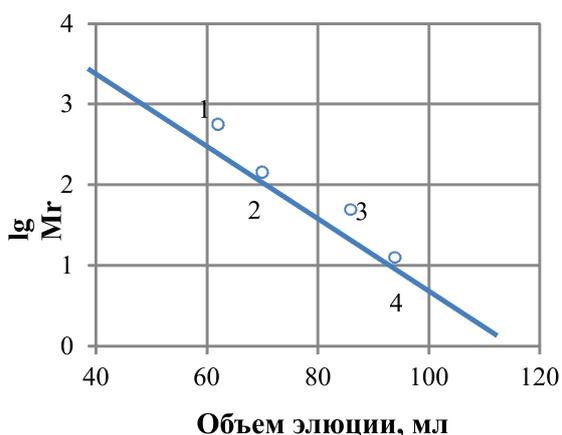


Рис. 2. Определение молекулярной массы липазы гель-хроматографическим методом на сефадексе G-150. Маркерные белки:

- 1 – ферритин (450 кДа);
- 2 – альдолаза (160 кДа);
- 3 – яичный альбумин (45 кДа);
- 4 – цитохром С (12,5 кДа)

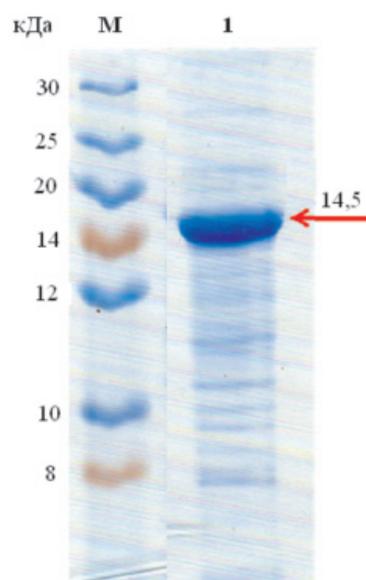


Рис. 3. Определение молекулярной массы липазы методом электрофореза в полиакриламидном геле:

- M – маркер PageRuler (Bio-Rad, США), диапазон молекулярных масс от 8 до 30 кДа;
- 1 – рекомбинантная липаза

Наибольший интерес представляет изучение таких свойств рекомбинантного фермента, как оптимальные условия

функционирования: температура и pH. Для определения pH-оптимума липазы проводили гидролиз эмульсии триглицеридов оливкового масла в интервале pH от 4,0 до 9,0.

На рис. 4 представлены результаты исследования зависимости величины активности липазы от концентрации ионов водорода.

Из рис. 4 следует, что pH-оптимум исследуемой липазы лежит в пределах 7,5–8,5. Следует отметить, что ветви полученной

кривой несимметричны: нисходящая ветвь характеризуется более крутым наклоном.

Как известно, зависимость активности фермента от температуры объясняется тем, что, с одной стороны, данный фактор влияет на белковую часть фермента, приводя к его денатурации и снижению уровня каталитической активности, с другой стороны, при повышении температуры возрастает скорость реакции образования фермент-субстратного комплекса.

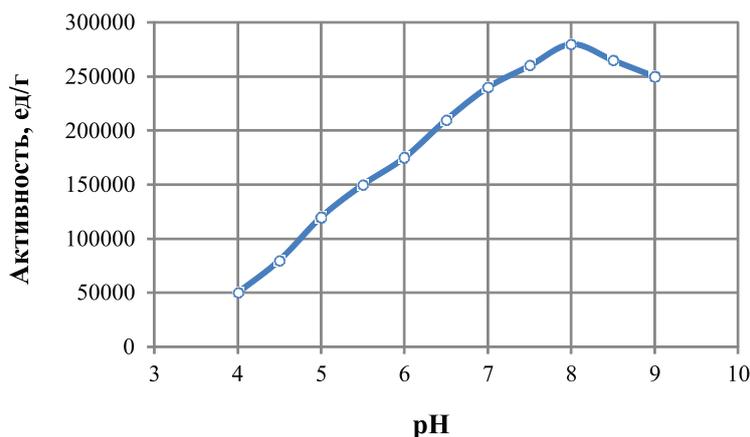


Рис. 4. Зависимости активности липазы от величины pH

На рис. 5 представлена зависимость величины активности липазы от температуры. Данные получены при оптимальном значении pH 8,0 и в температурном интервале от 60 до 100 °С. Из представленного графика видно, что зависимость активности липазы от температуры описывается колоколообразной кривой. При низкой температуре снижение активности связано с уменьшением доли активных молекул фермента, а при высокой – существенно

ми конформационными изменениями в молекуле липазы. Наибольшая активность фермента наблюдается при температуре от 75 до 85 °С и составляет 280000 ед./г белка. Оптимальной температурой функционирования рекомбинантной липазы является 80 °С.

В таблице представлены данные, характеризующие влияние температуры и времени экспозиции на стабильность рекомбинантной липазы.

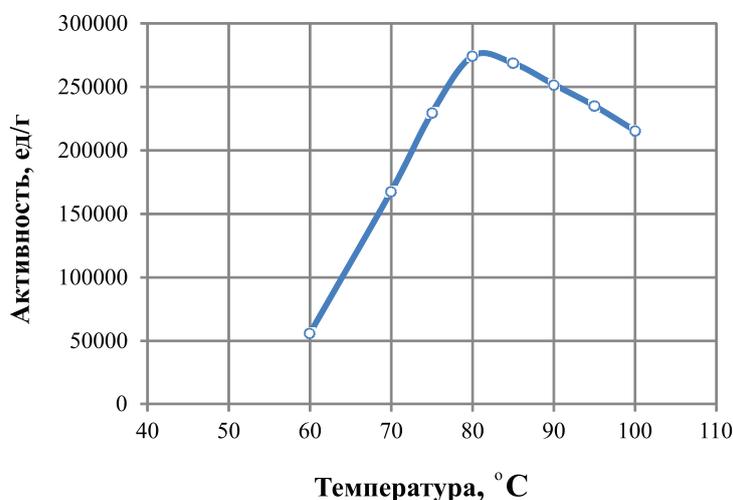


Рис. 5. Влияние температуры на активность липазы при оптимальной величине pH

Исследование термостабильности рекомбинантной липазы

Продолжительность инкубации, мин	Активность рекомбинантной липазы, Ед/г при разной температуре, °С		
	70	80	90
30	280000	275000	275000
60	280000	220000	100000
90	280000	180000	50000
120	280000	150000	35000
150	280000	145000	25000
180	280000	140000	10000

Данные таблицы свидетельствуют о высокой термостабильности рекомбинантной липазы. Так, при температуре 70°C фермент сохраняет 100% активности в течение 180 мин. При температуре 80°C наблюдается сохранение 53,5% гидролитической активности липазы в течение 120 мин, при 90°C теряется 64% активности фермента в течение 60 мин.

Выводы

Получен очищенный препарат рекомбинантной липазы *Thermosyntrophalipolytica* с величиной гидролитической активности 280000 ед./г, степень очистки белка 85%. Изучены физико-химические свойства рекомбинантного белка. Установлено, что значение изоэлектрической точки для рекомбинантной липазы находится в интервале рI 3,7 ± 0,1 ед. Молекулярная масса фермента, определенная гель-фильтрацией на сефадексе G-150, составляет 14520 ± 20 Да. По результатам электрофореза получена величина молекулярной массы 14500 ± 10 Да. Определены оптимальные условия функционирования рекомбинантного фермента: рН 8,0 и температура 80°C. Показана высокая термостабильность рекомбинантной липазы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, конкурс «мол_рф_нр», договор № НС-13-08-90724\13.

Список литературы

1. Бабич О.О. Особенности биотрансформации фенилаланина в технологии продуктов питания для больных фенилкетонурией / О.О. Бабич, И.С. Разумникова, Л.С. Солдатова // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 2. – С. 103–109.
2. Ашрефи Ф.Дж. Препарат липазы *Mucor racemosus* и некоторые его свойства / Ф.Дж. Ашрефи, С.Ю. Касумова, Р.А. Агабекова // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «Естественные науки». – 2010. – № 2. – С. 18–21.
3. Long K. Substrate preference of mycelium-bound lipase from strain of *Aspergillus flavus* / K. Long, H.M. Ghazali, A. Arif, M.Y. Che, C. Bucke // Biotechnol. Lett. – 1998. – № 4. – С. 369–372.
4. Madzak C. Heterologous protein expression and secretion in the nonconventional yeast *Yarrowialipolytica*: a review /

C. Madzak, C. Gaillardin, J.M. Beckerich // Journal of Biotechnology. – 2004. – № 109. – P. 63–81.

5. Schink B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 1997. – Vol. 61. – P. 262–280.

6. Salameh M.A. Purification and characterization of two highly thermophilic alkaline lipases from *Thermosyntrophalipolytica* / M.A. Salameh, J. Wiegel // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73(23). – P. 7725–7731.

7. Марданов А.В. Гидролитические ферменты, кодируемые геномом термоалкалофильной бактерии *Thermosyntrophalipolytica* / А.В. Марданов, А.В. Белецкий, Н.В. Равин // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11 (часть 4). – С. 851–854; URL: www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=9999883.

References

1. Babich O.O. Features of biotransformation of phenylalanine in technology of food for sick phenylketonuria / O.O. Babich, I.S. Razumnikova, L.S. Soldatova // Equipment and technology of food productions. 2011. no. 2. pp. 103–109.
2. Ashrefi F.D. Preparation of a lipase of *Mucor racemosus* and its some properties / F.D. Ashrefi, S.Yu. Kasumova, R.A. Agabekova // Messenger of the Moscow state regional university. Natural Sciences series. 2010. no. 2. pp. 18–21.
3. Long K. Substrate preference of mycelium-bound lipase from strain of *Aspergillus flavus* / K. Long, H.M. Ghazali, A. Arif, M.Y. Che, C. Bucke // Biotechnol. Lett. 1998. no. 4. pp. 369–372.
4. Madzak C. Heterologous protein expression and secretion in the nonconventional yeast *Yarrowialipolytica*: a review / C. Madzak, C. Gaillardin, J.M. Beckerich // Journal of Biotechnology. 2004. no. 109. pp. 63–81.
5. Schink B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997. Vol. 61. pp. 262–280.
6. Salameh M.A. Purification and characterization of two highly thermophilic alkaline lipases from *Thermosyntrophalipolytica* / M.A. Salameh, J. Wiegel // Appl. Environ. Microbiol. 2007. Vol. 73(23). pp. 7725–7731.
7. Mardanov A.V. Hydrolytic enzymes coded by a genome of a thermoalkaliphilic bacterium of *Thermosyntrophalipolytica* / A.V. Mardanov, A.V. Beletsky, N.V. Ravin // Basic researches. 2012. no. 11 (part 4). pp. 851–854.

Рецензенты:

Ульрих Е.В., д.т.н., профессор, ФГБОУ ВПО «Кузбасский государственный технический университет им. Т.Ф. Горбачева», г. Кемерово;

Курбанова М.Г., д.т.н., заведующая кафедрой технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции, ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт», г. Кемерово.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 577.18 я (075.8)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ РЯДА ЕНАМИНОВ И ИХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНАЛОГОВ В ОТНОШЕНИИ РЕФЕРЕНС-ШТАММОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ

¹Нечаева О.В., ²Шуршалова Н.Ф., ²Заярский Д.А., ³Тихомирова Е.И.,

²Сорокин В.В., ³Вакараева М.М., ³Веденева Н.В.

¹*Саратовский государственный медицинский университет*

им. В.И. Разумовского, Саратов, e-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru;

²*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов;*

³*Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов, e-mail: ecology@sstu.ru*

Исследовали антимикробную активность пяти гетероциклических соединений ряда енаминов. Выбран адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилат с выраженной антибактериальной активностью в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Это соединение было использовано в качестве «ядра» при конструировании инновационного препарата по технологии «ядро-оболочка». «Оболочка» создавалась путем последовательной адсорбции на поверхности «ядра» биосовместимого полимера – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат ионами йода. Созданный препарат обладал более высокой антимикробной активностью в отношении всех исследуемых микроорганизмов по сравнению с исходным гетероциклическим соединением, особенно в отношении синегнойной палочки. Создание структур «ядро-оболочка» на основе соединений ряда енаминов, обладающих антимикробными свойствами, и биосовместимых полимеров, является перспективным направлением повышения эффективности синтетических препаратов, обладающих антимикробной активностью, за счет эффекта синергидного действия.

Ключевые слова: референс-штаммы, енамины, структура «ядро-оболочка», антимикробная активность, полиазолидинаммония

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE ENAMINE COMPOUNDS AND THEIR MODIFIED ANALOGUES IN RESPECT OF THE REFERENCE STRAINS AND CLINICAL ISOLATES OF BACTERIA TO

¹Nechaeva O.V., ²Shurshalova N.F., ²Zayarskiy D.A., ³Tikhomirova E.I.,

²Sorokin V.V., ³Vakaraeva M.M., ³Vedeneva N.V.

¹*Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru;*

²*Saratov State University n.a. N.G. Chernyshevsky, Saratov;*

³*Saratov State Technical University n.a. Yu.A. Gagarin, Saratov, e-mail: ecology@sstu.ru*

Research of antimicrobial activity of five heterocyclic enamine compounds of was conducted. From those we selected adamantylmethilene- cyclohexene-dicarboxylate with high antibacterial properties towards reference-strains and clinical isolates of Gram-positive and Gram-negative bacteria. We created the in which «core-shell» structure adamantylmethilene- cyclohexene -dicarboxylate acted as a core. The cover was created by consecutive adsorption of biocompatible polymer on «core-shell» surfaces. That polymer was poly azolidine ammonium the hydrate ions of halogens. Increase of antimicrobial activity of the «core-shell» structure towards all studied microorganisms (compared with initial heterocyclic compound) was established. The synergic effect of enamines and polymeric was found. Therefore, creation «core-shell» structure on the basis of heterocyclic compounds with antimicrobial properties and biocompatible polymers is the perspective direction of efficiency increase of the synthetic preparations possessing biological activity.

Keywords: reference strains, enamines, «core-shell» structure, antimicrobial activity, poly azolidine ammonium

В настоящее время одной из основных проблем практической медицины и ветеринарии является преодоление приобретенной лекарственной устойчивости, которая возникает в процессе использования химиотерапевтических препаратов. Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является внедрение новых антимикробных средств, полученных путем направленного синтеза химических соединений с заданными биологическими свойствами, поскольку установлена зависимость противомикробной активности

препаратов от их химической структуры. Необходимость в новых препаратах также связана с расширением их антимикробного спектра, повышением активности в отношении полирезистентных возбудителей, снижением токсических свойств.

Поскольку поиск химических соединений, обладающих выраженной антимикробной активностью и низкой токсичностью для макроорганизма, является актуальным, представляло интерес изучить антимикробные свойства гетероциклических соединений ряда енаминов, а также их

модифицированных аналогов в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Выбор соединений ряда енаминов связан с тем, что они являются структурными аналогами противовирусных препаратов. Перечень исследуемых соединений представлен в табл. 1.

На первом этапе работы была изучена антимикробная активность исследуемых соединений. Рабочее разведение препаратов готовили в 0,1% ДМСО. Соединения А-1, А-3, Т-1 и Т-2 плохо растворялись даже при высокой концентрации ДМСО, и их рабочие разведения представляли собой суспензии, в которых через некоторое время выпадал осадок.

Из всех исследованных соединений наилучшей растворимостью характеризо-

валось соединений А-2. Антимикробная активность соединения А-2 представлена в табл. 2.

Таблица 1
Перечень гетероциклических соединений ряда енаминов

№ п/п	Лабораторный шифр соединения	Сокращенное название
1.	А1	Адамантилметилен-аминоциклогексен-дикарбоксилат
2.	А2	Адамантилметилен-циклогексен-дикарбоксилат
3.	А3	Адамантилметилен-енамин
4.	Т1	Тетрагидро[1,2,4]-триазоло[3,4- <i>b</i>]хиназолин
5.	Т2	Триазолохиназолин

Таблица 2
Антимикробная активность адамантилметилен-циклогексен-дикарбоксилата

	Концентрация соединения, мкг/мл										К
	100	50	25	12,5	6,4	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	
<i>S. aureus</i> 209 P	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 2	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 6	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 21	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 23	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 92	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 430	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i> 8035	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 113-13	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

В ходе проведенных исследований было установлено, что МПК соединения А-2 для стандартного штамма *S. aureus* 209 P и клинического штамма *S. aureus* № 21 составила 25 мкг/мл, для клинических штаммов *S. aureus* № 2, *S. aureus* № 23 – 50 мкг/мл, *S. aureus* № 92, *S. aureus* № 430 – 100 мкг/мл. МПК А-2 для *B. cereus* 8035 – 50 мкг/мл, а для *E. coli* 113-13 – 100 мкг/мл. Для *P. aeruginosa* ATCC 27853 не удалось определить МПК А-2, т.к. во всех пробирках наблюдался рост в виде равномерного помутнения со слизистой пленкой на поверхности. При концентрации соединения А-2 100 мкг/мл наблюдалось нарушение пигментации у *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Поскольку ранее нами было установлено, что ПААГ обладает выраженной антимикробной активностью в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий (Вакараева, Нечаева, 2013), представляло интерес изучить био-

логическую активность структуры «ядро-оболочка», в которой в качестве ядра выступало соединение А-2, вокруг которого путем последовательной адсорбции создавалась полиэлектролитная оболочка 1% ПААГ. Биологическую активность структур «ядро-оболочка» оценивали с использованием метода серийных разведений. Полученные результаты представлены в табл. 3.

В ходе проведенных исследований установлено повышение биологической активности соединения А-2 после его модификации полимером ПААГ. На рис. 1 представлены диаграммы МПК соединения А-2, а также его модификации ПААГ в виде структуры «ядро-оболочка» в отношении стандартных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Наблюдалось повышение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» в отношении стандартных штаммов *S. aureus* 209 P в 62 раза, *B. cereus* 8035 – в 16 раз, *E. coli*

113-13 – в 2 раза. МПК модифицированно-го соединения А-2 для *P. aeruginosa* ATCC 27853 составила 25 мкг/мл, хотя при ис-

пользовании соединения А-2 в исследуемых концентрациях МПК для синегнойной палочки установить не удалось.

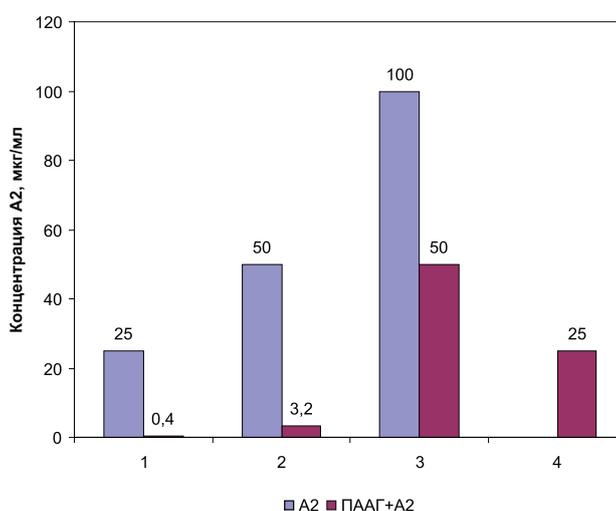


Рис. 1. МПК А-2 и структуры «ядро-оболочка» ПААГ+А-2 в отношении референс-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий: 1 – *S. aureus* 209 P; 2 – *B. cereus* 8035; 3 – *E. coli* 113-13; 4 – *P. aeruginosa* ATCC 27853

Таблица 3

Биологическая активность структуры «ядро-оболочка» адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата, модифицированного ПААГ

	Концентрация соединения А-2, мкг/мл										
	100	50	25	12,5	6,4	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	К
<i>S. aureus</i> 209 P	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>S. aureus</i> № 2	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 6	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 21	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 23	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 92	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 430	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i> 8035	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 113-13	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+

На рис. 2 представлены диаграммы МПК соединения А-2, а также его модификации ПААГ в виде структуры «ядро-оболочка» в отношении референс-штамма и клинических изолятов золотистого стафилококка. Отмечено повышение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» по сравнению с исходным соединением А-2 в отношении референс-штамма *S. aureus* 209 P и клинических изолятов *S. aureus* № 6 и № 23 – в 62 раза, *S. aureus* № 2, № 21 и № 92 – в 32 раза, *S. aureus* № 430 – в 16 раз.

Помимо этого во всех случаях наблюдался синергидный эффект взаимодействия гетероциклического соединения с полиме-

ром, который в итоге приводил к повышению антимикробных свойств ПААГ. Особенно ярко это проявлялось в отношении *P. aeruginosa* ATCC 27853: происходило увеличение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» по сравнению с ПААГ в 2,5 раза.

В ходе проведенных исследований нами было установлено, что повышение биологической активности структуры «ядро-оболочка» соединения А-2 и ПААГ в большей степени выражено в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных бактерий. Более высокие значения МПК в отношении стандартных

штаммов грамотрицательных бактерий, вероятно, связаны с особенностями строения их клеточной стенки.

Таким образом, полученные результаты позволяют нам рассматривать соединение ряда енаминов адамантилметиленициклогексен-дикарбоксилат в комплексе

с ПААГ как перспективный антимикробный препарат, а создание комплексов «ядро-оболочка» на основе гетероциклических соединений и биосовместимых полимеров – эффективными для повышения биологической активности синтетических препаратов.

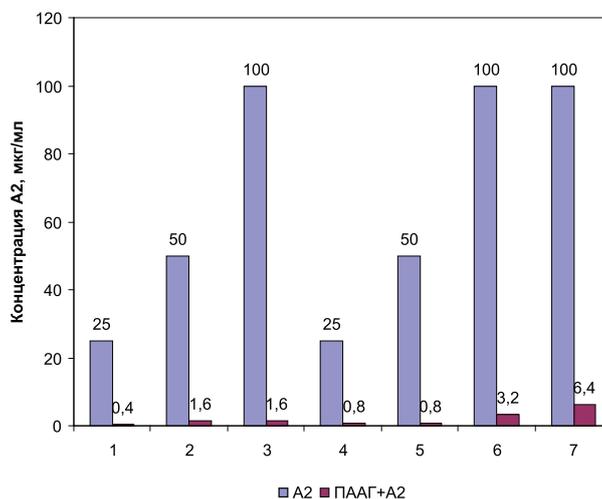


Рис. 2. МПК А-2 и структуры «ядро-оболочка» ПААГ+А-2 в отношении референс-штаммов и клинических изолятов коагулазоположительных стафилококков: 1 – *S. aureus* 209 P; 2 – *S. aureus* № 2; 3 – *S. aureus* № 6; 4 – *S. aureus* № 21; 5 – *S. aureus* № 23; 6 – *S. aureus* № 92; 7 – *S. aureus* № 430

Список литературы

1. Бабенышева А.В., Лисовская Н.А. Синтез и антимикробная активность замещенных бензоксазинов и хиноксалинов // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – № 10. – С. 34–36.

2. Ботаева А.А., Красных О.П., Дубровина С.С. и др. Синтез и противомикробная активность метиловых эфиров 2-(тет)арил-амино-4-оксо-2-бутеновых кислот и продуктов их модификации // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 8. – С. 12–15.

3. Козлов Р.С. Клиническое значение резистентности грамположительных бактерий // Инфекции в хирургии. – 2009. – Т. 7. – Приложение № 1. – С. 3–10.

4. Коньков С.А., Моисеев И.К. Синтез пиразолов и пиразолонов на основе 1,3- и 1,4-дикетонов адамантанового ряда // Журнал органической химии. – 2009. – Т. 45, Вып. 12. – С. 1828–1831.

5. Сидоренко С.В., Агапова Е.Д., Александрова И.А. Перекрестная и ассоциированная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, устойчивых к цефалоспорином 3 поколения // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53, № 1-2. – С. 3-10.

6. Boyle-Vavra S., Carey R.B., Dauma R.S. Development of vancomycin and lysostaphin resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate / S. Boyle-Vavra, // J. Antimicrob. Chemother. – 2001. – Vol. 48, № 5. – P. 617–625.

7. Cui L., Ma X., Sato K. et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 1. – P. 5–14.

References

1. Babenysheva A.V., Lisovskaya N.A., Sintez i antimikrobnaya aktivnost zameshennykh benzoksazinov i hinoksalinov., Himiko-farmaceuticheskii zhurnal 2006, 34–36 p.

2. Botaeva A.A., Krasnyh O.P., Dubrovina S.S., Sintez i protivomikrobnaya aktivnost metilovykh efirov 2-aril-amino-4-okso-2-butenovykh kislot i produktov ih modifikacii., Himiko-farmaceuticheskii zhurnal, 2008, 12–15 p.

3. Boyle-Vavra S., Carey R.B., Dauma R.S., Development of vancomycin and lysostaphin resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates S. Boyle-Vavra, J. Antimicrob. Chemother. 2001, 617–625 p.

4. Kozlov R.S., Klinicheskoe znachenie rezistentnosti grampozlozritelnykh bakteriy Infekcii v hirurgii., 2009, 3–10 p.

5. Konkov S.A., Moiseev I.K., Sintez pirazolov i pirazolonov na osnove 1,3- i 1,4-diketonom adamantanovogo ryada. Zhurnal organicheskoy himii, 2009, 1828–1831 p.

6. Sidorenko S.V., Agapova E.D., Aleksandrova I.A., Perekrestnaya i associirovannaya antibiotikorezistentnost gramotricatelnykh bakteriy semeystva *Enterobacteriaceae*, ustoychivyyh k cefalosporinam 3 pokoleniya. Antibiotiki i himioterapiya, 2008, 3–10 p.

7. Cui L., Ma X., Sato K. et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol, 2003, Vol. 41, 5–14 p.

Рецензенты:

Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой «Микробиология, вирусология и биотехнология» Саратовского государственного аграрного университета имени Н.И. Вавилова, г. Саратов;

Луцевич И.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гигиены медико-профилактического факультета СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

УДК 579:61

ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ ПАТОГЕННОСТИ СТАФИЛОКОККОВ КОЖИ

¹Фалова О.Е., ²Потатуркина-Нестерова Н.И., ³Ильина Е.Н.

¹ФГОУ ВПО «Ульяновский государственный технический университет», Ульяновск, e-mail: falova@rambler.ru;

²ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск;

³ФГБУ НИИ «Физико-химической медицины ФМБА России», Москва

Произведена оценка состояния микрофлоры кожи людей на фоне различных хронических дерматозов. Выявлены значительные изменения в составе микробиоценоза кожи в виде преобладания грамположительной флоры, в частности, представителей *Staphylococcus spp.* Исследование проводили на пораженных и интактных участках кожи. Обнаружена высокая частота встречаемости золотистого стафилококка как на пораженных участках кожи, так и интактных. С целью установления идентичности исследуемых штаммов стафилококков проведено типирование международным набором бактериофагов и определена частота встречаемости наиболее частых фаговаров. Методом полимеразно-цепной реакции исследованы генетические детерминанты некоторых свойств патогенности стафилококков. Выявлена частота встречаемости генов, детерминирующих энтеротоксины золотистого стафилококка и представителей коагулазоотрицательных стафилококков. Обсуждается возможная взаимосвязь различных фаговариантов стафилококков с их генетическими детерминантами патогенности.

Ключевые слова: микрофлора кожи, стафилококки, фаготипирование, генотипирование стафилококков, хронические дерматозы

INTERRELATION OF INTRASPECIFIC VARIETY AND GENETIC DETERMINANTS OF SKIN'S STAPHYLOCOCCUS PATHOGENICITY

¹Falova O.E., ²Potaturkina-Nesterova N.I., ³Ilina E.N.

¹Ulyanovsk state technical university, Ulyanovsk, e-mail: falova@rambler.ru;

²Ulyanovsk state university, Ulyanovsk;

³Physical and chemical medicine research institute, Moscow

This article deals with assessment of people's skin microflora with various chronic dermatoses. Considerable changes in microbiocenosis skin's structure in the form of grampositive flora prevalence, in particular, representatives of *Staphylococcus spp.* are revealed. Research on the struck and intact skin sites was conducted. High frequency of *Staphylococcus aureus* on the struck skin, and intact skin is found. For the purpose to identify studied staphylococcus strains the tipirovaniye is carried out by the international set of bacteriophages. The frequency of the most frequent fagotypes is determined. By the polimerazno-chain reaction, method genetic determinants of some properties of *Staphylococcus spp.* pathogenicity were investigated. Frequency of *Staphylococcus aureus* enterotoxin's genes determinants and koagulazonegative staphylococcus representatives is revealed. The possible interrelation of various staphylococcus phages types with their pathogenicity genetic determinants is discussed.

Keywords: skin microflora, staphylococcus spp., genotyping, phagotyping, chronic dermatoses

В настоящее время доказан факт смещения микробного равновесия микробиоценозов кожи при различных хронических дермопатологиях [6]. Определены основные ключевые сочлены таких видоизмененных микробных сообществ, в качестве которых выступают бактерии рода *Staphylococcus ssp.* [2, 4]. Причем отмечается обсемененность как пораженных патологическим процессом участков кожи, так и прилегающих здоровых участков [8]. Особая роль при этом отводится коагулазоположительным и коагулазоотрицательным стафилококкам. В ряде работ показано, что при псориазе происходит вытеснение облигатных представителей микрофлоры транзиторными сочленами микробиоценоза [6]. При экземе отмечен значительный рост грамположительной кокковой флоры, представленной в основном бактериями

рода *Staphylococcus*, в меньших количествах – *Streptococcus* [7]. Показано, что патогенные микроорганизмы *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes* вытесняют представителей резидентной микрофлоры [8]. При атопическом дерматите (АД) некоторыми авторами установлено, что у 75% обследованных высевается *S. aureus* в титрах $\log_{10} 5,2 \pm 1,2$ КОЕ/см², а при тяжелом течении АД – только *S. aureus* в титрах $\log_{10} 5,7 \pm 0,8$ КОЕ/см² [1, 8].

Значительное внимание уделяется факторам патогенности и вирулентности, обуславливающим длительное персистирование стафилококков. К таким факторам относят гемолитическую, лецитинеллазную, лизоцимную и антилизоцимную активности и др. [3].

С учетом тяжести течения перечисленных кожных дерматозов и их невыясненной

до настоящего времени этиологии остается актуальным изучение микрофлоры кожи и ее патогенетической роли в развитии кожных дерматозов.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение частоты встречаемости генов, детерминирующих патогенность стафилококков, выделенных с кожи людей при хронических дерматозах, и анализ возможной взаимосвязи внутривидового разнообразия стафилококков с их генетическими детерминантами патогенности.

Материалы и методы исследования

Исследованы смывы с кожи, полученные от 250 лиц в возрасте от 18 до 80 лет, находящихся в стационаре областного кожно-венерологического диспансера г. Ульяновска с хроническими дерматозами: псориаз (43,1%), экзема (38,6%), атопический дерматит (18,1%). Контрольную группу составили 80 практически здоровых человек, репрезентативных по полу и возрасту.

Забор исследуемого материала производили с пораженных и интактных участков кожи ватным тампоном, смоченным 0,85% раствором хлористого натрия. Смывы в количестве 0,1 мл засеивали на питательные среды, через 48 часов подсчитывали количество выросших колоний и пересчитывали на 1 см² кожи по Иванову (1984). Идентификацию микроорганизмов осуществляли по стандартным методам. Качественное и количественное исследование микробиоценозов кожи осуществляли на базе бактериологической лаборатории Городской клинической больницы № 1 г. Ульяновска (зав. лабораторией – Волгина Т.И.).

Фаготипирование выделенных стафилококков проводили Международным набором бактериофагов по методике, рекомендуемой инструкцией, прилагаемой к набору фагов.

Выделение геномной ДНК стафилококков проводили с использованием набора «Политуб» (ТУ-9398-410-17253567-97) (ООО НПФ Литех, Россия) в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Для установления наличия генов, детерминирующих синтез стафилококковых энтеротоксинов (гены *sea* – *sed*, *sei* – *sej*), применена традиционная ПЦР с использованием предложенных ранее праймеров [11, 12, 13, 14].

Все полученные данные подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007. Производили подсчет средних арифметических, отклонений от среднего, достоверность различий определяли по критерию t по Стьюденту. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Из всех обнаруженных на пораженных участках кожи микроорганизмов 79,8% составляли стафилококки, на интактных участках частота встречаемости стафилококков составила 81,3% случаев. Причем на долю золотистого стафилококка приходилось 43,8% случаев в количественном значении $806,7 \pm 139$ КОЕ/см² на пораженных участках и 22,2% ($141,2 \pm 64,3$ КОЕ/см²) – на интактных ($p < 0,05$).

В результате работы установлено, что 56,3% штаммов от общего количества выделенных культур типировались Международным набором бактериофагов, что согласуется с данными, имеющимися в литературе [9].

Была проанализирована принадлежность выделенных штаммов *S. aureus* к фагогруппам в зависимости от источника их выделения (пораженные участки кожи и интактные). Как показывают результаты, штаммы, выделенные с пораженных участков кожи, типировались бактериофагами в 60,7% случаев, а выделенные с интактных участков – в 58,8% случаев ($p > 0,05$).

Следует отметить, что фагопейзаж стафилококков, выделенных из смывов с кожи лиц с хроническими дерматозами, характеризовался значительным разнообразием. Наибольшую чувствительность изученные штаммы проявили к бактериофагам третьей фагогруппы, составив 37,0% случаев от числа типлируемых штаммов. Значительно большее количество штаммов принадлежало к смешанной группе – 55,5% случаев, и менее всего штаммы проявили чувствительность к бактериофагам второй фагогруппы – 3,7% случаев. Анализ фагомозаики изученных штаммов в зависимости от участка кожи, с которого они были выделены, показал, что, штаммы, выделенные с интактных участков кожи, в основном принадлежали к смешанной фагогруппе (60,0%), в то время как выделенные с пораженных участков кожи относились к смешанной фагогруппе в 52,5% ($p < 0,05$). Следует отметить, что лизис штаммов третьей фагогруппой отмечен в 41,2% на пораженной коже и в 30% случаев – на интактных участках ($p < 0,05$). Чувствительность к фагам первой группы с интактной кожи проявили штаммы стафилококка в 10% случаев. К пятой фагогруппе относились только 5,8% штаммов, выделенных с пораженной кожи. Проведенное исследование не обнаружило фагов других групп.

Фаготипирование дает возможность выявить принадлежность стафилококков к тому или иному фаговару вследствие специфичности используемых бактериофагов, что позволяет судить об эпидемиологической роли и значимости стафилококков. Исследование же генетической гетерогенности штаммов возможно при применении современных молекулярно-генетических методов исследования структуры ДНК. Так, определение генетических детерминант патогенности позволяет на генетическом уровне охарактеризовать патогенный потенциал микроорганизмов [10]. В связи с этим основу анализа составили гены, детерминирующие синтез энтеротоксинов А, В, С и др., т.е. те гены, продукты которых могут оказать влияние на состояние иммунореактивности

макроорганизма [5]. Результаты проведенных исследований показали наличие генов, детерминирующих токсинообразование стафилококков у 40,5% изученных штаммов. Следует отметить, что частота встречаемости указанных генов у штаммов *S. aureus* составила 86,7%, а у коагулозоотрицательных штаммов – 13,3% случаев.

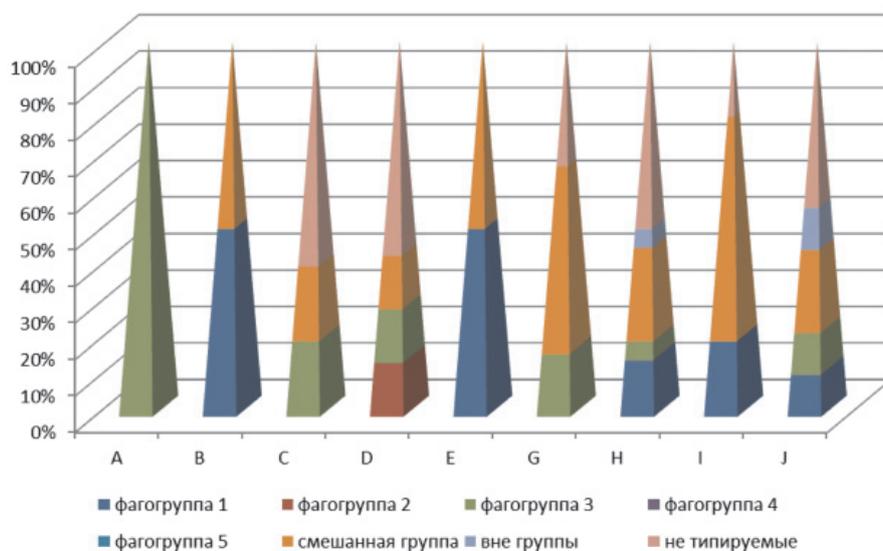
Обнаружена значительная вариабельность в наборе генов, детерминирующих синтез этих токсинов у клинических изолятов стафилококков. Так, изученные штаммы имели от одного до четырех генов в различных сочетаниях. В геноме 35 изолятов обнаружен только один ген из *sea* – *sei*. У 20 штаммов преобладали по два гена и у 20 штаммов – от трех до четырех генов. В целом из общего количества генетических детерминант токсинообразования преобладали гены *seg* – 26,8%, *seh* – 17,1% случаев.

Исходя из значительной видовой вариабельности грамположительной флоры в микробиоценозе кожи исследуемых лиц,

была проанализирована частота встречаемости генов, определяющих токсинообразование стафилококков в зависимости от видовой принадлежности штаммов.

Наибольшим разнообразием генов обладали штаммы золотистого стафилококка, среди которых преобладал ген *seg*. В связи с тем, что среди коагулазоотрицательных штаммов стафилококков наибольшую частоту встречаемости показали гемолитический и эпидермальный стафилококки, а доля остальных оказалась незначительна, то анализ генов, детерминирующих токсинообразование, осуществляли только у этих видов стафилококков, что показало у *S. haemolyticus* наличие только генов *seb* и *sed*, у эпидермального стафилококка только *seh*.

Следующим этапом была проанализирована взаимосвязь встречаемости генетических детерминант патогенности стафилококков и обнаруженных фаговаров (рисунок).



Соотношение генетических детерминант энтеротоксигенности стафилококков с принадлежностью к фаговарам

Как видно из рисунка, соотношение двух исследуемых признаков «энтеротоксигенность – фаговар» представляет достаточно мозаичную структуру для изученных культур стафилококков. Для тех штаммов стафилококков, которые относились к третьей и смешанной фагогруппам, обнаружено наличие генетических детерминант энтеротоксинов *seb*, *see*, *seh*. Наличие же таких генов, как *sec*, *sed*, принадлежало стафилококкам, которые не типировались международным набором бактериофагов. Выявлена корреляция признаков между фаговариантом штаммов стафилококков и частотой обнаружения гена токсигенности *seh* ($r = 0,83$), *sec* ($r = 0,9$), *sed* ($r = 0,82$), *seg* ($r = 0,93$).

Выводы

В ходе проведенного исследования выявлено, что на фоне хронических дерматозов происходят изменения состояния микрорейзажа кожи. Отмечено превалирование грамположительной кокковой флоры в составе сочленов микробиоценоза, причем основная доля отводится бактериям рода *Staphylococcus spp.* С целью установления внутривидовой идентификации штаммов, колонизирующих пораженные и интактные участки кожи, проведено типирование международным набором бактериофагов. Результаты показали, что 60,7 и 58,8% штаммов с пораженных участков и интактных участков кожи типировались набором

бактериофагов. Вследствие чего выявлено, что штаммы в основном относились к смешанной фагогруппе, т.е. типировались одновременно более чем двумя бактериофагами.

Молекулярно-генетический анализ по обнаружению генетических детерминант патогенности показал, что частота обнаружения генов энтеротоксигенности у изученных штаммов стафилококков составила 40,5% случаев. Показана значительная вариабельность в наборе этих генов у изученных штаммов в зависимости от принадлежности к коагулазоположительным и коагулазонегативным стафилококкам. Анализ возможной взаимосвязи выделенных фаговаров стафилококков с генами энтеротоксигенности показал, что эта структура крайне разнообразна, коэффициент корреляции для различных фаговаров и генов детерминант энтеротоксигенности составляет от 0,82 до 0,93, что свидетельствует о наличии прямой сильной взаимосвязи между парами рассматриваемых признаков «фаговар-ген энтеротоксигенности».

Список литературы

1. Баязитова Л.Т. Вирулентные свойства стафилококковой микрофлоры кожи при atopическом дерматите: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Уфа, 2009. – 24 с.
2. Баязитова Л.Т. Фенотипические особенности кокковой микрофлоры кожи в норме и при atopическом дерматите / Л.Т. Баязитова, Р.С. Фассахов, Ю.А. Тюрин, Е.О. Сукманская, Е.Б. Круглова, С.Н. Куликов, О.Ф. Тюпкина, Д.А. Долбин // Российский аллергологический журнал. 2007. – № 4. – С. 48-52.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий: теория и практика // Журнал. Микробиол. – 2000. – № 4. – С. 4-7.
4. Воронина В.Р. Особенности микробиоценоза кожи больных atopическим дерматитом и терапия его осложнений / Воронина В.Р., Пампура А.Н., Феденко Е.С. // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 3. – С. 3-11.
5. Метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus* возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование. Методические рекомендации (утв. Роспотребнадзором 23.07.2006).
6. Нестеров А.С. Микробный фактор в развитии хронических дерматозов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2007. – № 4. – С. 18-20.
7. Никонова И.В. Состояние биоценоза кожи при микробной экземе / И.В. Никонова, Е.В. Орлов, П.Е. Коннов // Практическая медицина. – 2011. – № 49. – С. 80-83.
8. Текучева Л.В. Мониторинг стафилококковой микрофлоры кожи у больных atopическим дерматитом / Л.В. Текучева, Е.В. Зайцева, В.Г. Арзуманян, Р.М. Темпер // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – № 5. – С. 69-72.
9. Емжуева Д.З. Характеристика нормальной микрофлоры влагалища у здоровых женщин репродуктивного возраста / Д.З. Емжуева, С.Б. Хадзегова // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 6. – С. 50-51.
10. Немова И.С. Определение фрагментов ДНК FIM A, HLY A, B, C, и PAP, используемых для выявления адгезинов, гемолизинов, манноза-резистентных гемагглютининов у генитальных штаммов *Escherichia coli*, выделенных у женщин при воспалительных заболеваниях репродуктивного тракта // Вестник брянского государственного университета. – 2012. – Т. 4. – № 4. (2) – С. 198-201.
11. Ito T., Y. Katayama, and K. Hiramatsu. 1999. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:1449-1458
12. Katayama Y., T. Ito, and K. Hiramatsu. 2000. A new class of genetic element, *staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1549-1555.
13. Ito T., Y. Katayama, K. Asada et al. 2001. Structural comparison of three types of *staphylococcal* cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1323-1336.
14. Ito T., X. X. Ma, F. Takeuchi et al. 2004. Novel type V *staphylococcal* cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob. Agents Chemother.*

References

1. Bayazitova L.T. Virulentnye svoystva stafilokokkovoy mikroflory kozhi pri atopicheskom dermatite: avtoref. Diss... kand. Med. Nauk. Ufa, 2009. pp. 24.
2. Bayazitova L.T. Fenotipicheskie osobennosti kokkovoy mikroflory kozhi v norme I pri atopicheskom dermatite / Bayazitova L.T., Fassakhov, Turin U.A., Sukmanskaya E.O., Kругlova E.B., Kulikov S.N., Nupkina O.F., Dolbin D.A. // Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal. 2007. no. 4. pp. 48-52.
3. Bukharin O.V. Persistentsiya patogennykh bakteriy: teoriya I praktika // zhurnal mikrobiologii. 2000. no. 4. pp. 4-7.
4. Voronina V.R. Osobennosti mikrobiotsenoza kozhi bolnykh atopicheskim dermatitom I terapiya ego oslozhneniy / Voronina B.R., Pampura A.N., Fedenko E.S. // Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal. 2007. no. 3. pp. 3-11.
5. Metitsillinrezistentnye *Staphylococcus aureus* vzbuditeli vnutribolnichnykh infektsiy: identifikatsiya I genotipirovanie. Metodicheskie pekomentatsii (utv. Rosspotrebнадzorom 23.07.2006).
6. Nesterov A.S. Mikrobnyy factor v razvitiy khronicheskikh dermatozov // Vestnik dermatologii I venerologii. 2007. no. 4. pp. 18-20.
7. Nikonova I.V. Sostoyanie biotsenoza kozhi pri mikrobnoy ekzeme / Nikonova I.V. Orlov E.V., Konnov P.E. // Prakticheskaya meditsina. 2011. no. 49. pp. 80-83.
8. Tekuchova L.V., Zaiceva E.V., Arzumanyan V.G., Temper R.M. Monitoring stafilokokkovoy mikroflory kozhi u bolnykh atopicheskim dermatitom. – vestnik dermatologii i venerologii. 2006. no. 5. pp. 43-45.
9. Ekmuzheva D.Z. Kharakteristika normalnoy mikroflory vlagalisha u zdorovykh zhenshin reproduktivnogo vozrasta // Ekmuzheva D.Z., Khadzegova S.B. // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2003. no. 6. pp. 50-51.
10. Nemova I.S. opredelenie DNK FIM a, HLY a, B, C, I PAP, ispolzuemykh dlya vyyavleniya adgezinov, gemolizinov, mannoza-rezistentnykh gemagglutininov u genitalnykh shtammov *Escherichia coli*, vydelennykh u zhenshin pri vopcalitelnykh zabolevaniyakh reproduktivnogo trakta // Vestnik byanskogo gocudarstvennogo univerciteta. 2012. T.4. no. 4. (2). pp. 198-201.
11. Ito, T., Y. Katayama, and K. Hiramatsu. 1999. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:1449-1458.
12. Katayama, Y., T. Ito, and K. Hiramatsu. 2000. A new class of genetic element, *staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1549-1555.
13. Ito, T., Y. Katayama, K. Asada et al. 2001. Structural comparison of three types of *staphylococcal* cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1323-1336.
14. Ito, T., X. X. Ma, F. Takeuchi et al. 2004. Novel type V *staphylococcal* cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob. Agents Chemother.*

Рецензенты:

Нестеров А.С., д.м.н., профессор, зав. циклом «Кожные и венерические болезни» кафедры инфекционных и кожно-венерических болезней медицинского факультета, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;

Ильина Н.А., д.б.н., профессор, проректор по научной работе, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет» им. И.Н. Ульянова, г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.

(<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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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 (подпись 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 обнаружить произведение посредством его опубликования в печати.

Плагиатом считается умышленное присвоение авторства чужого произведения науки или мысли 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.

Марьянских 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.], 20052007. 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.

Пример 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., Svешnikov A.V. *Trudy 6 Mezhdunarodnogo Simpoziuma «ovye resursoberegayushchie 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 uchennykh, 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 vozrozhdeniyu: 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 наименования 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:

Taganrogskiĭ 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, избылируют 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=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1>.

(В соответствии с рекомендациями О.В. Кирилловой, к.т.н., заведующей отделением ВИНТИ 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.

Пример 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., Mullagalina I.Z., Muhametshina R.Ju., Chervyakova A.N., Sveshnikov A.V. *Trudy 6 Mezhdunarodnogo Simpoziuma «O nye 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'vo 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 ВИНТИ РАН члена Экспертного совета (CSAB) БД SCOPUS)

Оплата издательских расходов составляет:

3500 руб. – для авторов при предоставлении статей и сопроводительных документов в редакцию через **сервис Личный портфель**;

5500 руб. – для авторов при предоставлении статей и сопроводительных документов в редакцию по электронной почте **без использования сервиса Личного портфеля**;

4200 руб. – для оплаты издательских расходов организациями при предоставлении статей и сопроводительных документов в редакцию через **сервис Личный портфель**;

6200 руб. – для оплаты издательских расходов организациями при предоставлении статей и сопроводительных документов в редакцию по электронной почте **без использования сервиса Личного портфеля**;

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»*

*** Просим указывать только одно из предоставленных названий организации. 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 40702810700540002324

Банк получателя: Нижегородский филиал ОАО «Банк Москвы» г. Нижний Новгород
к/с 30101810100000000832

БИК 042282832

Назначение платежа*: Издательские услуги. Без НДС. ФИО автора.

***В случае иной формулировки назначения платежа будет осуществлен возврат денежных средств!**

Копия платежного поручения высылается через «Личный портфель автора», по e-mail: edition@rae.ru или по факсу +7 (8452)-47-76-77.

**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. Николаямская, 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.

ЗАКАЗ ЖУРНАЛА «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ»

Для приобретения журнала необходимо:

1. Оплатить заказ.
2. Заполнить форму заказа журнала.
3. Выслать форму заказа журнала и сканкопию платежного документа в редакцию журнала по e-mail: edition@rae.ru.

Стоимость одного экземпляра журнала (с учетом почтовых расходов):

- Для физических лиц – 1150 рублей
 Для юридических лиц – 1850 рублей
 Для иностранных ученых – 1850 рублей

ФОРМА ЗАКАЗА ЖУРНАЛА

Информация об оплате способ оплаты, номер платежного документа, дата оплаты, сумма	
Сканкопия платежного документа об оплате	
ФИО получателя полностью	
Адрес для высылки заказной корреспонденции индекс обязательно	
ФИО полностью первого автора запрашиваемой работы	
Название публикации	
Название журнала, номер и год	
Место работы	
Должность	
Ученая степень, звание	
Телефон указать код города	
E-mail	

Образец заполнения платежного поручения:

Получатель ИНН 6453117343 КПП 645301001 ООО «Организационно-методический отдел» Академии Естественных наук	Сч. №	40702810700540002324
	БИК	042282832
	к/с	30101810100000000832
Банк получателя Нижегородский филиал ОАО «Банк Москвы» г. Нижний Новгород		

НАЗНАЧЕНИЕ ПЛАТЕЖА: «ИЗДАТЕЛЬСКИЕ УСЛУГИ. БЕЗ НДС. ФИО»

Особое внимание обратите на точность почтового адреса с индексом, по которому вы хотите получать издания. На все вопросы, связанные с подпиской, Вам ответят по телефону: 8 (8452)-47-76-77.

По запросу (факс 8 (8452)-47-76-77, E-mail: stukova@rae.ru) высылается счет для оплаты подписки и счет-фактура.