

ISSN 1607-9906



ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Рецензируемый
научно-практический журнал

2014
Том 13
№5



ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 13

№5

2014

Рецензируемый научно-практический журнал. Основан в 2002 году
Учредитель – Учреждение образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский университет»

Главный редактор:

Дейкало Валерий Петрович – д.м.н., профессор.

Редакционная коллегия:

Алексанин С.С. – д.м.н., профессор,
Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор,
Бузук Г.Н. – д.ф.н., доцент,
Бурак И.И. – д.м.н., профессор,
Гидранович В.И. – д.б.н., профессор,
Глушанко В.С. – д.м.н., профессор,
Городецкая И.В. – д.м.н., профессор, зам. главного редактора,
Деркач Ю.Н. – д.м.н., профессор,
Жданова О.Б. – д.б.н., профессор,
Жебентяев А.И. – д.ф.н., профессор,
Кабанова С.А. – к.м.н., доцент,
Козловский В.И. – д.м.н., профессор, зам. главного редактора,
Коневалова Н.Ю. – д.б.н., профессор, зам. главного редактора,
Конорев М.Р. – д.м.н., профессор,
Косых А.А. – д.м.н., профессор,
Криштопов Л.Е. – к.м.н., доцент,
Кугач В.В. – к.ф.н., доцент,
Кунцевич З.С. – д.пед.н., доцент,
Луд Н.Г. – д.м.н., профессор,
Наркевич И.А. – д.ф.н., профессор,
Пашков А.А. – к.м.н., доцент,
Пиманов С.И. – д.м.н., профессор,
Прищепя И.М. – д.б.н., профессор,
Подпалов В.П. – д.м.н., профессор,
Радецкая Л.Е. – д.м.н., профессор,
Семенов В.М. – д.м.н., профессор,
Сушков С.А. – к.м.н., доцент,
Усович А.К. – д.м.н., профессор,
Холод В.М. – д.б.н., профессор,
Чернявский Ю.П. – к.м.н., доцент.

Секретариат:

Бешешко И.А.; Кадушко Р.В., к.филол.н., доцент; Лапусева И.Н.; Родкина Л.М.; Флоряну И.А., к.филол.н., доцент.

Редакционный совет:

Аболмасов Н.Н. – д.м.н., профессор,
Адаскевич В.П. – д.м.н., профессор,
Алексеенко Ю.В. – к.м.н., доцент,
Басявичюс Р.В. – д.м.н., профессор,
Генералов И.И. – д.м.н., профессор,
Карпук И.Ю. – к.м.н., доцент,
Краснюк И.И. – д.м.н., профессор,
Кубилиус Р.З. – д.м.н., профессор,
Кулик С.П. – к.филол.н., доцент,
Лабанаускас Л.В. – д.м.н., профессор,
Лея М.Ю. – член-корр. ЛАН, д.м.н., профессор,
Литвяков А.М. – д.м.н., профессор,
Любаковская Л.А. – к.б.н., доцент,
Лысенко И.М. – д.м.н., профессор,
Маланчук В.А. – член-корр. НАМН Украины, д.м.н., профессор,
Матлавска И. – профессор,
Моисеев Д.В. – к.ф.н., доцент,
Мрочек А.Г. – член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор,
Мяделец О.Д. – д.м.н., профессор,
Новиков Д.К. – д.м.н., профессор,
Новикова В.И. – д.м.н., профессор,
Окороков А.Н. – к.м.н., профессор,
Осочук С.С. – д.м.н., доцент,
Пискун Д.В. – к.м.н.,
Титов Л.П. – член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор,
Цыркунов В.М. – д.м.н., профессор,
Чумак А.Г. – д.б.н., профессор,
Юпатов Г.И. – д.м.н., профессор.

Журнал «Вестник Витебского государственного медицинского университета» цитируется
и реферируется в реферативных изданиях ВИНТИ

Адрес редакции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. (0212) 26-10-93, e-mail: admin@vsmu.by

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,

свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

ISSN 1607-9906

СОДЕРЖАНИЕ**Обзор****Куликов В.А., Беляева Л.Е.**

Сигнальные каскады, онкогены, гены-онкосупрессоры и метаболизм раковой клетки

Василенко Н.В., Будрицкий А.М.Современные взгляды на генетические семейства *M. tuberculosis***Биохимия****Лебедева Е.И.**

Динамика и половые различия биохимических изменений в сыворотке крови при экспериментальном токсическом циррозе

Гистология, цитология, эмбриология**Мяделец О.Д., Мяделец В.О., Соболевская И.С., Кичигина Т.Н.**

Белая и бурая жировые ткани: взаимодействие со скелетной мышечной тканью

Внутренние болезни**Мастыкова Е.К., Конорев М.Р., Матвеев М.Е.**

Особенности течения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни при наличии желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода

Дикарева Е.А., Матвеев М.Е., Пиманов С.И., Макаренко Е.В.Клинические, эндоскопические и морфологические эффекты эрадикации *Helicobacter pylori* у пациентов, длительно использующих нестероидные противовоспалительные средства**Кардиология****Балашенко Н.С.**

Подбор индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациентов с артериальной гипертензией I-II степени

Акушерство и гинекология**Семенов Д.М., Семенов В.М., Занько А.С.**

Оптимизация применения бета-лактамов антибактериальных лекарственных средств в акушерстве и гинекологии

CONTENTS**Review****6 Kulikov V.A., Belyaeva L.E.**

Signalling cascades, oncogenes, oncosuppressor genes and cancer cells metabolism

16 Vasilenko N.V., Budritsky A.M.Modern views on genetic families of *M. tuberculosis***Biochemistry****23 Lebedeva E.I.**

The dynamics and sex differences of biochemical changes in the blood serum in experimental toxic cirrhosis

Histology, cytology, embryology**32 Myadelets O.D., Myadelets V.O., Sobolevskaya I.S., Kichigina T.N.**

White and brown fatty tissues: their interaction with the skeletal muscular tissue

Internal medicine**45 Mastykova E.K., Konorev M.R., Matveyenko M.E.**

The peculiarities of the gastroesophageal reflux disease course in the presence of gastric metaplasia of the esophageal mucous membrane

52 Dikareva E.A., Matveyenko M.E., Pimanov S.I., Makarenko E.V.Clinical, endoscopic and morphological effects of *Helicobacter pylori* eradication in patients with long-term use of nonsteroid anti-inflammatory drugs**Cardiology****60 Balashenko N.S.**

Atorvastatin individual dose selection in the treatment of carotid atherosclerosis in patients with arterial hypertension of the 1st-2nd degree

Obstetrics and gynecology**68 Semenov D.M., Semenov V.M., Zanko A.S.**

Optimization of the use of beta-lactam antibacterial drugs in obstetrics and gynecology

<p>Ковалёв Е.В., Занько Ю.В., Яроцкая Н.Н. Оценка показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы крови и состояния эндотелия у пациентов при формировании задержки роста плода</p>	<p>74 Kovalyov E.V., Zanko Y.V., Yarotskaya N.N. The assessment of lipids peroxidation values, antioxidant system of the blood and endothelial condition in patients in the presence of intrauterine growth retardation</p>
<p>Дядичкина О.В., Коротина О.Л., Радецкая Л.Е., Генералов И.И. Возможности люминесцентной и световой микроскопии при определении внеклеточных нейтрофильных ловушек</p>	<p>81 Dyadichkina O.V., Korotina O.L., Radetskaya L.E., Generalov I.I. The possibilities of fluorescence and light microscopy in the detection of extracellular neutrophil traps</p>
<p>Педиатрия</p> <p>Асирян Е.Г., Голубева А.И., Мацук О.Н., Матющенко О.В. Особенности клинических и лабораторных исследований при бронхиальной астме у детей</p>	<p>Pediatrics</p> <p>87 Asiryan E.G., Golubeva A.I., Matsuk O.N., Matyushchenko O.V. The peculiarities of clinical and laboratory investigations in asthmatic children</p>
<p>Инфекционные болезни</p> <p>Серегина В.А., Будрицкий А.М. Критерии эффективности лечения туберкулеза легких на основании изучения уровней туберкулинсвязывающих моноцитов</p>	<p>Infectious diseases</p> <p>92 Seregina V.A., Budritsky A.M. The criteria of the lung tuberculosis treatment efficacy based on the study of tuberculin-binding monocytes levels</p>
<p>Паразитология</p> <p>Прошина Г.А., Коханская С.В., Бурак И.И. Среда обитания мезостигматических клещей семейства Laelaptidae (parasitiformes, mesostigmata, gamasina) в Беларуси</p>	<p>Parasitology</p> <p>100 Proshina G.A., Kokhanskaya S.V., Burak I.I. The habitat of mezostigmatic ticks of Laelaptidae family (parasitiformes, mesostigmata, gamasina) in Belarus</p>
<p>Гигиена</p> <p>Бурак И.И., Миклис Н.И., Ширякова Т.А., Григорьева С.В., Черкасова О.А., Юркевич А.Б. Гигиеническая оценка дезинфицирующего средства «Анолит нейтральный»</p>	<p>Hygiene</p> <p>105 Burak I.I., Miklis N.I., Shiryakova T.A., Grigoreva S.V., Cherkasova O.A., Yurkevich A.B. Hygienic estimation of disinfectant solution «Neutral anolyte»</p>
<p>Наркология</p> <p>Шустов Д.И., Новиков С.А., Шустов А.Д. Психотерапия больных алкогольной зависимостью с учетом типа их личности и проявлений аутоагрессивного поведения</p>	<p>Narcology</p> <p>112 Shustov D.I., Novikov S.A., Shustov A.D. Psychotherapy of patients with alcohol dependence with the type of their personality and autoaggressive behaviour taken into account</p>
<p>Фармакология, клиническая фармакология</p> <p>Еременко Р.Ф., Малюштан Л.Н. Влияние экстракта травы люцерны посевной (Medicago sativa L.) на уровень половых гормонов у крыс-самок</p>	<p>Pharmacology, clinical pharmacology</p> <p>118 Eremenko R.F., Maloshtan L.N. The influence of Medicago sativa L. grass extract on the level of sex hormones in female rats</p>

Стоматология

Байтус Н.А.

Цветонейтрализующая техника при лечении девитальных зубов

**Технология получения лекарств.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия.
Организация фармацевтического дела**

Моисеев Д.В.

Антимикробная активность растительного сырья, содержащего фенольные соединения, в зависимости от типа упаковки и температурных режимов хранения

Случай из практики

Козин В.М., Азад Аль-Халил, Козина Ю.В.

Туберозный склероз: случаи позднего диагноза

По страницам зарубежных медицинских публикаций

Немцов Л.М.

Новости

Резолюция Международной научно-практической конференции «Образование XXI века»

Правила для авторов

Dentistry

124 Baytus N.A.

Color neutralizing technique in the treatment of devitalized teeth

**Technology of drugs production.
Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy.
Organization of pharmacy**

130 Moiseyev D.V.

Antimicrobial activity of medicinal plants, which contain phenolic compounds, depending on the package type and temperature conditions of the storage

Case from practice

137 Kozin V.M., Azad Al-Khalil, Kozina Y.V.

Tuberous sclerosis: some cases of late diagnosis

Turning over the pages of foreign medical publications

142 Nemtsov L.M.

144 News

146 Resolution of the International practical-scientific conference «Education of the XXI century»

148 Instructions for authors

СИГНАЛЬНЫЕ КАСКАДЫ, ОНКОГЕНЫ, ГЕНЫ-ОНКОСУПРЕССОРЫ И МЕТАБОЛИЗМ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

КУЛИКОВ В.А., БЕЛЯЕВА Л.Е.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель настоящего обзора – охарактеризовать внутриклеточные сигнальные пути, определяющие метаболизм опухолевых клеток, а также взаимоотношения этих сигнальных путей с онкогенами, онкосупрессорами и факторами транскрипции.

Методы. Анализ научных статей за последние 10 лет.

Результаты. Метаболические изменения в опухолевых клетках часто являются результатом мутаций, активирующих онкогены или инактивирующих гены-онкосупрессоры. Активация протеинкиназы Akt, G-белков семейства Ras, транскрипционных факторов HIF-1 и c-Мус или инактивация транскрипционного фактора p53 формируют своеобразную «пентаду», ответственную за развитие гликолитического фенотипа в раковых клетках. На характер функциональной активности этой пентады влияют многочисленные внутриклеточные сигнальные пути, запускаемые действием на опухолевые клетки гипоксии, избытком или дефицитом питательных веществ, действием цитокинов и факторов роста. Напротив, активация АМФК может стимулировать окислительный метаболизм в опухолевых клетках с последующим подавлением их роста и деления. Между онкогенами, онкосупрессорами, факторами транскрипции и сигнальными каскадами опухолевых клеток существуют кооперативные и антагонистические взаимоотношения.

Заключение. Изучение путей, которые регулируют метаболизм раковых клеток, неизбежно способствует пониманию механизмов развития и прогрессии раковой опухоли и намечает новые пути в терапии злокачественных опухолей.

Ключевые слова: метаболизм, рак, онкогены, гены-онкосупрессоры.

Abstract.

Objectives. To characterize the intracellular signalling cascades responsible for cancer cells metabolism and interrelation of these signalling cascades with oncogenes, oncosuppressor genes and transcription factors.

Material and methods. Analysis of the scientific articles published during the last 10 years.

Results. Metabolic changes in cancer cells often result from different mutations activating oncogenes or inactivating oncosuppressor genes. Activation of Akt protein kinase, G-proteins belonging to the Ras family, transcription factors HIF-1 and c-Myc or inactivation of the transcription factor p53 form the peculiar «pentad» responsible for the development of glycolytic phenotype in cancer cells. Functional activity of this «pentad» depends on numerous intracellular signalling cascades triggered by hypoxia, excess or deficiency of nutrients, cytokines and growth factors. On the contrary, activation of AMPK can stimulate oxidative metabolism in cancer cells with the subsequent suppression of their growth and division. Co-operative and antagonistic interrelations exist between oncogenes, oncosuppressor genes, transcription factors and signalling cascades of cancer cells.

Conclusions. Studying the pathways regulating cancer cells metabolism inevitably promotes our understanding of mechanisms of cancer cells development and progression and outlines new approaches to the treatment of malignancies.

Key words: metabolism, cancer, oncogenes, oncosuppressor genes.

Для обеспечения своего деления клетки должны генерировать достаточное количество энергии (в виде молекул АТФ) и «стро-

ительные блоки» (аминокислоты, липиды, нуклеотиды). Поэтому не удивительно, что в опухолевых клетках наблюдаются значи-

тельные изменения их метаболизма [1]. Еще в 20-х годах прошлого столетия Отто Варбург обнаружил, что опухолевые клетки интенсивно захватывают глюкозу с последующим превращением ее в лактат даже в условиях достаточного для тканевого дыхания количества кислорода. Для объяснения этого феномена, известного как эффект Варбурга, предложен ряд теорий. В частности, развитие эффекта Варбурга объясняют адаптацией опухолевых клеток к гипоксии, с которой опухоль неизбежно сталкивается в процессе своего роста, а также мутациями митохондриальной ДНК, приводящими к угнетению тканевого дыхания опухолевых клеток. Исследования последних лет показывают, что именно активация онкогенов или инактивация генов-онкосупрессоров запускают метаболические изменения в процессе канцерогенеза. Связь между метаболическим перепрограммированием опухолевых клеток и сигнальными каскадами – ключевая точка в понимании процессов, связанных с опухолевой трансформацией. Такие метаболические изменения позволяют опухолевым клеткам преодолевать их зависимость от наличия и действия ростовых факторов посредством повышения захвата нутриентов и изменения специфических метаболических путей, способствующих росту и выживанию клеток.

Цель настоящего обзора – охарактеризовать внутриклеточные сигнальные пути, определяющие метаболизм опухолевых клеток, а также взаимоотношения этих сигнальных путей с онкогенами, онкосупрессорами и факторами транскрипции.

ФИЗК/Akt/mTOR-сигнальный путь и метаболизм раковых клеток

Фосфатидилинозитол-3-киназа/Akt/mTOR-сигнальный путь запускается при воздействии на клетку различных факторов роста, таких как инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF1), фактор роста из тромбоцитов, эпидермальный фактор роста. Этот сигнальный путь играет решающую роль в регуляции роста, выживания и метаболизма клеток.

Мутации генов, продукты которых являются компонентами этого сигнального пути (фосфатидилинозитол-3-киназа, протеинкиназа Akt, Ras-белки, онкосупрессор PTEN,

рецепторы ростовых факторов, запускающих этот сигнальный путь), очень часто обнаруживаются в злокачественных опухолях. Указанные нарушения неизбежно приводят к гиперактивации протеинкиназы Akt, что является характерным признаком большинства раковых клеток и, по-видимому, играет важную роль в механизмах опухолевой трансформации клеток и прогрессии опухолей [2].

Фермент фосфатидилинозитол-3-киназа принадлежит семейству липидных киназ, которые фосфорилируют 3'-ОН-группу фосфатидилинозитолов. Фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат, образующийся из фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата под действием активной фосфатидилинозитол-3-киназы (ФИЗК), связывается с протеинкиназой Akt. Это способствует ее активации (посредством фосфорилирования) с помощью двух фосфатидилинозитол-зависимых киназ PDK1 и PDK2. В свою очередь, активная Akt-киназа фосфорилирует многие внутриклеточные белки-мишени, среди которых различные факторы транскрипции, такие как BAD (Bcl-2-associated death promoter) – регулятор апоптоза; Mdm2 (murine double minute 2) – регулятор активности p53; FOXO (forkhead box subclass O) – семейство регуляторов пролиферации, апоптоза, аутофагии и метаболизма клеток; TSC2 (tuberous sclerosis protein 2) – регулятор активности протеинкиназного комплекса mTORC1 (рис. 1).

Фосфорилирование Akt-киназой белка BAD ингибирует процесс апоптоза [3]. Фосфорилирование фактора транскрипции Mdm2 активирует его, что ведет к снижению уровня p53 [4]. Фосфорилирование протеинкиназой Akt фактора транскрипции FOXO3a ингибирует экспрессию гена TSC1, продукт которого, белок-шаперон TSC1, стабилизирует белок TSC2 при формировании TSC1/2-комплекса. Фосфорилирование Akt белка TSC2 в составе TSC1/2-комплекса ведет к ингибированию ГТФ-аза-активирующей функции этого белка, что обуславливает активацию ГТФ-связывающего белка Rheb (Ras homolog enriched in brain) [5]. Белок Rheb – ключевой элемент активации протеинкиназного белкового комплекса mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1), являющегося внутриклеточным «сенсором» доступности субстратов, необходимых для клеточного роста.

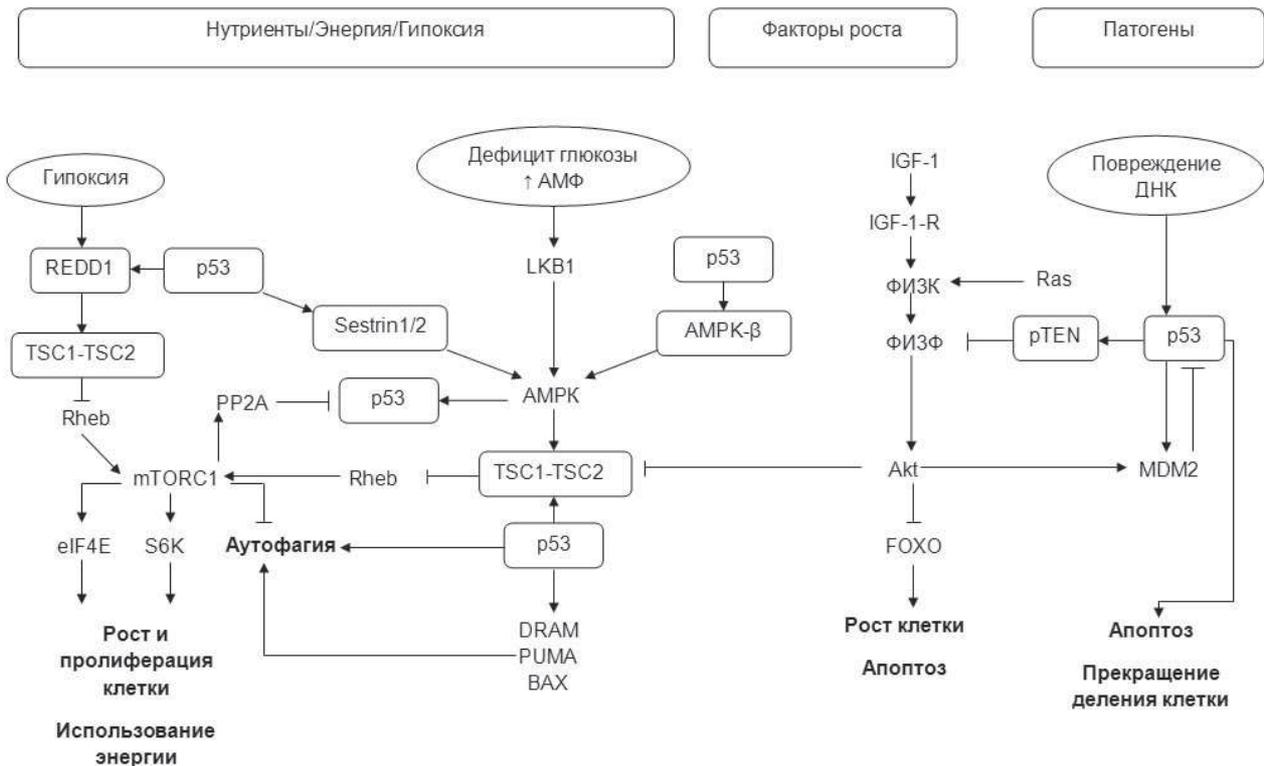


Рисунок 1 – Взаимосвязь сигнальных путей, запускаемых p53, mTOR и ИФР-1/Акт (по Feng Z. с изменениями).

P53-индуцируемый белок-онкосупрессор PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) подавляет активность ФИЗК, действуя как фосфолипидфосфатаза, то есть превращает фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат снова в фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат. Другими словами, PTEN является негативным регулятором ФИЗК, отменяя ее киназное действие.

Akt – серин/треониновая протеинкиназа, также известная как протеинкиназа В, является одним из главных регуляторов энергетического обмена, выживания и пролиферации клеток. В общем, активация Akt может в 2-3 раза повышать содержание АТФ в клетках, в то время как «нокаут» АКТ-гена значительно снижает внутриклеточные запасы АТФ. В эти Akt-зависимые изменения уровня АТФ вовлечены процессы гликолиза и окислительного фосфорилирования. Одним из значимых следствий Akt-зависимого увеличения внутриклеточного содержания АТФ является низкая активность АМФ-активируемой киназы – негативного регулятора mTORC1 [2].

Наиболее важным метаболическим действием Akt является стимуляция процес-

са гликолиза. Это достигается посредством: 1) фосфорилирования и активации фермента фосфофруктокиназа-2 (ФФК2), катализирующего образование фруктозо-2,6-бисфосфата – наиболее мощного аллостерического активатора скорость-лимитирующего фермента гликолиза фосфофруктокиназы-1 (ФФК1) [6]; 2) стимуляции перемещения гексокиназы-2 (ГК2) к внешней мембране митохондрий, где она связывается с потенциалозависимым каналом (VDAC), что не только делает гликолиз более эффективным, но и препятствует апоптозу клеток [7]; 3) активации mTORC-1, что способствует синтезу многих белков, в том числе мембранных переносчиков глюкозы ГЛЮТ-1 [8] и фактора транскрипции HIF-1, который, в свою очередь, является активатором почти всех ферментов гликолиза [9]; 4) инактивации (через фосфорилирование) транскрипционных факторов FOXO, подавляющих активность генов, вовлеченных в гликолиз и липогенез [10].

Активация Akt влияет и на другие виды обмена веществ в клетке. Так, Akt содействует синтезу жирных кислот и холестерина, активируя цитрат-лиазу (через ее фосфорилирование) и стимулируя экспрессию генов синтазы

жирных кислот и ГМГ-КоА-редуктазы (через активацию фактора транскрипции SREBP-1) [11, 12]. Одновременно Akt тормозит окисление жирных кислот, ингибируя транскрипцию гена карнитин-пальмитоилтрансферазы-1, продукт которого участвует в переносе жирных кислот в митохондрии для их последующего окисления [13]. Akt-зависимая активация протеинкиназного комплекса mTORC1 ведет к стимуляции биосинтеза белков. При этом mTORC1 увеличивает поступление аминокислот в клетки через повышение экспрессии их мембранных переносчиков, а также индуцирует процесс трансляции посредством изменения активности компонентов «белоксинтезирующей машины», таких как eIF4E (eucaryotic initiation factor 4E) и p70-рибосомальная S6-киназа (S6K, рис. 1) [14]. Также p70-рибосомальная S6-киназа подавляет распад макромолекулярных комплексов в раковых клетках, ингибируя процесс аутофагии [15].

Таким образом, в результате гиперактивации Akt в опухолевых клетках начинают преобладать анаболические процессы, способствующие росту и пролиферации клеток.

p53 и метаболизм раковой клетки

Фактор транскрипции p53 является продуктом одноименного гена-онкосупрессора TP53, который экспрессируется во всех клетках организма. Белок p53 играет важную роль в регуляции клеточного цикла, апоптоза и стабилизации генома. Зачастую его называют «стражем генома». Мутации гена TP53 (с утратой его функции) обнаружены в 50% всех злокачественных опухолей человека. Наиболее очевидным следствием влияния p53 на клеточный метаболизм является ингибирование гликолиза. Это достигается посредством: 1) снижения экспрессии генов глюкозных переносчиков GLUT 1 и 4 [16]; 2) инактивации гликолитического фермента фосфоглицеромутазы [17] и 3) снижения уровня аллостерического активатора гликолиза, фруктозо-2,6-бисфосфата, через p53-зависимую экспрессию белка-регулятора гликолиза TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) [18]. Соответственно, утрата функций p53 (в результате мутации его гена), а, следовательно, и экспрессии гена TIGAR ведет к усилению гликолиза. С другой стороны, p53 может ак-

тивировать первый фермент гликолитического пути, гексокиназу-2 (ГК2), что, на первый взгляд, с учетом частой экспрессии гена этого фермента в раковых клетках противоречит функции p53 как онкосупрессора. Однако следует заметить, что повышение экспрессии гена ГК2 отмечается и при наличии некоторых мутантных форм p53 [19]. Кроме того, в нормальных клетках комбинированное активирующее влияние p53 на ГК2 и TIGAR в условиях умеренного стресса может способствовать направлению интермедиатов гликолиза в пентозофосфатный путь (ПФП), что содействует антиоксидантной защите клеток. Также p53 усиливает тканевое дыхание посредством транскрипционной активации гена SCO2, который кодирует белок, необходимый для сборки митохондриального дыхательного комплекса IV (цитохром C оксидазы) [20], а также путем сохранения массы митохондрий и числа копий митохондриальной ДНК [21]. Понятно, что утрата функций p53 неизбежно ведет к угнетению тканевого дыхания.

Активация p53 ассоциируется со стимуляцией внутриклеточных катаболических процессов, включая аутофагию. Это может быть связано как с ингибированием mTOR-протеинкиназы, так и с индукцией синтеза лизосомального белка DRAM (damage-regulated autophagy modulator) [22]. PUMA и Bax, два хорошо известных гена-мишени для p53, также способны индуцировать аутофагию [23]. С другой стороны, накопление мутантного p53 в цитозоле опухолевых клеток может ингибировать процесс аутофагии [24]. Также p53 обеспечивает катаболические процессы через усиление окисления жирных кислот [25] и регулирует глутаминолиз посредством активации экспрессии гена фермента глутаминазы-2 [26]. Важность глутаминолиза особенно возрастает тогда, когда клетки испытывают дефицит глюкозы. Показано, что глутаминаза-2 функционирует как онкосупрессор и уровень ее снижается в опухолях печени и злокачественных глиомах [26]. Пока непонятно, почему экспрессия двух изоформ глутаминазы имеет различные последствия. Возможно, это обусловлено тем, что активация глутаминолиза через глутаминазу-1 запускает использование интермедиатов цикла Кребса для анаболических путей, в то время как активация глутаминазы-2 в ответ на активацию p53 способствует

образованию АТФ и повышению антиоксидантной защиты клеток [27].

Взаимосвязь между p53 и Akt/mTOR

Баланс между ответом клетки на стресс и ее ростом и делением модулируется некоторыми регуляторными петлями обратной связи между фактором транскрипции p53 и Akt/mTOR-каскадом (рис. 1).

С одной стороны, активация p53 в ответ на стресс через увеличение синтеза белков Sestrin 1 и 2 ведет к фосфорилированию и активации АМФ-активируемой киназы (АМФК), что, в свою очередь, через комплекс TSC1/2, ингибирует mTORC1 [28]. Известно, что mTORC1 активирует фосфатазу PP2A (proteinphosphatase 2A), которая инактивирует белок p53 [29]. Следовательно, ингибирование mTORC1 будет способствовать активации p53. С другой стороны, в условиях дефицита глюкозы АМФК активирует белок p53, что ведет к остановке деления и выживанию нормальных эмбриональных фибробластов мышей [30], но вызывает p53-обусловленный апоптоз в онкоген-трансформированных эмбриональных мышечных фибробластах [31].

Белок PTEN объединяет компоненты другой петли обратной связи между p53 и ФИЗК/Akt сигнальными путями. Активация p53 индуцирует экспрессию PTEN в некоторых клетках и тканях, что в свою очередь ингибирует Akt, а, следовательно, и негативный регулятор уровня p53 – белок Mdm2. Таким образом, формируется длинная петля позитивной обратной связи p53-PTEN-Akt-Mdm2, поддерживающая уровень p53 [31].

Если, в целом, p53 угнетает действие ФИЗК/Akt/mTOR сигнального каскада через транскрипционную активацию mTOR-супрессирующих белков (бета-субъединицу АМФК, TSC2 и PTEN), то в некоторых ситуациях mTOR-путь способен позитивно регулировать активность p53. Так, в мышечных эмбриональных фибробластах с «генетической утратой» TSC1 или TSC2 (негативные регуляторы mTORC1), отмечается постоянная активация mTORC1, что обуславливает накопление p53 и активацию апоптоза в ответ на стрессовые условия, такие как дефицит глюкозы или повреждение ДНК [32].

В общем, эти сложные взаимодействия между p53 и Akt/mTOR-каскадом направлены на торможение роста и деления клеток с целью предотвращения накопления «генетических ошибок» в ответ на метаболический стресс и позволяют восстановить клеточный гомеостаз после него [33].

АМФ-активируемая киназа и метаболизм раковых клеток

Неконтролируемое деление раковых клеток неизбежно приводит к снижению доставки к ним кислорода и нутриентов, в первую очередь глюкозы. Из-за дефицита нутриентов и кислорода в клетках растущей опухоли, находящихся на расстоянии более чем 70 микрон от кровеносных сосудов, развиваются гипоксия и «метаболический стресс». Следовательно, опухолевые клетки должны перестроить свой метаболизм с целью выживания в этих условиях.

АМФ-активируемая киназа (АМФК) выполняет функцию «сенсора» клеточного энергетического баланса. АМФК-сигнальный путь связывает энергетический статус клеток с ростовыми сигналами и вызывает эффекты, противоположные таковым Akt, прежде всего, ингибируя mTORC1. АМФК активируется при гипоксии и дефиците нутриентов (особенно глюкозы), то есть в условиях снижения внутриклеточного уровня АТФ и повышении концентрации АМФ. В этой ситуации АМФК активируется (посредством фосфорилирования) печеночной киназой LKB1 (liver kinase B1). В результате ингибируются метаболические процессы, протекающие с потреблением АТФ, наблюдается сдвиг фенотипа клеток к окислительному метаболизму и ингибируется клеточный рост, что дает основание рассматривать LKB1 в качестве белка-онкосупрессора.

Мутации гена LKB1, приводящие к утрате каталитических свойств фермента LKB1, впервые были описаны при синдроме Peutz-Jegher, наследственном опухолевом заболевании, а также отмечены и при других типах раковых опухолей [34]. За онкосупрессорные функции LKB1 могут быть ответственны следующие механизмы действия АМФК [35]. Во-первых, активация АМФК вызывает остановку деления клеток, что ассоциировано со стабилизацией p53 и ингибиторов циклин-зависимых киназ - p21 и p27. Во-вторых, акти-

вазия АМФК ведет к угнетению синтеза большинства клеточных макромолекул, включая жирные кислоты, холестерин, гликоген и белки. Таким образом, ингибируется клеточный рост. Особенно значимо в этом отношении то, что АМФК ингибирует mTORC1, а значит, ингибируется трансляция HIF-1. Именно этот последний эффект обуславливает третье онкосупрессорное действие фермента – «анти-Варбург-эффект». Эффект Варбурга характерен для многих раковых клеток и заключается в переходе от окислительного метаболизма к быстрому захвату глюкозы и гликолизу с образованием лактата даже в условиях достаточного поступления кислорода к раковым клеткам. Хотя АМФК может быстро стимулировать гликолиз в некоторых клетках, в долгосрочном аспекте активация АМФК ведет к угнетению гликолиза посредством ингибирования mTORC1 и способствует окислительному метаболизму через стимуляцию биогенеза митохондрий и экспрессию генов митохондриальных окислительных ферментов. Подтверждением того, что активация АМФК ведет к развитию «анти-Варбург-эффекта», послужили исследования, показавшие, что экспрессия гена HIF-1 с последующей активацией генов гликолитических ферментов была повышена в мышечных эмбриональных фибробластах с нокаутированными генами LKB1 или АМФК [36]. Также эффект Варбурга был повышен в В-лимфоцитах с нокаутированным геном АМФК у мышей с лимфомой, индуцированной сверхэкспрессией Мус [37].

HIF-1 и метаболизм раковых клеток

Парциальное давление кислорода (pO_2) значительно снижается во многих злокачественных опухолях человека по сравнению с окружающими тканями. Так, среднее pO_2 в опухолях молочной железы составляет примерно 10 мм.рт.ст., а в ткани здоровой молочной железы – примерно 65 мм.рт.ст. [38]. Снижение доступности кислорода (особенно при pO_2 менее 14 мм.рт.ст.) способствует повышению уровня фактора 1, индуцируемого гипоксией (HIF-1). HIF-1 представляет собой гетеродимерный белковый комплекс, состоящий из субъединиц HIF-1-альфа и HIF-1-бета. Регуляция уровня HIF-1 обеспечивается протеасомной деградацией HIF-1-альфа, которая пода-

вляется в условиях гипоксии. При нормоксии кислород способствует гидроксированию двух остатков пролина пролилгидроксилазой, что содействует ассоциации HIF-1-альфа с белком von Hippel-Lindau (VHL) с последующей протеасомной деградацией этой субъединицы. В условиях гипоксии процесс гидроксирования остатков пролина подавляется, тем самым, стабилизируется альфа-1-субъединица HIF. Таким образом, HIF-1 является своеобразным сенсором уровня кислорода в клетке и управляет клеточным ответом при изменении концентрации кислорода.

HIF-1 – это транскрипционный фактор, который регулирует транскрипцию нескольких сотен генов. Эти гены кодируют белки, многие из которых играют важную патогенетическую роль в канцерогенезе, включая иммортализацию клеток, метаболизм глюкозы и энергетический обмен, васкуляризацию, инвазию и метастазирование, уклонение от иммунной атаки, резистентность к химиотерапии и лучевой терапии. Помимо гипоксии, пусковым механизмом повышения экспрессии HIF-1 могут являться генетические изменения, приводящие к активации онкогенов (Ras, Src, HER2), инактивации генов-онкосупрессоров (VHL, PTEN, p53) или мутации, приводящие к изменению функционирования внутриклеточных сигнальных путей (ФИЗК/Akt, Raf/MEK/MAPK). Кроме того, онкогенные мутации генов двух ферментов ЦТК, фумаратгидратазы и сукцинатдегидрогеназы, могут быть причиной стабилизации HIF-1 даже в условиях нормоксии. В раковых клетках HIF-1-альфа повышает экспрессию генов глюкозных переносчиков (ГЛЮТ 1 и 3), почти всех гликолитических ферментов, включая изоферменты, наиболее характерные для опухолевых клеток (гексокиназа-2, альдолаза-А, пируваткиназа-М2, лактатдегидрогеназа-А, фосфофруктокиназа-2/фруктозо-2,6-бисфосфатаза-3), а также белков и ферментов, связанных с регуляцией рН клетки, таких как монокарбоксилатный транспортер-4 (MCT-4) и мембраносвязанные карбоангидразы 9 и 12 [9]. В некоторых типах опухолевых клеток HIF-1 может повышать экспрессию гена транскетолазы, фермента неокислительной ветви ПФП, участвующего в образовании рибоз, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот [39]. Известно, что HIF-1 активно подавляет митохондриальное окисли-

тельное фосфорилирование посредством повышения экспрессии гена киназы-1 пируватдегидрогеназного ферментативного комплекса (ПДГК-1), которая фосфорилирует и, тем самым, инактивирует пируватдегидрогеназный комплекс (ПДГ), обеспечивающий превращение пирувата в ацетил-КоА и, следовательно, его использование в ЦТК [40]. В условиях гипоксии HIF-1 также повышает экспрессию гена REDD-1 (regulated in development and DNA damage response 1), продукт которого, белок REDD-1, ингибирует ферментативный комплекс mTORC1 через активацию TSC-1/2-комплекса (рис. 2) [41]. Помимо этого, экспрессия REDD-1-гена усиливается белком p53 в ответ на накопление свободно-радикальных форм кислорода [42]. Так как гипоксия часто ассоциируется с ограничением получения клетками нутриентов, вследствие недостаточного кровоснабжения, становится понятным факт стимуляции HIF-1 процесса аутофагии.

ЛДГА) и глюкозных переносчиков (ГЛЮТ-1) [43]. Кроме того, в условиях гипоксии c-Myc, наряду с HIF-1, активирует киназу-1 пируватдегидрогеназного ферментативного комплекса, что тормозит митохондриальное окисление пирувата и способствует его превращению в лактат [44]. Также c-Myc может играть важную роль в стимуляции использования глутамина раковыми клетками через повышение экспрессии генов мембранных переносчиков глутамина (SLC5A1 и SLC7A1) и фермента глутаминаза-1 [45].

Между HIF-1 и c-Myc существуют кооперативные и антагонистические функциональные взаимоотношения в контроле за энергетическим обменом. В то время как HIF-1 и c-Myc содействуют транспорту глюкозы в клетки и гликолизу, HIF-1 препятствует c-Myc-зависимому биогенезу митохондрий и связанному с этим усилению тканевого дыхания [46].

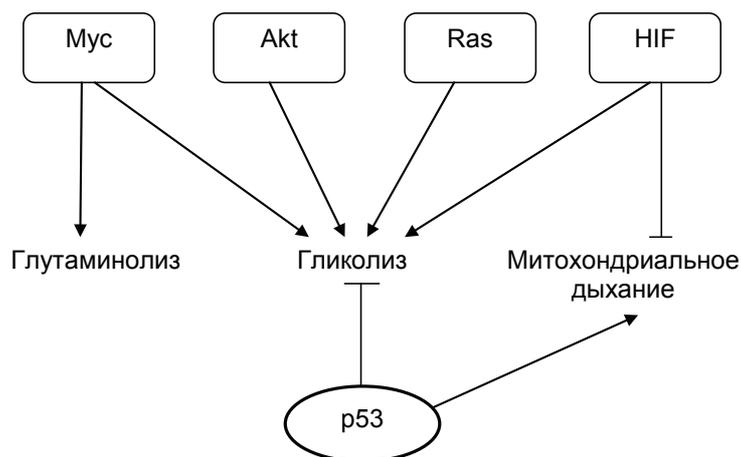


Рисунок 2 – Роль онкопротеинов и факторов транскрипции в метаболическом перепрограммировании опухолевых клеток.

c-Myc и метаболизм раковой клетки

c-Myc – транскрипционный фактор, кодируемый протоонкогеном MYC, регулирует ряд генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, энергетического обмена, биогенез клеточных органелл и апоптоз. Повышение экспрессии c-Myc обнаружено примерно в 40% раковых опухолей различной локализации. Белок c-Myc является мощным индуктором гликолиза через повышение транскрипции многих генов гликолитических ферментов (ГК2, ФФК-1, енолаза-1, пируваткиназа-M2 и

Ras и метаболизм раковых клеток

Ras – семейство низкомолекулярных ГТФ-связывающих белков (ГТФ-аз), включающего H-Ras, K-Ras и N-Ras. Ras являются мембраносвязанными белками, участвующими в передаче сигнала внутрь клетки. Мутации генов этих белков обнаружены примерно в 30% злокачественных опухолей человека. Активация Ras-белков в опухолях часто является результатом точечных мутаций Ras-гена, что ведет к постоянной активации этих белков и сигнальных путей, связанных с ними. Ак-

тивный Ras через Raf/MEK/MAPK и ФИЗК/ Akt- сигнальные пути регулирует количество циклина D1 и комплекса циклин D1/ циклин-зависимая киназа 4, что ведет к усилению пролиферации клеток [47]. Также Ras повышает стабильность и транскрипционную активность HIF1- альфа посредством его MAP-киназного и Akt-киназного фосфорилирования [48]. В свою очередь, HIF1-альфа регулирует экспрессию большинства ферментов гликолиза – главного энергетического пути многих типов раковых клеток.

В H-RAS-трансформированных мышечных фибробластах отмечено повышение потребления глюкозы с образованием лактата и снижение митохондриального дыхания [49]. Выраженная стимуляция гликолиза обусловлена повышением уровня плацентарной изоформы ФФК-2. Анализ метаболических превращений глюкозы и глутамин, меченых радиоизотопами, совместно с транскрипционным профилированием K-Ras-трансформированных мышечных фибробластов и некоторых линий раковых клеток человека показал, что большая часть потребляемой этими клетками глюкозы превращается в лактат, а окисление пирувата в ацетил-КоА снижается, что имеет результатом заметное угнетение скорости реакций ЦТК. Также наблюдается существенное снижение активности первого митохондриального дыхательного комплекса. Одновременно предпочтительным источником углерода и азота для биосинтеза аминокислот, нуклеотидов и глутатиона становится глутамин [50].

Заключение

Метаболические изменения в опухолевых клетках часто являются результатом мутаций, активирующих онкогены или инактивирующих гены-онкосупрессоры. Активация протеинкиназы Akt, G-белков семейства Ras, транскрипционных факторов HIF-1 и с-Мус или инактивация транскрипционного фактора p53 формируют своеобразную «пентаду», ответственную за развитие гликолитического фенотипа в раковых клетках (рис. 2). На характер функциональной активности этой пентады влияют многочисленные внутриклеточные сигнальные пути, запускаемые действием на опухолевые клетки гипоксии, из-

бытком или дефицитом питательных веществ, действием цитокинов и факторов роста. Напротив, активация АМФК может стимулировать окислительный метаболизм в опухолевых клетках с последующим подавлением их роста и деления. Между онкогенами, онкосупрессорами, факторами транскрипции и сигнальными каскадами опухолевых клеток существуют кооперативные и антагонистические взаимоотношения. Изучение путей, которые регулируют метаболизм раковых клеток, неизбежно будет способствовать пониманию механизмов развития и прогрессии раковой опухоли и намечает новые пути в терапии злокачественных опухолей.

Литература

1. Куликов, В. А. Метаболическое перепрограммирование раковых клеток / В. А. Куликов, Л. Е. Беляева // Вестн. ВГМУ. – 2013. – Том 12, № 2. – С. 6-18.
2. Robey, R. B. Is Akt the “Warburg kinase”?-Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis / R. B. Robey, N. S. Hay // *Semin. Cancer Biol.* – 2009 Feb. – Vol. 19, N 1. – P. 25-31.
3. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery / S. R. Datta [et al.] // *Cell.* – 1997 Oct. – Vol. 91, N 2. – P. 231-241.
4. HER-2/neu induces p53 ubiquitination via Akt-mediated MDM2 phosphorylation / B. P. Zhou [et al.] // *Nat. Cell Biol.* – 2001 Nov. – Vol. 3, N 11. – P. 973-982.
5. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling / K. Inoki [et al.] // *Genes Dev.* – 2003 Aug. – Vol. 17, N 15. – P. 1829-1834.
6. Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells / R. L. Elstrom [et al.] // *Cancer Res.* – 2004 Jun. – N 64. – P. 3892-3899.
7. Robey, R. B. Mitochondrial hexokinases, novel mediators of the antiapoptotic effects of growth factors and Akt / R. B. Robey, N. Hay // *Oncogene.* – 2006. – Vol. 25, N 4. – P. 4683-4696.
8. Edinger, A. L. Akt maintains cell size and survival by increasing mTOR-dependent nutrient uptake / A. L. Edinger, C. B. Thompson // *Mol. Biol. Cell.* – 2002 Jul. – Vol. 13, N 7. – P. 2276-2288.
9. Semenza, G. L. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism / G. L. Semenza // *Curr. Opin. Genet. Develop.* – 2010. – Vol. 20, N 1. – P. 51-56.
10. FoxO1 regulates multiple metabolic pathways in the liver: effects on gluconeogenic, glycolytic, and

- lipogenic gene expression / W. Zhang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2006 Apr. – Vol. 281, N 15. – P. 10105-10117.
11. ATP citrate lyase is an important component of cell growth and transformation / D. E. Bauer [et al.] // *Oncogene.* – 2005 Sep. – Vol. 24, N 41. – P. 6314-6322.
 12. PKB/Akt induces transcription of enzymes involved in cholesterol and fatty acid biosynthesis via activation of SREBP / T. Porstmann [et al.] // *Oncogene.* – 2005 Sep. – Vol. 24, N 43. – P. 6465-6481.
 13. Kroemer, G. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel / G. Kroemer, J. Pouyssegur // *Cancer Cell.* – 2008 Jun. – Vol. 13, N 6. – P. 472-482.
 14. mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events / M. K. Holz [et al.] // *Cell.* – 2005 Nov. – Vol. 123, N 4. – P. 569-580.
 15. Meijer, A. J. Autophagy research: lessons from metabolism / A. J. Meijer // *Autophagy.* – 2009 Jan. – Vol. 5, N 1. – P. 3-5.
 16. Schwartzberg-Bar-Yoseph, F. The tumor suppressor p53 down-regulates glucose transporters GLUT1 and GLUT4 gene expression / F. Schwartzberg-Bar-Yoseph, M. Armoni, E. Karnieli // *Cancer Res.* – 2004 Apr. – Vol. 64, N 7. – P. 2627-2633.
 17. Glycolytic enzymes can modulate cellular lifespan / H. Kondoh [et al.] // *Cancer Res.* – 2005 Jan. – Vol. 65, N 1. – P. 177-185.
 18. Green, D. R. p53 and metabolism: inside the TIGAR / D. R. Green, J. E. Chipuk // *Cell.* – 2006 Jul. – Vol. 126, N 1. – P. 30-32.
 19. Mathupala, S. P. Glucose catabolism in cancer cells: The type II hexokinase promoter contains functionally active response elements for the tumor suppressor p53 / S. P. Mathupala, C. Heese, P. L. Pedersen // *J. Biol. Chem.* – 1997 Sep. – Vol. 272, N 36. – P. 22776-22780.
 20. p53 regulates mitochondrial respiration / S. Matoba [et al.] // *Science.* – 2006 Jun. – Vol. 312, N 5780. – P. 1650-1653.
 21. Kulawiec, M. p53 regulates mtDNA copy number and mitochekpoint pathway / M. Kulawiec, V. Ayyasamy, K. K. Singh // *J. Carcinog.* – 2009. – Vol. 8. – P. 8.
 22. Crighton, D. DRAM links autophagy to p53 and programmed cell death / D. Crighton, S. Wilkinson, K. M. Ryan // *Autophagy.* – 2007 Jan-Feb. – Vol. 3, N 1. – P. 72-74.
 23. Feng, Z. The regulation of energy metabolism and the IGF-1/mTOR pathways by the p53 protein / Z. Feng, A. J. Levine // *Trends Cell Biol.* – 2010 Jul. – Vol. 20, N 7. – P. 427-434.
 24. Mutant p53 protein localized in the cytoplasm inhibits autophagy / E. Morselli [et al.] // *Cell Cycle.* – 2008 Oct. – Vol. 7, N 19. – P. 3056-3061.
 25. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth / M. Buzzai [et al.] // *Cancer Res.* – 2007 Jul. – Vol. 67, N 14. – P. 6745-6752.
 26. Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species / S. Suzuki [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010 Apr. – Vol. 107, N 16. – P. 7461-7466.
 27. Vousden, K. H. Alternative fuel—another role for p53 in the regulation of metabolism / K. H. Vousden // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010 Apr. – Vol. 107, N 16. – P. 7117-7118.
 28. Budanov, A. V. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling / A. V. Budanov, M. Karin // *Cell.* – 2008 Aug. – Vol. 134, N 3. – P. 451-460.
 29. The PP2A-associated protein alpha4 is an essential inhibitor of apoptosis / M. Kong [et al.] // *Science.* – 2004 Oct. – Vol. 306, N 5696. – P. 695-698.
 30. AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint / R. G. Jones [et al.] // *Mol. Cell.* – 2005 Apr. – Vol. 18, N 3. – P. 283-293.
 31. The regulation of AMPK beta1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways / Z. Feng [et al.] // *Cancer Res.* – 2007 Apr. – Vol. 67, N 7. – P. 3043-3053.
 32. Constitutive mTOR activation in TSC mutants sensitizes cells to energy starvation and genomic damage via p53 / C. H. Lee [et al.] // *EMBO J.* – 2007 Nov. – Vol. 26, N 23. – P. 4812-4823.
 33. Feng, Z. The regulation of energy metabolism and the IGF-1/mTOR pathways by the p53 protein / Z. Feng, A. J. Levine // *Trends Cell Biol.* – 2010 Jul. – Vol. 20, N 7. – P. 427-434.
 34. Hezel, A .F. LKB1: linking cell structure and tumor suppression / A. F. Hezel, N. Bardeesy // *Oncogene.* – 2008 Nov. – Vol. 27, N 55. – P. 6908-6919.
 35. Hardie, D. G. LKB1 and AMPK and the cancer-metabolism link – ten years after / D. G. Hardie, D. R. Alessi // *BMC Biology.* – 2013. – Vol. 11. – P. 36.
 36. mTOR and HIF-1alpha-mediated tumor metabolism in an LKB1 mouse model of Peutz-Jeghers syndrome / D. B. Shackelford [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009 Jul. – Vol. 106, N 27. – P. 11137-11142.
 37. AMPK is a negative regulator of the Warburg

- effect and suppresses tumor growth in vivo / B. Faubert [et al.] // *Cell Metab.* – 2012 Jan. – Vol. 17, N 1. – P. 113-124.
38. Vaupel, P. Tumor hypoxia and malignant progression / P. Vaupel, A. Mayer, M. Höckel // *Methods Enzymol.* – 2004. – Vol. 381. – P. 335-354.
 39. Imatinib resistance associated with BCR-ABL upregulation is dependent on HIF-1 α -induced metabolic reprogramming / F. Zhao [et al.] // *Oncogene.* – 2010 May. – Vol. 29, N 20. – P. 2962-2972.
 40. The interplay between MYC and HIF in cancer / C. V. Dang [et al.] // *Nat. Rev. Cancer.* – 2008 Jan. – Vol. 8, N 1. – P. 51-56.
 41. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex / J. Brugarolas [et al.] // *Genes & Dev.* – 2004 Dec. – Vol. 18, N 23. – P. 2893-2904.
 42. REDD1, a developmentally regulated transcriptional target of p63 and p53, links p63 to regulation of reactive oxygen species / L. W. Ellisen [et al.] // *Mol. Cell.* – 2002 Nov. – Vol. 10, N 5. – P. 995-1005.
 43. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis / K. Bensaad [et al.] // *Cell.* – 2006 Jul. – Vol. 126, N 1. – P. 107-120.
 44. Hypoxia-inducible factor 1 and dysregulated c-Myc cooperatively induce vascular endothelial growth factor and metabolic switches hexokinase 2 and pyruvate dehydrogenase kinase 1 / J. W. Kim [et al.] // *Mol. Cell Biol.* – 2007 Nov. – Vol. 27, N 21. – P. 7381-7393.
 45. c-Myc suppression of miR-23a/b enhances mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism / P. Gao [et al.] // *Nature.* – 2009 Apr. – Vol. 458, N 7239. – P. 762-765.
 46. HIF-1 inhibits mitochondrial biogenesis and cellular respiration in VHL-deficient renal cell carcinoma by repression of C-MYC activity / H. Zhang [et al.] // *Cancer Cell.* – 2007 May. – Vol. 11, N 5. – P. 407-420.
 47. Sherr, C. J. D1 in G2 / C. J. Sherr // *Cell Cycle.* – 2002 Jan. – Vol. 1, N 1. – P. 36-38.
 48. MAPK and Akt act cooperatively but independently on hypoxia inducible factor-1 α in rasV12 upregulation of VEGF / A. Sodhi [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001 Sep. – Vol. 287, N 1. – P. 292-300.
 49. Impairment of mitochondrial respiration in mouse fibroblasts by oncogenic H-RAS (Q61L) / D. Yang [et al.] // *Cancer Biol. Ther.* – 2010 Jan. – Vol. 9, N 2. – P. 122-133.
 50. Oncogenic K-Ras decouples glucose and glutamine metabolism to support cancer cell growth / D. Gaglio [et al.] // *Mol. Syst. Biol.* – 2011 Aug. – Vol. 7. – P. 523.

Поступила 10.01.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Куликов В.А. – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой общей и клинической биохимии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра общей и клинической биохимии. Тел. раб.: +375 (212) 37-24-52, e-mail: slakulikov@yandex.ru – Куликов Вячеслав Анатольевич.

© ВАСИЛЕНКО Н.В., БУДРИЦКИЙ А.М., 2014

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СЕМЕЙСТВА *M. TUBERCULOSIS*

ВАСИЛЕНКО Н.В., БУДРИЦКИЙ А.М.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

В обзорной статье представлены данные о современных методах классификации микобактерий, сполиготипах и генетических семействах микобактерий туберкулеза, в том числе микобактерий с лекарственной устойчивостью, распространенных в различных странах мира, и клиническом значении микобактерий туберкулеза генетического семейства Beijing. Проанализированы материалы отечественных и зарубежных исследований по этой проблеме.

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, сполиготипы, Beijing, лекарственная устойчивость.

Abstract.

This literature review concerns the data about present-day methods of classification of mycobacteria, spoligotypes and the genetical families of *Mycobacterium tuberculosis* including those with drug resistance which are spread in different countries of the world and also clinical significance of *Mycobacterium tuberculosis* of the genetic family Beijing. The results of home and foreign investigations in this field have been analyzed.

Key words: *M. tuberculosis*, spoligotypes, Beijing, drug resistance.

Методы типирования микобактерий туберкулеза (*M. tuberculosis*) подразделяют на фенотипические (выявляющие морфологические, биохимические, культуральные характеристики микобактерий) и генотипические (выявляющие структуру ДНК микобактерии). Согласно современным представлениям, идентификация микобактерий должна осуществляться преимущественно генотипическими методами. Это связано с тем, что экспрессия генов микобактерий, как и генов других микроорганизмов, изменяется в зависимости от различных внешних условий. В связи с этим возрастает роль генетических методов типирования возбудителя туберкулеза.

С целью фенотипирования *M. tuberculosis* традиционно используются: культуральные тесты (оценка типов выросших колоний, сроков их роста), биотипирование (ниациновый, каталазный тесты и т.д.), определение антибиограммы (определение лекарственной чувствительности микобактерий непрямым методом абсолютных концентраций на плотных

и жидких питательных средах), фаготипирование. К генотипическим методам идентификации *M. tuberculosis* относятся: исследование полиморфизма длины рестриционных фрагментов хромосомной ДНК (ПДРФ), саузерн-блоттинг, пульс-электрофорез, а также ряд методов ПЦР-типирования – ПЦР-ПДРФ, AFLP-ПЦР (определение полиморфизма длин амплифицированных фрагментов).

Одной из разновидностей ПЦР - типирования является метод сполиготипирования (spacer oligonucleotide typing, spoligotyping - англ.), основанный на выявлении полиморфизма DR локуса хромосомы, который содержит короткие прямые повторы (DR, direct repeats, - англ.) нуклеотидов размером 36 пар оснований, разделенные варибельными по протяженности участками – спейсерами. Метод позволяет дифференцировать штаммы на основании наличия или отсутствия отдельных спейсеров. Метод является высокоспецифичным. Также он позволяет проводить одновременную идентификацию и генотипирование

«не только культур, но и микробных клеток *M. tuberculosis complex* непосредственно в клиническом материале в течение 1-2 дней» [1, 2].

Основными этапами метода сполитипирования являются: выделение ДНК исследуемого штамма *M. tuberculosis*, амплификация DR области хромосомы методом ПЦР, гибридизация полученных ПЦР-продуктов с 43 спейсерными олигонуклеотидами, фиксированными на мембране, детекция сигналов гибридизации с помощью светочувствительной пленки [1, 2, 3].

В настоящее время метод сполитипирования используется для классификации *M. tuberculosis* на подвиды и таксоны [4]. Генотипирование более 39 тысяч штаммов *M. tuberculosis* из 122 стран мира позволило создать международную базу данных SpolDB4.0 [4], в которую вошли 1939 профилей сполитипирования. Эта база данных содержит октальный и двоичный коды описания сполитипов всех микобактерий туберкулезного комплекса (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. canetti* и др.).

В настоящее время выделяют 36 генетических семейств *M. tuberculosis*. Многочисленные исследования, проведенные в мире, позволили выделить девять суперсемейств микобактерий туберкулезного комплекса: *Mycobacterium africanum*, Beijing (пекинское семейство), *M. bovis*, EAI (англ., East African-Indian - восточноафрикано-индийское семейство), CAS (англ., Central Asian – центрально-азиатское семейство), T (широко распространенное, но недостаточно изученное семейство), Haarlem, X (европейское семейство с малым количеством копий IS6110, широко распространенное так же в США и Великобритании), LAM (англ., Latin American and Mediterranean – латиноамерикано-средиземноморское семейство) [5].

Генетическое семейство Afri (nAfri = 180 штаммов) является субклассом *M. tuberculosis complex* и характеризуется отсутствием 8, 9 и 39 сигналов в профиле гибридизации по данным сполитипирования [3]. Генетическое семейство T является наиболее филогенетически древним [6] и наиболее многочисленным семейств, включает более 1,5 тысяч штаммов *M. tuberculosis*. Оно характеризуется наличием 31-го, а также 9 и 10 сигналов гибридизации, по крайней мере, одного сигнала в позициях с

21 по 24 и одновременным отсутствием 33-36 сигналов в профиле гибридизации [3].

Наиболее характерные представители генетического семейства Beijing (nBeijing = 1268 штаммов) имеют сполитип R0/1, который характеризуется отсутствием с 1 по 34 сигналов в профиле гибридизации [3, 4]. По данным Brudey R. et al. (2006) этот сполитип 1, генотипа Beijing, выявленный у 11% изолятов *M. tuberculosis* различного географического происхождения, является одним из наиболее распространенных в мире [4].

Генетическое семейство EAI (англ., East African-Indian - восточноафрикано-индийское семейство; nEAI = 907 штаммов) классифицируется по наличию по крайней мере одного сигнала в позициях 1 - 30 и одновременному отсутствию 29 - 32 и 34 сигналов в профиле гибридизации [3, 4]. Семейство Haarlem (nHaarlem = 1034 штаммов) характеризует наличие, по крайней мере, одного сигнала в позициях с 1 по 30 и одновременное отсутствие в профиле гибридизации 31, а также 33 - 36 сигналов [6]. Генетическое семейство LAM включает два подсемейства LAM-1 (nLAM-1 = 819 штаммов) и LAM-2 (nLAM-2 = 294 штамма) и характеризуется одновременным отсутствием 21 - 24 и 33 - 36 сигналов, а также присутствием по крайней мере одного сигнала в позициях с 1 по 30 [6]. Семейство X (nX = 1186 штаммов) имеет в профиле гибридизации одновременное отсутствие 18-го и 33 - 36 сигналов или, иногда одновременное отсутствие 18-го и 39 - 42 сигналов [3, 4, 6].

Среди изученных профилей сполитипирования выделяют сполитипы, распространенные повсеместно, и сполитипы, характерные для отдельных географических территорий. Наиболее распространенными в мире, по данным Sola C. и соавт. [7], являются штаммы *M. tuberculosis* генотипа Beijing, обнаруженные впервые в Китайской провинции Beijing, где их удельный вес составил 92% среди всех исследованных изолятов *M. tuberculosis* [8]. В последующем было выявлено распространение данного генотипа *M. tuberculosis* в других азиатских странах: Монголия, Таиланд, Южная Корея, Вьетнам, где, возможно, он является эндемичным [9]. Дальнейшие исследования показали распространение *M. tuberculosis* генотипа Beijing на территориях других континентов: в Южной Африке [8], Ка-

нарских островах [10], Колумбии [11], США [12]. В целом, к генетическому семейству Beijing относится 11% всех представленных в международной базе сполиготипов *M.tuberculosis* [4, 5]. Одним из объяснений такого широкого распространения *M.tuberculosis* генотипа Beijing во всем мире считается недостаточная эффективность вакцины БЦЖ, которая не обеспечивает эффективной защиты против инфицирования штаммами генотипа Beijing [13].

Данные последних исследований показали, что частота встречаемости *M.tuberculosis* генотипа Beijing значительно варьирует в зависимости от географической локализации территории. Наиболее часто *M.tuberculosis* генотипа Beijing встречаются в странах Азии: в Гонконге – 70% [14], Вьетнаме – 53% [15], Таиланде – 38% [16], Индонезии – 34% [6], Азербайджане – 70% [17]. В США встречаемость данного генотипа значительно ниже и составляет 25% [18].

M.tuberculosis генотипа Beijing характеризуются наличием от 15 до 20 копий вставочных элементов IS6110, выявляемых методом RFLP IS6110. При сполиготипировании штаммы этого генотипа характеризуются наличием 9 последних спейсеров (с 35-го по 43-й) при отсутствии всех остальных спейсеров [3]. К генотипу Beijing относится также семейство W-штаммов [19], обладающих множественной лекарственной устойчивостью и вызвавших несколько внутрибольничных вспышек туберкулеза в США [20, 21]. Изучение распространенности *M.tuberculosis* генотипа Beijing и компьютерный анализ степени сходства данных штаммов с расчетом коэффициента Диса был проведен так же в Эстонии, где коэффициент Диса составил 65% [22], в Индонезии – 66% [6], во Вьетнаме – 68% [15], на Канарских островах – 75% [10], на северо-западе России – 76% [23].

Генотипирование лекарственно-устойчивых *M.tuberculosis*, проведенное О.В. Нарвской, выявило преобладание полирезистентных и мультирезистентных штаммов генотипа Beijing на территории Северо-Запада России [23]. В результате изучения автором 345 штаммов *M.tuberculosis*, выделенных на территории Санкт-Петербурга и Северо-Запада России в 1998 – 2001 г., было определено 69 вариантов профилей сполиготипирования, 30 из которых были представлены кластерами, остальные

сполиготипы являлись уникальными, т. е. были выделены от одного больного. Автором также был установлен преобладающий на изучаемой территории сполиготип R0/1, выявленный у штаммов *M.tuberculosis* 49,9% больных, который относится к семейству Beijing. В дальнейшем была проанализирована географическая распространенность штаммов *M.tuberculosis*, имеющих сполиготип R0/1 семейства Beijing, и выявлена неравномерность его распространения в различных странах мира. Так, в Америке удельный вес данного сполиготипа составляет 2 – 16%, в странах Европы, Африки, центральной Азии и Среднего Востока – от трех до пяти процентов, в странах дальневосточного региона – до 45% и более [4, 5, 14, 15, 18, 24].

О.В. Нарвской [23] было установлено, что на территории Северо-Запада России к генетическому семейству Beijing относится 51,3% штаммов изученной популяции. Автором было также установлено, что помимо штаммов *M. tuberculosis* семейства Beijing на территории Северо-запада России циркулируют штаммы генетического семейства группы T (17,7%), группы семейств Haarlem (13,3%) и штаммы латиноамерикано-средиземноморских семейств (14,5%) – LAM (англ., Latin-American and Mediterranean). Проведенные исследования позволили создать российскую базу данных генотипов штаммов *M. tuberculosis* и выявить несколько сполиготипов, не имеющих в международной базе данных, а следовательно, встречающихся преимущественно на территории России.

Для более детального анализа структуры популяции *M.tuberculosis*, циркулирующей в изучаемой географической территории, О.В. Нарвской использовались комплексные исследования: помимо метода сполиготипирования, выполнен анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов IS6110. В результате была выявлена гетерогенность штаммов *M.tuberculosis* семейства Beijing по маркеру IS6110, тогда как по DR-локусу штаммы были фактически идентичны. Это позволило автору прийти к выводу, что для оценки генетического разнообразия популяции *M.tuberculosis*, в особенности штаммов семейства Beijing, целесообразно использовать независимые генетические маркеры.

Рассматриваемая научная работа ценна тем, что в ней имеются новые подходы к

раскрытию теории вопроса значения геномного полиморфизма *M.tuberculosis* в эпидемиологическом процессе, выявлено клинико-патогенетическое и эпидемиологическое значение *M.tuberculosis* различных генотипов. Автором сделаны выводы о связи устойчивости к изониазиду, рифампицину, стрептомицину и этамбутолу с генотипом Beijing, что показывает возможность использования избранных методов для динамического слежения за популяцией лекарственно-резистентных *M.tuberculosis*. Это позволит разрабатывать научно-обоснованные программы мониторинга и борьбы с лекарственно-устойчивым туберкулезом, основываясь на популяционных исследованиях с помощью молекулярно-генетических методов.

Исследования распространенности *M.tuberculosis* генотипа Beijing проведены и в некоторых странах бывшего Советского Союза. В Эстонии частота встречаемости *M.tuberculosis* данного генетического семейства составляет 29,2% [22], в Баренц-регионе России – 42,0% [25], на Северо-западе России – 51,3% [26], в Центральном регионе России – 43,4% [27], в Западной Сибири – 36,6% [28], в Республике Тыва – 50,0% [29].

ЦНИИТ РАМН совместно с Нью-Йоркским национальным институтом здравоохранения было протипировано методом IS6110-RFLP более 1000 штаммов *M.tuberculosis* на территории России, классификация которых осуществлялась по базе данных PHRI (Нью-Йорк) [30]. Наибольшее число протипированных штаммов относилось к W-семейству (37,9%), причем преобладали W148 штаммы, ранее обнаруженные в Пекине и Нью-Йорке. Вторыми по распространенности были штаммы AI-семейства (20,2%), кроме того, были выявлены *M.tuberculosis*, не относящиеся ни к одному из семейств, т.е. обладающие уникальным профилем гибридизации (19,7%). Предварительные результаты не позволили выделить преобладание какого-либо генотипического варианта *M.tuberculosis* на исследованных территориях России [30].

Генотипирование штаммов *M.tuberculosis* из Республики Тыва, проведенное методами IS6110-RFLP и спוליготипирования, выявило преобладание в исследованной популяции штаммов *M.tuberculosis* W-семейства (60,6%), что превышало распространенность подобных штаммов в целом по России (37,9%)

[29]. Штаммы *M.tuberculosis* AI-семейства авторами работы были выявлены в 19,7% случаев.

Дальнейшие исследования позволили выявить особенности инфекции, вызванной штаммами *M.tuberculosis* различных генотипов, в том числе штаммами генотипа Beijing. Этими особенностями явились: более тяжелое течение туберкулезного процесса, сравнительно небольшая давность заболевания, возраст больных до 30 лет, высокая трансмиссивность лекарственно-резистентных штаммов данного семейства [23, 31-34]. Так, в результате обследования 144 больных туберкулезом органов дыхания на территории Санкт-Петербурга и Северо-Запада России [34] было выявлено, что *M.tuberculosis* генотипа Beijing вызывают распространенные полисегментарные (в 82,4% случаев) деструктивные процессы, характеризующиеся прогрессирующим течением (40,5% случаев) и обильным бактериовыделением (77,0% случаев). Это, в свою очередь, связано с более высокой вирулентностью *M.tuberculosis* генотипа Beijing (64,7%) и с полирезистентностью, наиболее часто встречающейся у *M.tuberculosis* данного генетического семейства. По данным Н. В. Сапожниковой [34], 75,6% штаммов *M.tuberculosis* генотипа Beijing характеризовалось наличием полирезистентности, тогда как только 51,1% *M.tuberculosis* индивидуальных генотипов были устойчивы к двум и более препаратам. Ценным выводом данной работы явилось заключение о том, что значительно чаще первичная лекарственная устойчивость выявляется в том случае, когда заболевание туберкулезом вызвано микобактериями генетического семейства Beijing. Результаты исследования, приведенные автором, свидетельствуют, что первично множественной лекарственной устойчивостью обладало 53,7% штаммов *M.tuberculosis* генотипа Beijing и только 22,2% штаммов *M.tuberculosis* индивидуальных генотипов.

В исследованиях Ю. Н. Левашева и соавт. [31] в результате изучения 293 штаммов *M.tuberculosis*, выделенных от 148 впервые выявленных и 135 больных хроническим туберкулезом органов дыхания, было убедительно доказано, что туберкулез легких, вызванный *M.tuberculosis* генотипа Beijing, характеризуется выраженными симптомами интоксикации, двусторонним полисегментарным

поражением легочной ткани по данным рентгенологического исследования, массивным бактериовыделением, в том числе методом прямой бактериоскопии (92,6%), неуклонным прогрессирующим течением заболевания. В работе было также показано, что первичная мультирезистентность *M.tuberculosis* генотипа Beijing в 2 раза превышала таковую у *M.tuberculosis* индивидуальных генотипов, также, как и устойчивость к резервным противотуберкулезным препаратам (41,5% - к этионамиду, 29,3% - к рифабутину) [31].

Данные о высокой частоте лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* генотипа Beijing были подтверждены многочисленными исследованиями в различных странах мира. В Иране 36% *M.tuberculosis* генотипа Beijing обладали лекарственной устойчивостью к одному из основных противотуберкулезных препаратов [36]. Во Вьетнаме *M.tuberculosis* генотипа Beijing были устойчивы к изониазиду в 28% случаев, стрептомицину – в 42% случаев, рифампицину – в 3% случаев, этамбутолу – 3% случаев [15]. В Эстонии *M.tuberculosis* данного генетического семейства обладали лекарственной резистентностью к одному из основных противотуберкулезных препаратов в 70,5% случаев, а множественную лекарственную устойчивость имели 34,4% изученных штаммов *M.tuberculosis* генотипа Beijing [22].

С более частым наличием лекарственной устойчивости у *M.tuberculosis* генотипа Beijing связана, по-видимому, и достаточно низкая эффективность лечения больных, туберкулез у которых вызван микобактериями этого генетического семейства. Так, Н. В. Сапожникова [34] отмечает у больных, выделяющих *M. tuberculosis* генотипа Beijing, к концу стационарного этапа лечения сохранение интоксикационного синдрома в 35,1% случаев (у больных, выделяющих *M.tuberculosis* индивидуальных генотипов – 12,9%), сохранение бактериовыделения в 52,7% случаев (что в 2,5 раза чаще, чем у больных, выделяющих *M.tuberculosis* индивидуальных генотипов), сохранение полостей распада – 63,5%.

В целом, в литературе имеются скудные данные об эффективности лечения туберкулеза органов дыхания, вызванного *M.tuberculosis* различных генотипов.

В 2001 году в Республике Беларусь было впервые проведено молекулярное типиро-

вание лекарственно-резистентных штаммов *M.tuberculosis*, циркулирующих в пенитенциарных учреждениях [30]. В результате ПДРФ IS6110 анализа 44 штаммов *M.tuberculosis* авторами было выявлено преобладание в пенитенциарных учреждениях микобактерий W-семейства (63,3%) с высоким процентом смешанных культур (11,4%, в отличие от общелечебной сети, где процент смешанных культур составляет 0,2%) [30].

В дальнейшем в 2006 году Василенко Н.В. с соавт. [37] также было проведено генотипирование 194 лекарственно-устойчивых штаммов *M.tuberculosis*, выделенных в различных областях Республики Беларусь. Это исследование показало, что на территории Беларуси наиболее распространены *M.tuberculosis* генетических семейств Beijing – 43,8% и семейства T – 34,0%. Если данные по распространенности *M.tuberculosis* семейства Beijing в Беларуси отражают ситуацию в России и в странах бывшего Советского Союза в целом, то причины широкого распространения штаммов T-семейства требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, современные молекулярно-генетические методы типирования возбудителя туберкулеза позволили доказать, что популяция микобактерий генотипически гетерогенна, при этом в пределах каждой географической территории можно выделить как наиболее эпидемически значимые семейства микобактерий, которые представляют наибольшую опасность, так и менее значимые генетические семейства. Дальнейшее изучение причин преимущественного распространения тех или иных генетических семейств *M.tuberculosis* позволит разрабатывать методы, способствующие улучшению эпидемиологической ситуации.

Литература

1. Генотипирование возбудителя туберкулеза методом сполиготипирования : пособие для врачей / О. В. Нарвская [и др.] ; Санкт-Петербургский НИИЭМ имени Пастера. – СПб., 2004. – 19 с
2. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology / J. Kamerbeek [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1997 Apr. – Vol. 35, N 4. – P. 907–914.
3. Spacer oligonucleotide typing of bacteria of

- the Mycobacterium tuberculosis complex: recommendations for standardised nomenclature / J. W. Dale [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2001 Mar. – Vol. 5, N 3. – P. 216–219.
4. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population, genetics and epidemiology / K. Brudey [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2006 Mar. – Vol. 6. – P. 23.
 5. Snapshot of moving and expanding clones of Mycobacterium tuberculosis and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study / I. Filliol [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2003 May. – Vol. 41, N 5. – P. 1963–1970.
 6. Global distribution of Mycobacterium tuberculosis spoligotypes / I. Filliol [et al.] // *Emerg. Inf. Dis.* – 2002 Nov. – Vol. 8, N 11. – P. 1347–1349.
 7. Spoligotype database of Mycobacterium tuberculosis: biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives / C. Sola [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001 May-Jun. – Vol. 7, N 3. – P. 390–396.
 8. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of Mycobacterium tuberculosis: a systematic review / J. R. Glynn [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2002 Aug. – Vol. 8, N 8. – P. 843–849.
 9. Молекулярная эпидемиология туберкулеза / О. В. Нарвская [и др.] // *Большой целевой журнал о туберкулезе.* – 2000. – № 7/8. – С. 4–6.
 10. Epidemiological evidence of the spread of a Mycobacterium tuberculosis strain of the Beijing genotype on Gran Canaria island / J. A. Caminero [et al.] // *Am. Respir. Crit. Care Med.* – 2001 Oct. – Vol. 164, N 7. – P. 1165–1170.
 11. Clinical and programmatic mismanagement rather than community outbreak as the cause of chronic, drug-resistant tuberculosis in Buenaventura, Colombia, 1998 / K. F. Laserson [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2000 Jul. – Vol. 4, N 7. – P. 673–683.
 12. Tuberculosis among the homeless, United States, 1994–2010 / S. Bamrah [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2013 Nov. – Vol. 17, N 11. – P. 1414–1419.
 13. Шилова, М. В. Туберкулез в России в конце XX века / М. В. Шилова // *Проблемы туберкулеза.* – 2001. – № 5. – С. 8–13.
 14. Seventy percent of the Mycobacterium tuberculosis isolates in Hong Kong represent the Beijing genotype / M. Y. Chan [et al.] // *Epidemiol. Infect.* – 2001 Aug. – Vol. 127, N 1. – P. 169–171.
 15. Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype emerging in Vietnam / D. D. Anh [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2000 May-Jun. – Vol. 6, N 3. – P. 302–305.
 16. Restriction fragment length polymorphism study of Mycobacterium tuberculosis in Thailand using IS6110 as probe / P. Palittapongarnpim [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 1997 Aug. – Vol. 1, N 4. – P. 370–376.
 17. Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan / G. E. Pfyffer [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001 Sep-Oct. – Vol. 7, N 5. – P. 855–861.
 18. Characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients in Houston, Texas by spoligotyping / H. Soini [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2000 Feb. – Vol. 38, N 2. – P. 669–676.
 19. Van Soolingen, D. Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements / D. Van Soolingen // *J. Intern. Med.* – 2001 Jan. – Vol. 249, N 1. – P. 1–26.
 20. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis clone family / P. J. Bifani [et al.] // *JAMA.* – 1996 Feb. – Vol. 275, N 6. – P. 452–457.
 21. Spread of strain W, a highly drug-resistant strain of Mycobacterium tuberculosis, across the United States / T. Agerton [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 1999 Jul. – Vol. 29, N 1. – P. 85–92.
 22. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia / A. Kruuner [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2001 Sep. – Vol. 39, N 9. – P. 3339–3345.
 23. Нарвская, О. В. Геномный полиморфизм Mycobacterium tuberculosis и его значение в эпидемическом процессе : автореф. ... дис. д-ра мед. наук : 03.00.07 / О. В. Нарвская ; ФГУ «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера МЗ РФ». – СПб., 2003. – 35 с.
 24. Spread of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype in the Archangel oblast, Russia / O. S. Toungousova [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2002 Jan. – Vol. 40, N 6. – P. 1930–1937.
 25. Drug resistance of mycobacterium tuberculosis strains isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Archangelsk, Russia / S. Toungousova [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2002. – Vol. 6, N 5. – P. 406–414.
 26. Характеристика циркулирующих на Северо-Западе России штаммов Mycobacterium tuberculosis с использованием сполиготипирования / О. В. Нарвская [и др.] // *Проблемы туберкулеза.* – 2002. – № 4. – С. 44–47.
 27. Жилин, Ю. Н. Преобладание штаммов Mycobacterium tuberculosis семейства Beijing и факторы риска их трансмиссии в Самарской области / Ю. Н. Жилин // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.* – 2006. – № 2. – С. 31–37.

28. Киншт, В. Н. Молекулярно-эпидемиологический анализ штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих в Западно-Сибирском регионе / В. Н. Киншт, Ю. Н. Курунов, О. И. Альховик // Материалы VII Российского съезда фтизиатров, Москва, 3–5 июня 2003 г. – Москва, 2003. – С. 110.
29. Генотипическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* из Республики Тыва / А. Г. Матракин [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2004. – № 3. – С. 37–40.
30. Генотипирование микобактерий, выделенных от больных туберкулезом из пенитенциарного учреждения / Л. Н. Черноусова [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 7. – С. 60–62.
31. Клиническое значение штаммов *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов, циркулирующих на северо-запада России / Ю. Н. Левашев [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2004. – Т. 4, № 1. – С. 56–61.
32. Нарвская, О. В. Возбудитель туберкулеза в современных условиях / О. В. Нарвская, И. В. Мокроусов, А. Б. Жебрун // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2003. – Т. 4, № 11. – С. 13–15.
33. Сапожникова, Н. В. Особенности течения туберкулеза легких в зависимости от биологических свойств возбудителя : автореф. ... дис. канд. мед. наук : 14.00.26 / Н. В. Сапожникова. – СПб, 2003. – 22 с.
34. Туберкулез легких, вызванный *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов / Н. В. Сапожникова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – № 10. – С. 13–15.
35. Вишневский, Б. И. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза на Северо-Западе России / Б. И. Вишневский, Е. Б. Вишневская // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – № 5. – С. 42–45.
36. Evaluation of tuberculosis transmission in Tehran: using RFLP and spoligotyping methods / P. Farnia [et al.] // J. of Infect. – 2004 Aug. – Vol. 49, N 2. – P. 94–101.
37. Споллиготипирование лекарственно-устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis* циркулирующих на территории Беларуси / Н. В. Василенко [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2006. – № 4. – С. 70–73.

Поступила 03.06.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Василенко Н.В. – к.м.н., доцент кафедры фтизиопульмонологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Будрицкий А.М. – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, г. Витебск, ул. Лазо, д.97, кв.3. Тел.моб.: +375 (29) 333-75-35 – Василенко Наталья Владимировна.

ДИНАМИКА И ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ЦИРРОЗЕ

ЛЕБЕДЕВА Е.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель – изучение динамики и половых различий биохимических изменений в сыворотке крови экспериментальных животных, возникающих в ответ на воздействие четыреххлористого углерода в сочетании с этанолом.

Материал и методы. Модель токсического цирроза печени у белых крыс создавали путем длительного внутривентрикулярного введения 40%-го масляного раствора CCl_4 в течение 19 недель в сочетании с этанолом. В сыворотке крови животных изучали изменения основных показателей белкового, липидного, углеводного, пигментного обмена, активности ключевых ферментов метаболизма. Проведено морфологическое исследование печени и статистический анализ полученных результатов.

Результаты. В работе получены результаты, отражающие грубые изменения биохимических показателей сыворотки крови, характеризующих метаболические процессы, в которых принимает участие печень, и свидетельствующие о наличии цирротического процесса у экспериментальных животных. Обнаружена отчетливая положительная зависимость выявленных изменений биохимических показателей сыворотки крови от степени выраженности морфологических проявлений цирроза печени. Установлены отчетливые половые различия изученных биохимических показателей сыворотки крови, свидетельствующие о более высокой устойчивости самок к развитию цирроза печени.

Заключение. Установлено, что наиболее сложная динамика изменений изученных показателей наблюдалась для активности ферментов (щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы), уровней глюкозы и холестерина.

Ключевые слова: цирроз печени, белые крысы, метаболические нарушения, половые различия.

Abstract.

Objectives. To study the dynamics and sex differences of biochemical changes occurring in response to CCl_4 with ethanol influence in the blood serum of experimental animals.

Material and methods. The model of toxic liver cirrhosis in white rats was created by means of long intragastric introduction of oily 40% CCl_4 solution in combination with ethanol during 19 weeks. The changes of the main indices of protein, lipid, carbohydrate, pigment metabolism and key metabolism enzymes activity were studied in the animals' blood serum. The morphological study of the liver and statistical analysis of the received results were made.

Results. The results demonstrating the rough changes of blood serum biochemical indices characterizing metabolic processes in which the liver participates and proving the presence of cirrhotic process in the experimental animals have been obtained. The marked positive dependence of the determined changes in biochemical indices of the blood serum on the degree of morphological signs expressiveness of liver cirrhosis has been revealed. The significant sex differences of the studied blood serum biochemical indices have been determined which testify to a stronger resistance of female rats to the development of liver cirrhosis.

Conclusions. It has been established that the most complex dynamics of the studied indices changes was characteristic of the activity of enzymes (alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase), glucose and cholesterol levels.

Key words: liver cirrhosis, white rats, metabolic disturbances, sex differences.

Смертность от цирроза печени в Беларуси в 2009 г. составила 23,9%, из них показатель смертности от алкогольного цирроза печени составил 6,0%, в 2010 г. – 24,9% и 7,1% соответственно. Несмотря на то, что уровень вклада цирроза печени в ассоциированную с алкоголем смертность варьирует в исследованиях разных авторов, считается общепризнанным, что не менее 50% всех смертей от цирроза печени обусловлены злоупотреблением алкоголем [1, 2]. С 2000 по 2011 гг. контингент больных хроническим алкоголизмом и алкогольным психозом в Беларуси вырос на 44,6% (с 1426,9 до 2062,7 на 100 тыс. населения) [3]. Исходом хронической интоксикации алкоголем является развитие цирроза печени. Алкогольный цирроз печени является наиболее тяжелой формой поражения печени и часто заканчивается летальным исходом [4]. Клинические проявления цирроза печени достаточно разнообразны и в основном определяются степенью активности процесса, функциональными изменениями печени, а также развитием портальной гипертензии. Все это приводит к тому, что у многих больных заболевание диагностируется лишь в терминальной стадии при развитии осложнений или выраженности обострений болезни [5]. Таким образом, возникает необходимость оптимизации методов выявления больных с цирротическими поражениями печени.

Изучение механизмов развития цирроза печени, оценка гепатотоксичности различных веществ, исследование действия гепатопротекторов и применение современных клеточных технологий невозможны без адекватной модели цирроза печени на лабораторных животных [6]. Несмотря на то, что интрагастральное введение алкоголя достаточно широко применяется для моделирования жировой дистрофии, фиброза и некроза печени [7], развитие цирроза печени у крыс при подобном воздействии получить не удалось. В настоящее время традиционной моделью для изучения цирроза печени является хроническое отравление животных четыреххлористым углеродом (тетрахлорметаном, CCl_4) [8]. Показано, что хроническая интоксикация животных CCl_4 воспроизводит многие характерные признаки цирроза у человека [9, 10].

Несмотря на то, что влияние CCl_4 на организм изучено подробно, дальнейшее углубленное исследование данной формы химиче-

ской патологии и поиск методов их фармакологической коррекции представляется весьма актуальным. Это связано с тем, что экспериментальные модели с использованием CCl_4 широко используются в научных исследованиях для решения не только вопросов гепатологии, но и ряда общебиологических проблем.

Для оценки функций печени применяют ряд «печеночных» тестов: определения билирубина, сывороточного альбумина, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспартаминотрансферазы [11, 12], однако при этом большинство авторов не уделяет внимания динамике биохимических изменений в печени и не учитывает гендерные различия. Гендерная медицина является новым направлением, специализирующимся на биологических и физиологических различиях, существующих между мужчиной и женщиной. Гендерный подход в медицине предполагает взгляд на заболевание с точки зрения пола [13].

Целью исследования было изучение динамики и половых различий биохимических изменений в сыворотке крови экспериментальных животных, возникающих в ответ на воздействие четыреххлористого углерода в сочетании с этанолом.

Методы

Экспериментальная часть работы была выполнена на базе НИЛ Витебского государственного медицинского университета. Биохимические и морфологические исследования выполнены в НИИПВМ и Б Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. Исследование выполнено на 96 половозрелых беспородных белых крысах (*Rattus rattus* L.) обоего пола массой 180-250г в осенне-зимний период. Животные были разделены на группы: 6 опытных (n=12, 6 самцов и 6 самок), контрольная (n=12, 6 самцов и 6 самок) и интактная (n=12, 6 самцов и 6 самок). В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Животные содержались в пластиковые-металлических клетках с опилками, по 6 особей в каждой клетке, при естественном освещении, со свободным доступом к корму и воде. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с соблюдением принци-

пов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, которые используют в экспериментальных и других научных целях (г. Странбург, 1986), и согласно правилам лабораторной практики РБ (приложение к приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006). Выбор данного вида лабораторных животных обусловлен, в первую очередь, возможностью экстраполяции органных и тканевых изменений у крыс на таковые у человека. Кроме того, этому способствовали простота содержания и легкость выполнения с крысами различных процедур (фиксация, введение растворов веществ с помощью зонда и т.д.). Токсическое поражение печени моделировали путем длительного внутрижелудочного введения 40%-го масляного раствора ССЛ₄ 2 раза в неделю в утренние часы за 4 часа до кормления. Параллельно с этим вместо воды в качестве питья крысы получали 5%-ный раствор этанола из поилок в режиме свободного доступа в течение 19 недель. Контрольные (плацебо) животные получали эквивалентное количество растворителя ССЛ₄ (оливковое масло) и в качестве питья использовали кипяченую воду из поилок в режиме свободного доступа. Интактные животные – крысы того же возраста и веса, что и экспериментальные.

Для оценки течения патологического процесса проводили регулярное наблюдение за животными, во время которого отмечали потребление корма и воды, изменения внешних признаков (волосяного покрова, видимых слизистых оболочек), особенности поведения, а также осуществляли еженедельное взвешивание. Степень выраженности патологических изменений, регистрируемых у животных, подвергшихся длительной интоксикации, определяли с помощью гистологических, биохимических исследований и биометрических показателей (масса тела, относительная и абсолютная масса печени).

Для изучения динамики метаболических изменений опытных животных выводили из эксперимента в разные сроки: через 3, 6, 9, 12, 16, 19 недель от начала опыта, который длился 19 недель путем декапитации с применением гильотины после их 14 часового голодания, в утренние часы, согласно утвержденным инструкциям и законодательным актам. Контрольную группу и интактную выводили из опыта по окончании эксперимента.

В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку крови животных, которую получали по общепринятой методике. Для определения активности аланинаминотрансферазы (GPT, U/L) и аспаратаминотрансферазы (GOT, U/L) использовали кинетический метод IFCC без пиридоксаля, гаммаглутамилтранспептидазы (γ -GGT, U/L) – кинетический метод, щелочной фосфатазы (ALP, U/L) – кинетический метод с образованием 4-нитрофенола. Для оценки углеводного и белкового обмена у контрольных и экспериментальных животных определяли содержание глюкозы, общего белка, альбумина, мочевины, и мочевой кислоты. Концентрацию глюкозы (Gl, ммоль/л) определяли ферментативным методом, концентрацию общего белка (Pr, г/л) – биуретным методом. Альбумин (Alb, г/л) определяли прямым колориметрическим методом с бромкрезоловым зеленым, мочевины (Ur, ммоль/л) – ферментативно-кинетическим методом с уреазой и ГЛДГ, мочевую кислоту (UA, мкмоль/л) – энзиматическим методом с уриказой и пероксидазой. Для оценки липидного обмена определяли содержание общего холестерина и триацилглицеролов. Общий холестерол (Chol, ммоль/л) определяли энзиматическим колориметрическим PАР-методом, триацилглицеролов (TAG, ммоль/л) – колориметрическим энзиматическим методом с глицерофосфорной оксидазой. Общий билирубин (Bil, ммоль/л) определяли с диазониевой солью сульфаниловой кислоты. Биохимические анализы выполнялись на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (EUROLab, Instruments GmbH; Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Cormay» (Польша), согласно приложенным к ним инструкциям. Все биохимические исследования были выполнены в день забора крови.

Материалом для патоморфологических исследований служили фрагменты нормальной и патологически измененной левой боковой доли печени животных. Для выявления общих гистологических изменений фрагменты органа фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и смеси Гелли. Проводку осуществляли в автомате для гистологической обработки ткани STP-120 (тип карусель, Германия), заливку – на станции для заливки ткани парафином ЕС350 (Германия). С каждого блока с

помощью ротационного микротомы HM 340E (MICROM, Laborgerate GmbH; Германия) получали серийные срезы (толщина срезов около 4-5 мкм) и окрашивали гематоксилином и эозином в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических методик HMS70 (Германия). Ранние фибропластические изменения выявляли при помощи окраски трихромом по Массону вручную. В нефиксированных срезах печени (около 10 мкм), приготовленных на микротоме-криостате HM525 (MICROM, International GmbH; Германия), гистохимически определяли содержание общих липидов суданом III, IV и по методу Лизона. Приготовление красителей, постановку соответствующих контролей проводили в соответствии с прописями, проведенными в руководствах (Г.А. Меркулов, 1969; Б. Ромейс, 1953; Э. Пирс, 1962; Р. Лилли, 1969). Микроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа OLYMPUS BX 51 со встроенной видеокамерой OLYMPUS XC 30 (Япония) при увеличении окуляра SWH 10X-H/26,5 и объективов UPLanFL 4x/0,13, 10x/0,30, 20x/0,50, 40x/0,75, 60x/1,42, 100x/1,30. Степень фиброзных изменений печени оценивали по шкале Knodell.

Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007 и STATISTIKA 6,0. Определяли средние значения, стандартные отклонения. Учитывая малую выборку животных, неправильное распределение исследуемых признаков, а также неравенство дисперсий для статистической обработки полученных результатов, был использован непараметрический U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На 4-й неделе эксперимента существенно изменения в состоянии животных опытных групп по сравнению с интактными не происходило. По мере увеличения продолжительности введения CCl_4 и этанола у большинства животных появлялись признаки общего угнетения поведенческих реакций, слабое удержание шерсти и подшерстка, иктеричность видимых слизистых оболочек, носогубного треугольника и шерстного покрова в области

шеи, туловища, хвоста и дистальных отделов конечностей. При изучении поведенческих особенностей у многих животных наблюдались отсутствие интереса к пище, снижение аппетита. К концу эксперимента клиническая картина характеризовалась гиподинамией, заторможенностью, взъерошенностью и загрязненностью шерстного покрова, обширными участками облысения в области брюшной стенки, отказом от приема корма, дряблостью скелетных мышц, выраженной желтушностью хвоста и потерей его упругости. У крыс, подвергшихся в течение 19 недель интоксикации CCl_4 , развивался типичный цирроз печени. Печень при макроскопическом исследовании была увеличена в размерах, имела красновато-желтую окраску, поверхность ее была неоднородная, бугристая за счет узлов разного диаметра. Край печени был закруглен.

После 3 нед. воздействия CCl_4 и этанола в сыворотке крови самцов повышалась активность ферментов ALP, GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 5, 13,8, 4,1, 1,6 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Через 6 нед. эксперимента по сравнению с показателем 3-й нед. значительно возрастал уровень ALP соответственно в 1,3 раза, а с показателем контроля – в 6,7 раза. Активность ферментов GPT, GOT снижалась, но уровни контроля не достигала. Уровень γ -GGT повышался незначительно по сравнению с 3-й нед.

Через 9 нед. активность ферментов ALP, GPT, γ -GGT продолжала снижаться, но уровни контроля не достигала. При этом уровень GOT снижался ниже уровня контрольной группы в 1,2 раза.

На фоне дальнейшей интоксикации животных (12 нед.) по сравнению с 9-й нед. эксперимента отмечалось достоверное увеличение активности всех индикаторных ферментов.

Через 16 нед. эксперимента по сравнению с 12-й нед. происходило резкое снижение GPT и повышение γ -GGT соответственно в 7 и 1,3 раза. Активность ALP, GOT также снижалась, но уровни контроля не достигала.

В конце эксперимента (19 нед.) активность ALP продолжала снижаться. При этом уровень GPT, GOT по сравнению с 16-й нед. возрастал соответственно в 4 и 1,2 раза.

При моделировании токсического цирроза печени отмечалась сложная динамика изменения активности индикаторных ферментов

Таблица 1 – Динамика изменений активности ключевых ферментов метаболизма сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	ALP, U/L	GPT, U/L	GOT, U/L	γ -GGT, U/L
Контрольная	94,71 \pm 1,41	63,38 \pm 0,45	154,96 \pm 0,95	8,65 \pm 0,36
3 недели эксперимента	475,39 \pm 5,42*	878,88 \pm 0,51*	636,39 \pm 0,79*	14,38 \pm 0,18*
6 недель эксперимента	637,97 \pm 0,54*	275,28 \pm 0,67*	588,70 \pm 0,50*	15,34 \pm 0,07*
9 недель эксперимента	389,49 \pm 2,40*	120,62 \pm 0,44*	125,46 \pm 0,39*	10,50 \pm 0,13*
12 недель эксперимента	625,92 \pm 1,06*	578,49 \pm 0,60*	373,06 \pm 0,65*	16,39 \pm 0,15*
16 недель эксперимента	587,63 \pm 1,50*	82,50 \pm 0,30*	258,58 \pm 0,18*	22,06 \pm 0,21*
19 недель эксперимента	345,38 \pm 0,42*	336,58 \pm 0,55*	304,45 \pm 0,53*	21,95 \pm 0,28*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 2 – Динамика изменений активности ключевых ферментов метаболизма сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	ALP, U/L	GPT, U/L	GOT, U/L	γ -GGT, U/L
Контрольная	159,04 \pm 2,28	52,49 \pm 0,47	155,36 \pm 0,76	8,35 \pm 0,32
3 недели эксперимента	221,39 \pm 1,03*	955,06 \pm 0,21*	568,10 \pm 0,35*	20,49 \pm 0,15*
6 недель эксперимента	365,71 \pm 0,34*	276,13 \pm 0,41*	566,62 \pm 0,74*	17,56 \pm 0,14*
9 недель эксперимента	227,57 \pm 0,93*	126,24 \pm 0,38*	118,76 \pm 0,41*	13,51 \pm 0,14*
12 недель эксперимента	640,56 \pm 0,55*	864,56 \pm 0,83*	386,94 \pm 0,46*	28,51 \pm 0,19*
16 недель эксперимента	468,20 \pm 1,44*	102,13 \pm 0,41*	290,33 \pm 0,27*	25,90 \pm 0,24*
19 недель эксперимента	259,01 \pm 0,48*	484,35 \pm 0,43*	351,90 \pm 0,46*	31,12 \pm 0,33*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

и у самок белых крыс. Через 3 нед. воздействия CCL4 и этанола в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой повышалась активность ферментов ALP, GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 1,4, 18,2, 3,6, 2,5 раза (табл. 2).

Через 6 нед. эксперимента активность ALP возрастала по сравнению с 3-й нед. соответственно в 1,6 раза, а с показателем контрольной группы – в 2,3 раза. Уровень GPT, γ -GGT снизился, но уровня контроля не достигал. Активность GOT оставалась на прежнем уровне.

Через 9 нед. эксперимента активность ферментов ALP, GPT, γ -GGT снижалась по сравнению с 6-й нед., но уровня контроля не достигала. При этом уровень активности GOT снижался ниже уровня активности контрольной группы в 1,3 раза.

По мере развития заболевания (12 нед.) по сравнению с 9-й нед. эксперимента отмечалось увеличение уровня активности всех индикаторных ферментов.

Через 16 нед. эксперимента по сравнению с 12-й нед., выявлялось снижение активности всех ферментов причем наиболее значительно – активности GPT (в 8,5 раза по сравнению с 12 нед.). В конце эксперимента происходило увеличение активности GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 4,7, 1,2, 1,2 раза по сравнению с 16-й нед. Описанные изменения в активности ферментов-маркеров токсического поражения печени свидетельствуют об активно протекающих процессах повреждения гепатоцитов.

При исследовании ферментного спектра сыворотки крови белых крыс были установлены достоверные половые различия по активности щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы у контрольных и экспериментальных животных. В отличие от них, половые различия в активности аспартатаминотрансферазы и гаммаглутамилтранспептидазы были установлены только у экспериментальных животных.

Определение уровня глюкозы в сыворотке крови самцом показало достоверное сниже-

ние показателя ниже нормы на протяжении всего эксперимента (табл. 3).

Резкое снижение уровня глюкозы выявлено на 3-й нед. (в 7,1 раза по сравнению с контрольной группой животных). Отмечено резкое повышение на 6-й и на 16-й нед. в 2,9, 5 раза соответственно по сравнению с 3-й нед. эксперимента.

Примерно такая же закономерность прослеживалась при исследовании углеводного обмена в сыворотке крови самок (табл. 4). Через 3 нед. эксперимента уровень глюкозы в сыворотке крови самок резко снижался (в 5,8 раза) по сравнению с контрольной группой. Через 6 и 16 нед., наоборот, показатель резко возрастал (в 2,8 и 4,6 раза соответственно по сравнению с 3-й нед. эксперимента). Пониженное содержание глюкозы в сыворотке крови ниже минимального уровня, к которому адаптирован организм, вызывает серьезные нарушения в функционировании всех органов и си-

стем, особенно структур центральной нервной системы.

В углеводном спектре отмечены достоверные половые различия по содержанию глюкозы у контрольных и животных с цирротическим поражением печени.

При исследовании уровня холестерина в сыворотке крови самцов в различные сроки от начала введения ССL₄ и этанола наблюдалось его достоверное возрастание на протяжении всего периода исследования. Особенно значительное повышение его уровня отмечено на 3-й и 16-й нед. (в 3,3 и 4,3 раза соответственно по сравнению с контрольной группой животных, табл. 3).

Более сложная динамика изменений уровня холестерина отмечена в сыворотке крови самок (табл. 4). В начале эксперимента (3 нед.) выявлено достоверное увеличение показателя соответственно в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой. Через 9 нед его

Таблица 3 – Динамика изменений активности показателей углеводного, липидного и пигментного обмена сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; n=6)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Gl, ммоль/л	Chol, ммоль/л	TAG, ммоль/л	Bil, ммоль/л
Контрольная	13,07±0,50	0,74±0,05	0,40±0,02	8,36±0,12
3 недели эксперимента	1,83±0,10*	2,45±0,13*	0,74±0,10*	154,43±0,29*
6 недель эксперимента	5,34±0,19*	1,73±0,02*	0,41±0,01	448,92±0,26*
9 недель эксперимента	6,42±0,1*	1,04±0,01*	0,53±0,01*	348,22±0,16*
12 недель эксперимента	6,41±0,15*	1,06±0,02*	0,53±0,02*	683,28±0,23*
16 недель эксперимента	9,16±0,14*	3,25±0,13*	0,64±0,02*	26,27±0,16*
19 недель эксперимента	6,68±0,15*	2,43±0,12*	0,62±0,03*	19,37±0,17*

Примечание: * p<0,05 – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 4 – Динамика изменений активности показателей углеводного, липидного и пигментного обмена сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; n=6)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Gl, ммоль/л	Chol, ммоль/л	TAG, ммоль/л	Bil, ммоль/л
Контрольная	11,18±0,26	1,37±0,07	0,46±0,04	12,56±0,28
3 недели эксперимента	1,92±0,04*	2,46±0,10*	0,73±0,02*	214,43±0,47*
6 недель эксперимента	5,43±0,16*	1,69±0,03*	0,39±0,01	475,91±0,15*
9 недель эксперимента	6,44±0,19*	1,38±0,01	0,63±0,01*	446,07±0,39*
12 недель эксперимента	6,17±0,09*	0,54±0,01*	0,55±0,03	720,77±0,19*
16 недель эксперимента	8,89±0,26*	5,20±0,13*	0,55±0,01	31,23±0,16*
19 недель эксперимента	7,50±0,22*	3,47±0,17*	0,57±0,03	26,95±0,26*

Примечание: * p<0,05 – различия достоверны при сравнении с контрольной группой

уровень соответствовал норме. В дальнейшем (12 нед.) отмечено его значительное падение (в 2,5 раза ниже нормы). Через 16 и 19 нед. уровень холестерина возрастал (соответственно в 3,8; 2,5 раза по сравнению с контрольной группой).

Токсическое поражение печени четыреххлористым углеродом и этанолом сопровождалось достоверным незначительным повышением триацилглицеролов у самцов и самок (табл. 3, 4). При этом повышение было более выраженным у самцов. В то же время через 6 нед. эксперимента его уровень соответствовал норме у самцов и самок, а также у самок через 12, 16, 19 нед. Полученные данные подтверждают нарушение обмена липидов при токсическом циррозе.

Изучение показателей липидного спектра показало достоверные половые различия по уровню холестерина у контрольных и животных на более поздних сроках эксперимента. В то же время по содержанию триацилглицеролов достоверных различий между самцами и самками белых крыс не выявлено.

Определение уровня общего билирубина показало достоверное увеличение показателя у самцов и самок на протяжении всего эксперимента (табл. 3, 4). При этом особенно резкое повышение было отмечено через 6, 9, 12 нед. Нарушению обмена Vil способствует резкое ослабление метаболических процессов в пораженных гепатоцитах, которые теряют способность нормально выполнять различные биохимические и физиологические процессы.

Исследование пигментного обмена выявило достоверные половые различия по содержанию общего билирубина у контрольных и экспериментальных животных.

Исследование общего белка в сыворотке крови белых крыс показало незначительное достоверное увеличение показателя у самцов и самок на протяжении всего эксперимента (табл. 5, 6). При этом у самок через 12 нед. эксперимента уровень общего белка снижался в 1,1 раза по сравнению с контрольной группой, а затем снова достоверно превышал норму.

Уровень альбуминов через 3, 6, 12, 16 нед. достоверно, но незначительно возрастал как у самцов, так и у самок. Через 19 нед. показатель достоверно снижался у всех животных (соответственно в 1,3; 1,4 раза в сравнении с контрольной группой, табл. 5, 6). Уменьшение

синтеза альбумина является информативным показателем нарушения функции печени и указывает на развитие цирротического процесса и повреждение гранулярного эндоплазматического ретикулула.

Введение CCl_4 и этанола достоверно снижало уровень мочевины у самцов и самок в течение 19 нед. эксперимента (табл. 5, 6). При этом у самцов ее уровень через 6 нед. соответствовал норме. Концентрация мочевины в крови зависит от скорости ее образования в печени и удаления почками. Поэтому при тяжелых поражениях печени уровень мочевины в крови обычно снижается.

У контрольных животных были выявлены достоверные половые отличия по уровню общего белка, мочевины. В то же время у экспериментальных животных эти различия установлены для уровней альбумина, мочевины.

На фоне интоксикации отмечено увеличение в сыворотке крови мочевой кислоты у самцов и самок на протяжении всего эксперимента. При этом резкое по сравнению с контролем повышение было отмечено через 3, 16 нед. В ходе исследования уровень мочевой кислоты возрастал у самцов (соответственно в 4,3; 3,3 раза), а у самок – 4,6; 4,3 по сравнению с контрольной группой (3, 16 нед.) (табл. 5, 6).

Достоверные половые различия по уровню мочевой кислоты были выявлены только у экспериментальных животных.

Гистологический анализ органа подопытных крыс показал развитие хронического патологического процесса в динамике, основным проявлением которого являлся фиброз и цирроз печени. Это подтверждается достоверным увеличением относительной массы органа. Гепатоциты находились в состоянии белковой, гидropической дистрофии и диффузной мелко- и крупнокапельной липидной инфильтрации. Определялись дисконкомплексация печеночных балок, пролиферация соединительной ткани и паренхимы. В поле зрения наблюдались большое количество некротизированных гепатоцитов, серозный отек паренхимы, лимфоидно-макрофагальный инфильтрат. Степень фиброза соответствовала 4-м баллам по шкале Knodell. Морфологическое исследование срезов печени контрольных и интактных крыс показало, что структура паренхимы типична для нормального органа.

Таблица 5 – Динамика изменений показателей белкового обмена сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Рг, г/л	Аlb, г/л	Uг, ммоль/л	UА, мкмоль/л
Контрольная	58,05±0,72	51,15±1,40	7,99±0,30	66,60±0,72
3 недели эксперимента	67,96±0,40*	60,70±0,35*	6,33±0,09*	287,28±0,36*
6 недель эксперимента	63,88±0,22*	74,77±0,15*	7,57±1,7	164,60±0,35*
9 недель эксперимента	67,66±0,28*	53,81±0,51	4,47±0,11*	201,42±0,36*
12 недель эксперимента	60,22±0,12*	61,41±0,49*	4,03±0,17*	128,92±0,27*
16 недель эксперимента	68,13±0,25*	59,76±0,21*	5,27±0,17*	220,11±0,29*
19 недель эксперимента	77,66±0,23*	38,41±0,15*	5,44±0,22*	140,53±0,18*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 6 – Динамика изменений показателей белкового обмена сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Рг, г/л	Аlb, г/л	Uг, ммоль/л	UА, мкмоль/л
Контрольная	64,29±0,74	49,75±1,86	11,25±0,29	65,81±0,64
3 недели эксперимента	67,62±0,28*	60,67±0,36*	6,49±0,11*	300,57±0,38*
6 недель эксперимента	64,57±0,26	65,87±0,30*	7,81±0,10*	198,62±0,32*
9 недель эксперимента	67,54±0,19*	43,67±0,65*	5,53±0,15*	178,41±0,25*
12 недель эксперимента	59,96±0,34*	58,88±0,31*	5,50±0,13*	168,54±0,28*
16 недель эксперимента	68,28±0,26*	60,24±0,31*	7,28±0,14*	287,79±0,47*
19 недель эксперимента	78,41±0,10*	35,51±0,41*	6,21±0,33*	201,86±0,19*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Заключение

В работе получены результаты, отражающие грубые изменения биохимических показателей сыворотки крови, характеризующих метаболические процессы, в которых принимает участие печень, и свидетельствующие о наличии цирротического процесса у экспериментальных животных.

Установлено, что наиболее сложная динамика изменений изученных показателей наблюдалась для активности ферментов (щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы), уровней глюкозы и холестерина.

Обнаружена отчетливая положительная зависимость выявленных изменений биохимических показателей сыворотки крови от степени выраженности морфологических проявлений цирроза печени.

Установлены отчетливые половые различия изученных биохимических показателей

сыворотки крови, свидетельствующие о более высокой устойчивости самок к развитию цирроза печени.

Проведенное исследование было построено по принципу комплексного анализа биохимических показателей, отражающих токсическое поражение печени белых крыс. Полученные данные раскрывают некоторые стороны метаболических изменений при развитии токсического цирроза печени у животных, учитывая динамику и половые различия. Это поможет разработать эффективные средства профилактики и терапии этого заболевания.

Литература

1. Кобаль, П. М. Циррозы печени как причина смертности в Минске в 2010 году / П. М. Кобаль // Актуальные проблемы современной медицины 2012 : материалы 66-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием : в 2 ч. Ч. 1. – Минск, 2012. – С. 15-17.

2. Разводовский, Ю. Е. Смертность от цирроза печени в Беларуси в период с 1981 по 2001 годы / Ю. Е. Разводовский // *Здравоохранение*. – 2007. – № 7. – С. 25-28.
3. *Здравоохранение в Республике Беларусь* : офиц. стат. сб. за 2011 г. – Минск : ГУ РНМБ, 2012. – 304 с.
4. Подымова, С. А. *Болезни печени* : (рук. для врачей) / С. А. Подымова. – М. : Медицина, 1984. – 479 с.
5. Садовникова, И. И. Циррозы печени. Вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики, лечения / И. И. Садовникова // *Русский медицинский журнал*. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 88-98.
6. Моделирование цирроза печени на лабораторных животных / И. В Арутюнян [и др.] // *Клиническая экспериментальная морфология*. – 2012. – № 2. – С. 45-50.
7. A voluntary oral ethanol-feeding rat model associated with necroinflammatory liver injury / G. L. Tipoe [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2008. – Vol. 32, N 4. – P. 669-682.
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
9. A novel model of CCL4-induced cirrhosis with ascites in the mouse / M. Domenicali [et al.] // *J. Hepatol.* – 2009 Dec. – Vol. 51, N 6. – P. 991-999.
10. Controlled production of cirrhosis in the rat liver / H. Rosa [et al.] // *Arq. Gastroenterol.* – 1991 Jan-Mar. – Vol. 28, N 1. – P. 39-43.
11. Камышников, В. С. Клинико-лабораторная диагностика заболеваний печени / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 96 с.
12. Хазанов, А. И. Функциональная диагностика болезней печени / А. И. Хазанов. – М. : Медицина, 1988. – 304 с.
13. Гендерные особенности цирроза печени / Е. Н. Божко [и др.] // *Журнал Гродненского гос. мед. ун-та*. – 2013. – № 3. – С. 36-38.

Поступила 03.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Лебедева Е.И. – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет», кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии. E-mail: Lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru – Лебедева Елена Ивановна.

БЕЛАЯ И БУРАЯ ЖИРОВЫЕ ТКАНИ: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СО СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНЬЮ

МЯДЕЛЕЦ О.Д., МЯДЕЛЕЦ В.О., СОБОЛЕВСКАЯ И.С., КИЧИГИНА Т.Н.

УО «Витебский государственный ордена дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

В обзоре литературы приводятся новые литературные, а также собственные данные о функциях белой и бурой жировых тканей, их взаимодействии друг с другом и со скелетной мышечной тканью. В последние несколько лет получены новые научные данные об источниках развития бурой жировой ткани. Показано, что бурая жировая ткань имеется не только у детей грудного возраста, но и у взрослых людей. Установлено, что два вида жировой ткани могут превращаться друг в друга через стадию бежевой жировой ткани. При физической работе и холодом воздействии в скелетных мышцах образуется гормон ирисин. Он способствует превращению белой жировой ткани в бурую (или в бежевую), способствует уменьшению массы тела при ожирении, благотворно влияет на течение сахарного диабета II типа и ряда других болезней, ассоциированных со старением. Он улучшает умственные способности человека, так как стимулирует выработку нейронального нейротрофического фактора BDNF. Этот фактор активирует деление камбиальных клеток в гиппокампе, что ведет к улучшению когнитивных способностей человека.

Ключевые слова: белая и бурая жировые ткани, превращаться, гормон, умственные способности человека, камбиальные клетки, гиппокамп.

Abstract.

In this literature review new literary as well as the authors' own data about the functions of white and brown fatty tissues, and their interaction with each other and with the skeletal muscular tissue are presented. Recently new scientific data concerning the sources of brown fatty tissue development have been received. It has been shown that not only infants but also adults have brown fatty tissue. It has also been determined that two types of fatty tissue can transform into each other through the stage of beige fatty tissue. On physical exertion and cold influence the hormone irisin is formed in the skeletal muscles. It contributes to the conversion of white fatty tissue into the brown (or beige) one, decreases the body mass in case of obesity, favourably influences the course of type 2 diabetes mellitus and a number of other diseases associated with aging. It improves mental abilities of a person, because it stimulates the production of neuronal neurotrophic factor BDNF. This factor activates the division of cambial cells in the hippocamp which leads to the improvement of human cognitive abilities.

Key words: white and brown fatty tissues, to convert, hormone, human mental abilities, cambial cells, hippocamp.

Жировая ткань - разновидность соединительных тканей. Она входит в группу соединительных тканей со специальными свойствами. Различают два вида жировой ткани: белую и бурую (рис. 1). Эти два вида тканей до недавнего времени не привлекали пристального внимания морфологов, поскольку считалось, что строение и функции их изучены достаточно полно.

В последние два десятилетия интерес к жировой ткани существенно возрос. Это свя-

зано с тем, что, во-первых, были уточнены источники развития этих тканей. Ранее считалось, что они образуются из мезенхимы. Однако в последнее время установлено, что из мезенхимы образуется только белая жировая ткань (БелЖТ). Что касается БурЖТ, то согласно данным, полученным в последнее время, в эмбриогенезе она развивается не из мезенхимы, а из мезодермы, из миотома сомитов. Кроме того, стало известно, что миобласты – не единственный источник образования бурой

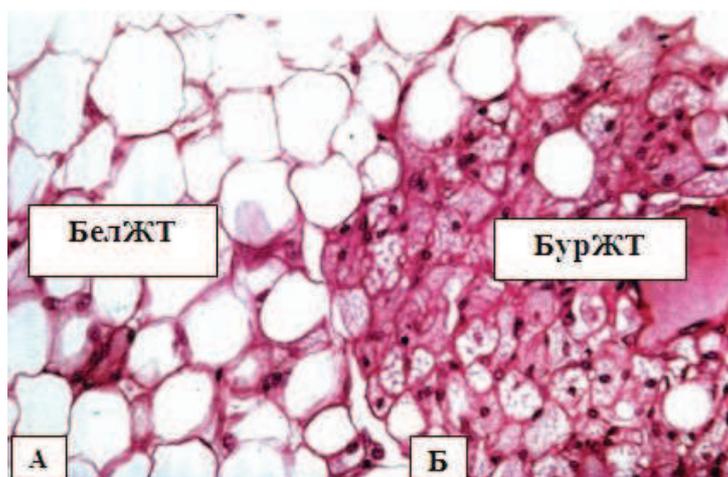


Рисунок 1 – Белая и бурая жировые ткани. Окраска парарозанилин-толуидиновый синий. x100. А – белая жировая ткань. Треугольники указывают на ядра белых адипоцитов, уплощенные и прижатые к плазмолемме клеток. Хотя клетки в основном являются однокапельными, имеются несколько клеток (звездочки) с мелкими липидными каплями в цитоплазме, что указывает на включение в каплю новых порций жира; Б – бурая и белая жировые ткани. Бурые адипоциты содержат центрально расположенные ядра и множественные липидные капельки.

жировой ткани. Оказалось, что под действием гормона ирисина, который вырабатывается скелетной мышечной тканью, в бурую жировую ткань может превращаться белая жировая ткань. Это происходит при постоянных интенсивных физических нагрузках и холодových воздействиях.

До недавнего времени полагали, что БелЖТ представляет собой лишь пассивную ткань для хранения дополнительной энергии в виде жира. Однако в настоящее время существуют неоспоримые доказательства того, что эта ткань выполняет обширные эндокринные функции [1-7]. Гормоны и биологически активные вещества, вырабатываемые адипоцитами, называются адипоцитокинами (адипокинами). К настоящему времени известно около 50 адипоцитокинов, однако эта цифра не окончательная, т.к. количество генов, кодирующих неизвестные до сих пор белки, значительно ее превышают.

Целью настоящей работы является анализ литературы, посвященной взаимодействию белой жировой (БелЖТ) и бурой жировой (БурЖТ) тканей между собой и со скелетной мышечной тканью.

Функции белой жировой ткани:

1. Депонирующая функция. БелЖТ играет роль депо для: 1) питательных веществ в виде липидов (трофическая функция); 2) воды, которая аккумулирована в жире. При распаде жира образуется достаточно большое ее количество;

3) жирорастворимых витаминов А, Д, Е, К, а также каротиноидов; благодаря последним жировая ткань часто имеет желтоватый цвет; 4) стероидных гормонов (эстрогенов, андрогенов).

2. Энергетическая функция. При распаде жира образуется большое количество энергии. Так, при расщеплении 1 г жиров выделяется 9,3 ккал, тогда как 1 г углеводов дает только 4,1 ккал.

3. Терморегуляционная функция заключается как в термоизоляции из-за низкой теплопроводности жира, так и в термопродукции в холодной атмосфере при усилении метаболизма жира. БелЖТ является главным теплоизолятором тела человека, потому что проводит тепло в три раза хуже, чем другие ткани. Степень изоляции зависит от толщины слоя гиподермальной жировой клетчатки.

4. Защитно-механическая, опорная и пластическая функции состоят в механической защите тех органов, которые окружает белая жировая ткань. Эта ткань существенно смягчает механические воздействия на отдельные органы и организм в целом. При резком исхудании может происходить смещение органов, фиксируемых этой тканью (например, почек), что ведет к нарушению их функций. Пластическая функция заключается в том, что БелЖТ замещает ткань некоторых органов при их инволюции. Примерами являются тимус, молочные железы, костный мозг.

5. Косметическая функция и экспрессия гендерных различий: подкожный жир участвует в образовании формы тела, а также в проявлении вторичных половых признаков.

6. Регуляторная функция. Эта функция заключается в продукции биологически активных веществ и гормонов. Для костного мозга эта функция заключается в том, что БелЖТ, являясь одним из компонентов его стромы, формирует микроокружение для развивающихся форменных элементов крови. Она обеспечивает их питательными веществами и ростовыми факторами. Одновременно БелЖТ регулирует поступление форменных элементов в кровоток. Это происходит в результате изменения давления в мелких полостях кости за счет увеличения и уменьшения объема адипоцитов.

6. Эндокринная функция заключается в синтезе совокупности гормонов и аутокоидов, которые объединяются в группу адипоцитокинов (адипокинов).

Существуют два типа адипоцитокинов: специфичные для жировой ткани биологически активные вещества, которые являются истинными адипоцитокинами, и другие, которые интенсивно секретируются жировой тканью, но не являются специфическими для нее [6]. Специфическими для жировой ткани адипоцитокинами являются, например, адипонектин и лептин, не являющимися таковыми - ингибитор-1 активатора плазминогена (ИАП-1) и фактор некроза опухоли- α (ФНО- α). Разные источники адипоцитокинов в БелЖТ. Так, продукция лептина осуществляется в основном адипоцитами, секреция адипонектина – адипоцитами и другими клетками БелЖТ, а продукция ФНО и ИЛ-6 в жировых клетках существенно слабее, чем в нежировых (до 5-10 раз).

Уже известно более 50 адипокинов. Они обладают разнообразными биологическими эффектами и влияют на выраженность процессов во многих органах. Адипоцитокины влияют на метаболизм липидов, гомеостаз глюкозы, процессы воспаления, свертывания крови, иммунитета, ангиогенеза, образования костной ткани, опухолевого роста и др. Они играют определенную роль в патогенезе ожирения и сопутствующих ему заболеваний.

В последнее время установлено, что БелЖТ разной локализации различается своими функциями, в том числе и эндокринны-

ми. Помимо хорошо известных жировых депо имеются и другие области отложения жира, например, параовариальная и параренальная, т.е. окружающие соответственно яичники и почки и, возможно, выполняющие и иные функции, чем БелЖТ другой локализации. Так, маммарный жир, залегающий в области молочной железы, отличается в отдельных квадрантах специфическими свойствами, в том числе эндокринными. В отношении маммарной БелЖТ известно также, что ее адипоциты содержат мало рецепторов к гормонам. Они представляют собой депо эстрогенов, прогестерона и андрогенов. Под влиянием ароматазы андрогены превращаются в эстрогены, причем этот процесс с возрастом усиливается, что является одним из факторов риска развития мастопатии и рака молочной железы.

Заманчиво стремление быстрее использовать уже открытые адипоцитокины для лечения ассоциированных с ожирением болезней. Однако прежде чем говорить о каких-то практических шагах в этом направлении, необходимо иметь более четкое и полное представление о физиологии и патологии эндокринной функции БелЖТ.

7. Гомеостатическая функция БелЖТ. Приведенные выше факты об эндокринных функциях БелЖТ свидетельствуют о гомеостатической функции этой ткани. Она осуществляет регуляцию энергетического, водного, температурного и метаболического гомеостаза. Установлены тесные связи БелЖТ со многими органами организма. Примером большого значения БелЖТ в поддержании гомеостаза организма может служить так называемый «парадокс ожирения». Установлено, что у пациентов, страдающих хроническим гломерулонефритом и другими хроническими заболеваниями почек и получающих процедуры гемодиализа, более сильное развитие подкожной БелЖТ значительно повышает вероятность выживания. Низкое содержание в организме жировых отложений (менее 10%), наоборот, резко (в 2,5-3 раза) повышает вероятность смерти пациентов, страдающих хронической болезнью почек. Таким образом, более высокая масса тела значительно увеличивает вероятность выживаемости. Очевидно, что липосакции, достаточно широко используемые в последнее время при лечении ожирения, существенно нарушают гомеостаз организма и

далеко не так безвредны, как это кажется.

8. Белая жировая ткань как источник стромальных стволовых клеток (СКЖТ). Обнаружено, что в белой жировой ткани человека сконцентрирована популяция CD-34⁺-клеток. Проведенный иммуногистохимический анализ жировой ткани позволил установить, что CD-34⁺-клетки равномерно распределены среди белых адипоцитов [8]. Как известно, антиген дифференцировки CD-34 был впервые выявлен на полипотентных клетках-предшественниках миелопоэза, и его считали маркером этих клеток. Однако в последующем этот антиген обнаружили и на других клетках: эмбриональных фибробластах, эндотелиоцитах, клетках нервной ткани. Установлено, что CD-34⁺-клетки способны дифференцироваться в эндотелиоциты, кардиомиоциты, гладкие миоциты, эпителиоциты, нейроны, клетки нейроглии, клетки костной, хрящевой тканей. В жировой ткани эти клетки играют роль камбия. На этих клетках еще отсутствуют специфические маркеры, характерные для адипоцитов. В настоящее время стромальные стволовые клетки выделены из белой жировой ткани не только человека, но и собаки, кошки, свиньи, кролика, крысы. Все эти клетки хотя и отличаются по маркерам, но обладают способностью дифференцироваться в различные виды клеток. СКЖТ легко выделяются из жировой ткани и, обладая высокой пластичностью, являются весьма перспективными кандидатами для их аутологической трансплантации [8].

9. Участие в посттравматической регенерации кожи. При заживлении кожных ран в них на разных этапах раневого процесса в том или ином количестве обнаруживается БелЖТ. А в первые дни после травмирования кожная рана практически полностью заполнена этой тканью. При формировании травматического воспалительного инфильтрата он локализуется прежде всего в БелЖТ. Эта ткань обнаруживается и в более поздние сроки раневого процесса, во время формирования грануляционной ткани, причем в это время отмечается тесное взаимодействие белых адипоцитов с фибробластами [9]. В свете установленного факта о наличии в БелЖТ большого количества стромальных стволовых клеток понятно, что такое активное участие этой ткани в регенеративной регенерации кожного покрова является не случайным, т.к. она может явиться поставщиком стволо-

вых клеток для раневого процесса. Кроме того, можно предположить, что адипоцитокينات способны регулировать скорость и полноту регенераторного процесса в коже.

10. Участие в дезинтоксикационной функции организма. Вырабатываемый в белой жировой ткани белок, стимулирующий ацетилирование, участвует в дезинтоксикационной функции организма. Ацетилирование как биохимический процесс необходим для обезвреживания и выделения ядовитых или не собственных организму веществ. Этот процесс в организме человека является также важным компонентом метаболизма [5].

Общий план строения БелЖТ. Строение БелЖТ хорошо описано в учебной и научной литературе [9-11]. Белая жировая ткань состоит из отделенных друг от друга прослойками рыхлой соединительной ткани долек, образованных адипоцитами (рис. 2). Размеры жировых долек в БелЖТ гиподермы прямо пропорциональны степени выраженности этой ткани. В соединительнотканых прослойках находятся кровеносные и лимфатические сосуды и нервные волокна, которые проникают вглубь долек. Кроме адипоцитов, в БелЖТ встречаются и другие клетки: преадипоциты, фибробласты, макрофаги, лейкоциты, тучные клетки и др. При ожирении тучные клетки в значительной степени инфильтрируют жировую ткань. В адипоцитах ядро смещено на периферию одной гигантской капли жира. В цитоплазме клеток содержатся умеренно развитые органеллы общего значения.

Бурая жировая ткань (БурЖТ). Бурая жировая ткань играет первостепенную, жизненно важную роль в трех случаях: 1) у новорожденных младенцев; 2) при адаптации к холоду и 3) при пробуждении от спячки. Бурные адипоциты отличаются от белых тем, что содержат много мелких липидных капель (вместо одной большой), располагающихся по всей цитоплазме. Клетки особенно богаты своеобразными митохондриями и обильно снабжены окончаниями симпатических нервов и кровеносными сосудами [9-11].

У новорожденных детей бурая жировая ткань хорошо развита (примерно 5% от массы тела) и находится в области шеи, почек, вдоль верхней части спины, на плечах, а также в других участках.

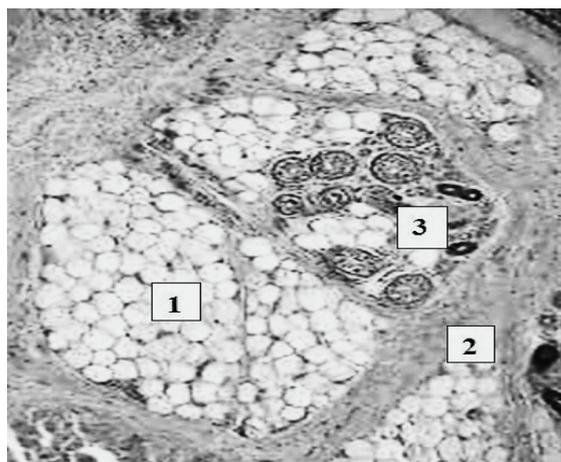


Рисунок 2 – Строение подкожной белой жировой ткани. Окраска гематоксилин-эозином. x100: 1 – долька жировой ткани; 2 – междольковая соединительная ткань; 3 - потовая железа.

Бурая жировая ткань выполняет очень важную функцию – осуществляет несократительный термогенез – теплообразование, не связанное с мышечной активностью, т. е. продукция тепла в результате увеличения скорости обмена веществ и, следовательно, потребления кислорода организмом. Эти функциональные особенности данной ткани определяют ее морфологические особенности [9-11].

Распределение БурЖТ у животных и человека. По собственным данным [12, 13], бурая жировая ткань у белой крысы формирует плотные тела овоидной формы размером от 2-3 см в длину до мелких пластиночек длиной около 5 мм (рис. 3). На основании этих данных предложена следующая классификация топографии бурой жировой ткани.

I. Постоянные образования:

1. Парные межлопаточные тела.
2. Шейные межмышечные тела.
3. Внутригрудные субплевральные пластинки.
4. Легочная субплевральная пластинка

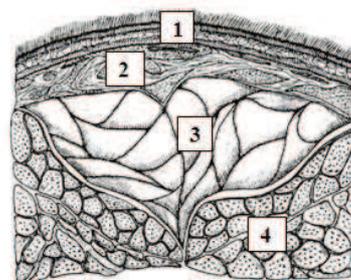
II. Факультативные образования:

5. Пластинчатые тела непостоянной локализации

Тела I типа (межлопаточные) - парные образования треугольной формы. Основанием они сращены с подкожной фасцией, вершиной направлены к позвоночнику, где и соединяются между собой. В место соединения этих тел входит сосудисто-нервный пучок, берущий начало в позвоночном канале. Кровоснабже-



А



Б

Рисунок 3 – Схема расположения межлопаточных тел бурой жировой ткани у белой крысы: А – общий вид; Б – поперечное сечение: 1 – кожа; 2 – гиподерма кожи с БелЖТ; 3 – БурЖТ; 4 – скелетная мышечная ткань.

ние тел обильное. При этом показано, что сосуды, кровоснабжающие БурЖТ, одновременно обеспечивают кровью БелЖТ и скелетную мышечную ткань. Эти три ткани тесно связаны друг с другом топографически. Между латеральными поверхностями тел и поверхностями наружных мышц спины находится постоянная парная слизистая сумка, которая прилежит к жировым телам, не окружая их. Сами тела имеют дольчатое строение.

Шейные межмышечные тела парные, имеют вытянутую в длину форму, напоминающую гороховый стручок, лежат параллельно позвоночнику. Эти тела заключены в слизистую сумку. Ее париетальный листок покрывает мышцы, окружающие тела со всех сторон. Сосудисто-нервный пучок лежит в брыжейковидной складке, которая соединяет задний конец тела с наружным листком сумки.

Указанная складка отличается постоянством локализации. Внутригрудные субплевральные пластинки представляют собой тонкие удлиненные слабо разделенные на дольки тельца. Вдоль грудной аорты лежат три тельца: два по бокам и одно с вентральной стороны.

Непарную и полунепарную вены практически на всем их протяжении «одевают» неразделенные на дольки уплощенные тела. Тела III типа кровоснабжаются ветвями крупных сосудов, с которыми находятся в тесной анатомической связи. Артериальное кровоснабжение тел, окружающих непарную и полунепарную вены, осуществляется ветвями межреберных артерий.

Наиболее постоянными по форме и локализации являются межлопаточные и шейные межмышечные скопления бурой жировой ткани. Эти образования либо граничат со слизистыми сумками, составляя при этом одну из их стенок, либо (второй тип) не спаяны с окружающими их тканями.

У зародыша человека бурая жировая ткань появляется на пятом месяце беременности [14-17]. Бурая жировая ткань в отличие от белой жировой ткани, имеющей практически повсеместное распространение, расположена в организме в виде участков лишь в отдельных областях организма. Название «бурая жировая ткань» возникло не случайно, поскольку островки этой ткани видны невооруженным глазом в виде тел, цвет которых колеблется от светло-кофейного до темно-шоколадного или буровато-красноватого, тогда как белая жировая ткань имеет цвет от белого до желтоватого. Такой цвет БурЖТ объясняется наличием в цитоплазме большого количества митохондрий, содержащих фермент цитохромоксидазу с железом в качестве кофермента, и обильным кровоснабжением. БурЖТ составляет в среднем около 5% массы тела новорожденных, расположена подкожно, между лопатками, в виде небольших отложений вокруг мышц и кровеносных сосудов шеи, в щеках (комочки Биша), а также в большом количестве - в подмышечных впадинах. Более глубокие отложения находятся в переднем средостении, вдоль позвоночника, вокруг почек, надпочечников, аорты. По сравнению с белой жировой тканью, васкуляризация БурЖТ в 4-6 раз выше. Она очень хорошо иннервирована. На бурых адипоцитах находится большое количество адренергических нервных окончаний.

Для новорожденных бурая жировая ткань имеет очень большое значение, так как помогает избежать гипотермии, которая является частой причиной смерти недоношенных новорожденных. Из-за бурой жировой ткани младенцы менее восприимчивы к холоду, чем взрослые.

Если ранее считалось, что у человека БурЖТ со временем практически полностью исчезает, то теперь выяснилось, что она имеется также и у взрослых людей, и расположена там же, где и у новорожденных, но в меньших количествах [7]. В клетках обнаруженной в этих местах жировой ткани было показано наличие мРНК, соответствующей термогенину (разобщающий белок-1). В организме человека бурая жировая ткань часто встречается в сочетании с белой жировой тканью [14]. Выяснилось также, что БурЖТ активна не постоянно, а только при низкой температуре окружающей среды [18]. При повышении этой температуры она перестает активно функционировать. Однако многие вопросы взаимоотношений двух видов жировой ткани остаются неясными. Естественно, в организме взрослых доминирует белая жировая ткань. Количество областей, в которых находятся клетки БурЖТ, меняется от организма к организму. В тех областях, где находятся клетки этой ткани, расположены и клетки БелЖТ.

Факт наличия БурЖТ у взрослых людей был установлен в 2009-2010 годах с помощью методов иммуногистохимии, позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии убедительно доказали наличие этой ткани. По частоте встречаемости в организме одна клетка бурого жира (бурый адипоцит) приходится на 100-200 белых адипоцитов. Кроме того, показано, что мужчины и женщины отличаются друг от друга не только по доле жировой ткани в организме и ее распределению, но и по качественному составу жировых клеток. Оказалось, что количество клеток бурого жира и их насыщенность митохондриями у женщин в 5 раз выше, чем у мужчин, что обуславливает повышенный метаболизм бурой жировой ткани в женском организме [18].

Развитие бурой жировой ткани. У человека образование бурой жировой ткани начинается на 5-м месяце беременности, т.е. несколько позже, чем закладывается БелЖТ. К моменту рождения она составляет приблизительно 5% от массы тела [14].

В настоящее время установлено, что у эмбриона клетки бурого жира развиваются не из мезенхимных клеток, а из миобластов миотомов сомитов. Установлен ген, который переключает развитие этих клеток, определяя их превращение в клетки бурой жировой ткани [18, 19]. Этот ген обозначается аббревиатурой *mif5* и кодирует белок с аналогичным обозначением. Данный белок является главным регулятором образования и скелетной, и бурой жировой ткани. Специфичным для БурЖТ является и наличие гена *UG*, который кодирует белки, контролируемые эмбриональный гистогенез БурЖТ на стадии преадипоцита (до появления экспрессии гена термогенина).

Таким образом, в настоящее время считается, что бурые адипоциты образуются из мезодермальной *mif5*⁺-стволовой клетки, т.е. генетически сходны с миобластами и с их производными - симпластами скелетной мышечной ткани.

Однако установлено, что под влиянием гормона скелетной мышечной ткани ирисина в бурые адипоциты могут превращаться белые жировые клетки через стадию бежевого адипоцита (рис. 4).

Таким образом, развитие БурЖТ отличается от такового у белой жировой ткани. Для БурЖТ существуют две возможности развития: из миотомов сомитов в эмбриональном периоде и из белой жировой ткани в постнатальном онтогенезе. Те же две возможности имеются и у белой жировой ткани, которая, однако, в эмбриогенезе развивается из мезенхимы, а в постнатальном периоде может развиваться за счет превращения в нее бурой жировой ткани. Это происходит при повышении температуры окружающей среды.

Функции бурой жировой ткани. 1. Терморегуляционная функция. БурЖТ активно участвует в несократительном термогенезе. Эта

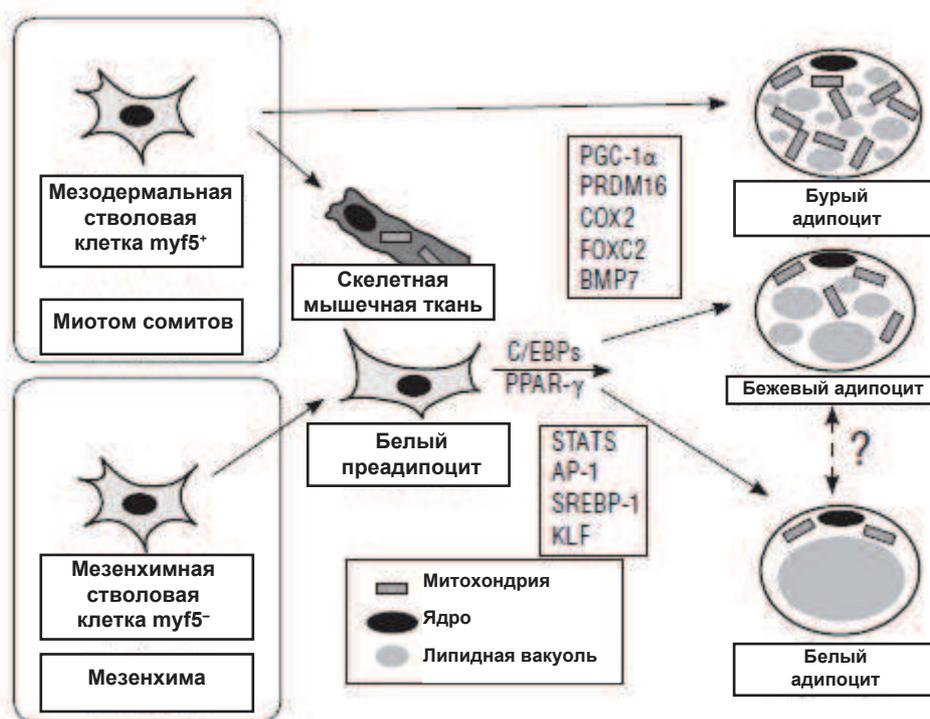


Рисунок 4 – Дифференцировка адипоцитов (по D.Tews, M.Wabitsch). Бурые и белые адипоциты происходят от разных клеток-предшественников. Бурые - от *mif5*-позитивных клеток миотомов сомитов, тогда как белые адипоциты - от периваскулярных клеток, которые, в свою очередь, развиваются из мезенхимы.

В дополнение к этому белые адипоциты могут претерпевать трансдифференцировку в промежуточную между белыми и бурыми форму – так называемые бежевые адипоциты: *Muf5* – миогенный фактор 5; *C/EBP* – энхансер-связывающий белок; *PPAR-γ* – пероксисомальный рецептор активации пролиферации *γ*; *PGC-1α* – *PPAR-γ*-коактиватор 1α; *PRDM16* – белок 16 с доменом типа «цинковый палец»; *COX2* – циклооксигеназа 2; *STAT5* – сигнал трансдукции и активатор транскрипции; *AP-1* – активированный белок 1; *SREBP-1* – регуляторный белок, связывающий стерол; *KLF* – Krippel-подобный фактор; *BMP7* – морфогенетический костный протеин.

функция особенно важна у новорожденных детей, у которых терморегуляция недостаточна. У зимоспящих животных эта ткань обеспечивает выделение тепла, необходимого для жизнеобеспечения при зимней спячке и быстрого подъема температуры тела при пробуждении от нее. По некоторым данным, межлопаточная бурЖТ как наиболее развитая играет роль центрального органа термогенеза, тогда как все остальные ее скопления, широко распространенные по ходу основных сосудистых магистралей и в других регионах, относятся к периферической системе термогенеза. Всего лишь 80-100 г бурых жировых клеток обеспечивают половину максимально необходимой выработки тепла человеческим организмом. бурЖТ оказалась одним из основных потребителей глюкозы в организме наряду с мозгом и мышцами.

2. Депо жира. По этой функции бурЖТ существенно уступает белЖТ. При этом жировые включения подвергаются гораздо более быстрому обороту, чем в белЖТ.

3. В последнее время высказано предположение, что бурЖТ выступает в качестве эндокринной железы, контролирующей лихорадочное состояние. Однако пока не установлен гормон, обеспечивающий эту функцию [14].

4. В ходе недавно проведенного исследования ученые Диабетического Центра Джослина обнаружили, что бурЖТ может повышать толерантность к глюкозе, усиливать чувствительность к инсулину, снижать массу тела и усиливать метаболизм. Поэтому бурЖТ интересна в плане использования ее в качестве средства для лечения ожирения и сахарного диабета [14].

Строение бурЖТ. Функциональная морфология бурых адипоцитов. При обзорном микроскопическом исследовании срезов межлопаточной бурЖТ нами установлено, что она состоит из долек в основном треугольной формы, разделенных тончайшими прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая слабо окрашивается гематоксилином-эозином и пикрофуксином [13]. Вокруг крупных сосудов, входящих в дольку, количество междолевой соединительной ткани несколько большее. Прослойки рыхлой соединительной ткани содержат тонкие ретикулярные волокна и скудное по объему основное вещество.

В прослойках соединительной ткани содержится большое количество гемокapилляров, гораздо большее, чем в белой жировой ткани. В междолевой соединительной ткани встречаются небольшие нервные ганглии, лимфатические узелки, а также симпатические нервные волокна, которые заканчиваются синапсами на бурых адипоцитах. Нервные окончания не только плотно прилегают к адипоциту, но и инвагинируют в него.

У многих млекопитающих и у детей бурЖТ всегда содержит лимфоциты, а также очаги кроветворения, количество которых резко увеличивается при беременности, адаптации к холоду, при патологии и действии других экстремальных факторов. Отмечается тесный контакт лимфоцитов с бурыми адипоцитами. Эти факты, а также то, что в период зимней спячки наблюдается максимальный лейкоцитоз, наводят на мысль о тесной взаимосвязи бурЖТ с иммунной системой [20].

Основой долек бурЖТ являются бурые адипоциты. Практически каждый адипоцит контактирует с кровеносным капилляром, часто с несколькими. Это связано с тем, что у бурЖТ значительно выше потребность в кислороде. Среди бурых адипоцитов в разном количестве обнаруживаются белые адипоциты (рис. 5).

Бурые адипоциты по сравнению с белыми имеют меньшие размеры и многоугольную форму. Ядра в клетках расположены в центре, округлые. В цитоплазме содержатся многочисленные жировые капли, которые в силу небольшой величины занимают относительно небольшой объем цитоплазмы. Жир в бурых адипоцитах, как и в белых жировых клетках, находится в жидкой фазе. В периферических отделах долек наблюдается трансформация бурых адипоцитов в белые и наоборот. В адипоцитах, лежащих возле крупных сосудов, объем жировых капель меньше, чем в адипоцитах другой локализации.

При электронной микроскопии в бурых адипоцитах выявляются умеренно развитые ЭПС и комплекс Гольджи. Многочисленные митохондрии имеют сильно развитые кристы и сосредоточены вокруг липидных капель. Митохондрии бурых адипоцитов крупные (более 0,5 мкм). Кристы сильно сжаты в поперечном направлении. Это ведет к значительно большей, чем в митохондриях белых адипоци-

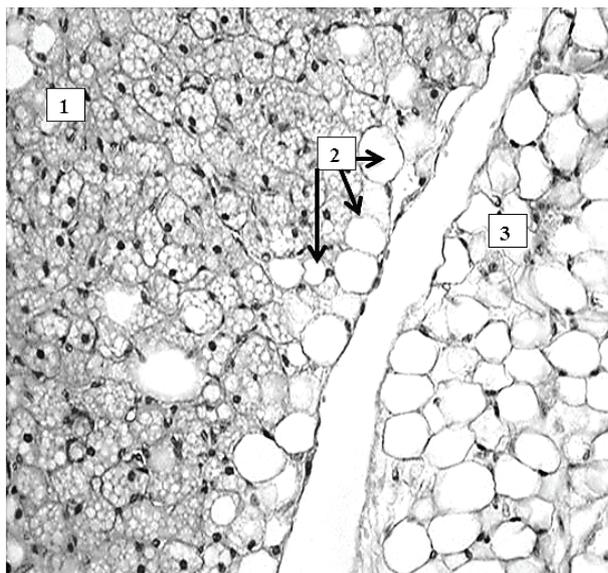


Рисунок 5 – Строение бурой и белой жировых тканей. Обращает на себя внимание тесная структурная связь двух тканей: 1 – бурая жировая ткань; 2 – белые адипоциты в бурой жировой ткани; 3 – белая жировая ткань.

тов, площади внутренней мембраны [14, 20].

На внутренней поверхности крист ограничено количество оксисом (грибовидных частиц), представляющих собой АТФ-синтетазный комплекс. Находящиеся в клетках железосодержащие окислительные ферменты цитохромы придают им бурый цвет. Митохондрии бурых адипоцитов в отличие от митохондрий белых адипоцитов имеют меньшее количество оксисом (грибовидных частиц, содержащих АТФ-синтетазный комплекс), что обеспечивает образование меньшего количества АТФ. Кроме того, в митохондриях, в их внутренней мембране, как уже указывалось ранее, находится трансмембранный белок термогенин, UCP-1 (аббревиатура от англ. uncoupling protein – разобщающий белок), в результате действия которого отменяется сопряжение окислительного фосфорилирования и дыхания, и энергия не аккумулируется в виде АТФ, а рассеивается в виде тепла. Скопления термогенина формируют так называемые элементарные частицы, которые отсутствуют в митохондриях белых адипоцитов. Механизм действия UCP-1 заключается в том, что он создает управляемый протонный канал, через который протоны водорода идут по электрохимическому градиенту в матрикс митохондрии, минуя АТФ-синтазу во внутренней мембра-

не митохондрий. Это приводит к утечке протонов и срыву электрохимического протонного градиента, необходимого для синтеза АТФ в митохондриях. В результате энергия не накапливается в виде АТФ, а рассеивается по организму, согревая его [14]. Если в белой жировой ткани липолиз связан с высвобождением большого количества жирных кислот, то в БурЖТ свободные жирные кислоты утилизируются в самом буром адипоците.

Взаимодействие белой и бурой жировых тканей. В здоровом организме в процессе его постоянной адаптации к различным, в том числе и неблагоприятным, условиям внешней среды существует жесткий механизм обеспечения гомеостаза и в самой жировой ткани. Как оказалось, между двумя разновидностями жировой ткани – белой и бурой – существует паритет. Если раньше считалось, что бурая жировая ткань исчезает по мере взросления организма, то сейчас оказалось, что она имеется и у взрослых, особенно у тех, кто часто подвержен холодному воздействию. При этом установлено, что объем БурЖТ в этом случае пополняется за счет БелЖТ, т.е., между двумя разновидностями жировой ткани существуют тесные структурно-функциональные взаимодействия. Прежде всего, обращает на себя внимание тесная структурная связь этих двух тканей. На рисунке 5 видно, во-первых, что среди бурых адипоцитов на «территории» бурой жировой ткани располагаются в определенном количестве белые адипоциты. Во-вторых, «соседство» двух тканей осуществляется не только на клеточном, но и на тканевом уровне (слева располагается БурЖТ, справа – БелЖТ).

Кроме того, установлено, что помимо белой и бурой жировых тканей имеется промежуточная разновидность жировых тканей – бежевая жировая ткань. Эта ткань является переходной между белой и бурой жировыми тканями. Бежевые адипоциты вначале имеют крайне низкую базальную экспрессию термогенина, но, как и классические бурые адипоциты, реагируют на стимуляцию, опосредованную цАМФ, появлением высокой экспрессии термогенина и превращением в активные бурые адипоциты. Переход белой жировой ткани в бурую через бежевую жировую ткань является доказанным фактом и служит важным механизмом поддержания энергетического и

температурного гомеостаза. Интересны сведения о том, что в висцеральной белой жировой ткани тощих людей на 100 белых адипоцитов приходится один бурый адипоцит. При увеличении массы тела это соотношение изменяется в пользу бурых адипоцитов.

Недавно были проведены интересные эксперименты по изучению влияния на жировую ткань холода. Исследователи из Гарвардской медицинской школы (США) выдерживали несколько типов жировой ткани (белую, бурую и бежевую) при температурах в диапазоне от -27 до +39°C. Белая и бежевая ткани реагировали на охлаждение увеличением в два раза в течение нескольких часов уровня белка-индикатора бурой жировой ткани термогенина. Если же температуру повышали, то уровень термогенина в этих тканях снижался, т.к. необходимость в образовании тепла отпадала. БурЖТ на изменения температуры не реагировала. В этих исследованиях обнаружено также, что способность адипоцитов БелЖТ реагировать на холод не зависела от симпатической нервной системы: при выключении на них рецепторов к нейромедиатору норадреналину и воздействию после этого холодом клетки по-прежнему осуществляли синтез термогенина [18].

Таким образом, адипоциты БелЖТ способны непосредственно улавливать изменения температуры и отвечать на них либо усилением (при охлаждении), либо уменьшением (при согревании) синтеза термогенина, включая или выключая термопродукцию. В первом случае это происходит из-за превращения их в бурые адипоциты. До сих пор считалось, что холод активирует бурую жировую ткань, и количество бурых адипоцитов при этом увеличивается. Но оказалось, что и белая жировая ткань не просто играет роль пассивной термоизоляции, а активно реагирует на холод, причем без участия нервной системы. Ее включение, очевидно, осуществляется гормональным путем.

Взаимодействие БелЖТ и БурЖТ со скелетной мышечной тканью. Недавние интересные исследования позволяют объяснить тесную связь бурой и белой жировой ткани со скелетной мышечной тканью. Было показано, что при физической работе скелетная мышечная ткань секретирует неизвестный ранее гормон ирисин, который превращает белую жировую ткань в бурую, из-за высокой энер-

гетической активности препятствующую ожирению [21, 22].

История открытия ирисина весьма интересная. Хорошо известно, что при физических нагрузках энергетические затраты организма возрастают непропорционально: энергии тратится намного больше, чем необходимо для выполняемой работы. Биологам давно известен также тот факт, что при работе скелетных мышц в них повышается содержание особого белка – фактора транскрипции PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1-alpha (PGC-1 α). Этот белок экспрессируется в бурой жировой ткани, сердце, скелетных мышцах и почках, что свидетельствует о его участии в метаболических процессах перечисленных органов. Группа исследователей из Института рака Дана-Фарбер (США) под руководством Брюса Шпигельмана выделила из скелетной мышечной ткани мышей и человека похожий белок PGC-1 α -4, который способствует росту мышечной ткани и увеличению выносливости после упражнений с отягощениями. Упражнения на выносливость вызывают естественный рост уровня этого белка в тканях. Это, в свою очередь, провоцирует биохимические изменения, приводящие к росту массы и силы мышцы. Повышенное содержание PGC-1 α -4 в организме благоприятно воздействует не только на мышцы, но и на весь организм, препятствуя ожирению и развитию сахарного диабета II типа при старении. Исследования на мышцах показали, что у трансгенных особей со встроенной в организм генетической моделью, приводящей к повышенному уровню PGC-1 α -4, которые в течение трех недель подвергались интенсивной физической нагрузке, уровень термогенина в подкожном белом жире резко (в 25-65 раз) возрастал, и число бурых адипоцитов увеличивалось [21].

Оказалось, что в мышечной ткани вырабатывается белок FNDC5 (Fibronectin type III domain-containing protein 5), который повышает уровень информационной РНК (мРНК) белка термогенина в 70-100 раз при очень малой концентрации (20 нМ). При этом уровень белков, характерных для бурых адипоцитов, резко увеличивался, а количество белков, характеризующих белые адипоциты, наоборот, сокращалось. В результате клетки белой жировой ткани стали потреблять вдвое больше кислорода и почти перестали синтезировать

АТФ, т. е. стали выделять больше свободной энергии, не запасая ее в молекулах АТФ. Этот эффект тогда еще безымянного белка оказался специфическим. Обнаружилось также, что FNDC5 присутствует как в мышечной ткани животных, так и в их головном мозге [21].

Далее в экспериментах на лабораторных крысах, которые ежедневно пробегали расстояние в пять километров, было показано, что FNDC5 принимает участие в процессах запоминания. Поэтому было высказано предположение, что у спортсменов должны активизироваться участки коры больших полушарий, отвечающие за память и обучение. Оказалось, что при физических нагрузках к молекуле ДНК присоединяются метильные группы, не несущие генетической информации, но способные на нее серьезно повлиять, изменяя активность генов. Недавно были выполнены исследования с участием людей. Изучались люди с избыточным весом, которые никогда не занимались спортом. После шести месяцев интенсивных тренировок в генах, связанных с ожирением и сахарным диабетом, произошли положительные изменения. Подобные опыты показывают: даже имея хорошую наследственность, можно изменить ее в худшую сторону неправильным образом жизни. И, наоборот, можно улучшить свои не самые лучшие гены спортом, отказом от курения, правильным питанием.

Группа Брюса Шпигельмана установила следующую последовательность событий в организме при физической работе. Она приводит к повышению в мышцах уровня регуляторной молекулы PGC-1 α -4, которая стимулирует увеличение количества белка FNDC5. Он, в свою очередь, стимулирует синтез нейротрофического фактора BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor - BDNF) в головном мозге, а именно в зубчатой извилине гиппокампа - зоне, участвующей в процессах обучения и памяти. Как известно, в гиппокампе содержатся стволовые клетки, которые на протяжении всей жизни способны митотически делиться. BDNF способствует образованию новых нейронов и синапсов, которые закрепляют новые знания и консолидируют память [23].

Таким образом, по мнению учёных, не только интеллектуальная деятельность способствует тренировке мозга. Имеется прямая взаимосвязь между мозговой и физической активностью. Посильная физическая актив-

ность (бег, езда на велосипеде и т.д.) поможет сохранить ясный ум до глубокой старости. Результаты исследования объясняют, почему физические тренировки помогают улучшить умственное здоровье пожилых людей. Можно надеяться, что после синтеза BDNF и получения его стабильной формы ученые смогут создать препараты для лечения когнитивных (когнитивность - способность к умственному восприятию и переработке внешней информации) нарушений, которые сопутствуют нейродегенеративным заболеваниям, таким, как болезнь Альцгеймера и Паркинсона.

При расщеплении белка FNDC5 образуется секретлируемый мышцами полипептид, состоящий из 112 аминокислот. Этот полипептид был назван ирисином по имени древнегреческой богини Ириды, которая являлась вестницей богов Олимпа (Зевса и Геры). Именно этот гормон является посредником между физическими нагрузками и различными тканями организма, в том числе БелЖТ и БурЖТ (рис. 6). Любопытно, что молекула ирисина весьма консервативна: структура ее у человека и мыши полностью идентична [23, 24].

Ирисин вырабатывается мышечной тканью не только при физической работе, но и при действии на организм холода. Так, при дрожании от холода в течение 10-15 минут вырабатывается такое же количество ирисина, как и при часовой езде на велосипеде со средней интенсивностью. Таким образом, ирисин передает информацию от работающих мышц к жировым тканям. Выдвинуто предположение, что ирисин возник в ходе эволюции как защита от критически низких для организма температур, когда единственным способом согреться была интенсивная мышечная работа. На холоде бурая жировая ткань сжигает до 30% всех запасов калорий. Это показывает, что в сочетании с диетой и физической активностью холодные воздействия могут быть использованы как для борьбы с ожирением, так и для поддержания умственных способностей. Люди, которые находились ежедневно в течение двух часов при умеренно холодных температурах (19°C) на протяжении шести недель, тратили значительно больше калорий, чем те, кто провёл это время в более теплой атмосфере. Таким образом, вырабатываясь в работающих мышцах, ирисин преобразует белую жировую ткань в бурую, в которой жир

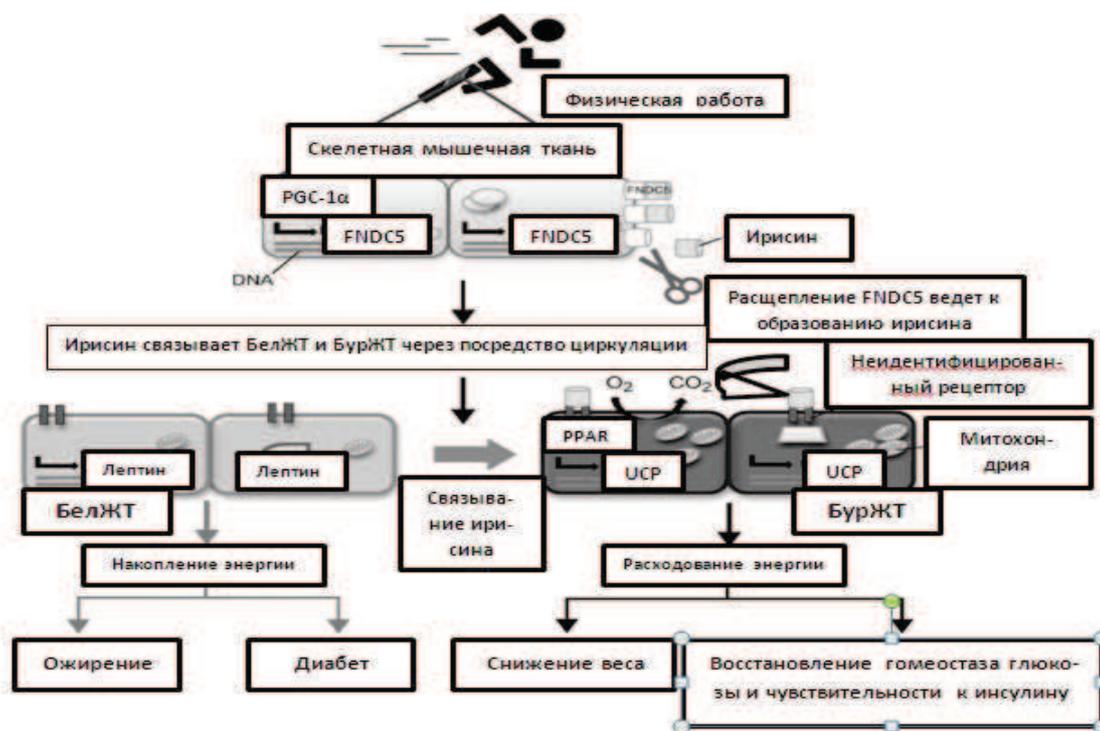


Рисунок 6 – Схема превращения белой жировой ткани под действием ирисина.

быстро расщепляется, используя на нужды терморегуляции.

Исследователи ирисина считают, что он может быть использован для лечения ряда болезней, которые в настоящее время считаются неизлечимыми. Предполагается, что этот гормон поможет при лечении ожирения, сахарного диабета II типа, онкологических заболеваний, гипертонической болезни, рака, а также нейродегенеративных заболеваний, таких, как болезнь Альцгеймера и Паркинсона.

Установлена связь между длиной теломеров хромосом и уровнем гормона ирисина в организме [22]. Теломеры - концевые участки хромосом, защищающие хромосомы от повреждений, но уменьшающиеся при каждом делении клетки. Ученые связывают старение и болезни именно с этим уменьшением и считают, что оно ухудшает качество передачи информации при делении клеток, в результате чего клетки изменяются и повреждаются. Люди с высоким уровнем ирисина имеют более длинные теломеры. Короткие теломеры ассоциированы со многими возрастными заболеваниями, в том числе раком, болезнями сердца и болезнью Альцгеймера. Таким образом, физические нагрузки, повышая уровень ирисина и поддерживая длину теломеров на

хорошем уровне, могут способствовать продлению жизни и улучшению ее качества.

Итак, можно считать установленным, что физические упражнения и холодовые воздействия ведут к образованию в мышцах ирисина, который способствует превращению белой жировой ткани в бурую (или в бежевую), что способствует уменьшению массы тела при ожирении, благотворно влияет на течение сахарного диабета II типа и ряда других болезней, ассоциированных со старением, а также улучшает когнитивные способности человека.

Литература

1. Вербовой, А. Ф. Лептин, резистин и оментин у пациентов с нарушенной толерантностью к глюкозе и сахарным диабетом II типа / А. Ф. Вербовой, Е. С. Соломонова, А. В. Пашенцева // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 3. – С. 52-59.
2. Адипокины: биологические, патофизиологические и метаболические эффекты / О. Н. Ковалева [и др.] // Внутрішня медицина. – 2009. – № 3. – С. 18-26.
3. Берштейн, Л. М. Эндокринная функция жировой ткани, или как Вас теперь называть, мистер Ж? / Л. М. Берштейн // Природа. – 2005. – № 3.

- С. 9-14.
4. Косыгина, А. В. Адипоцитокнины в научной и клинической практике / А. В. Косыгина // Ожирение и метаболизм. – 2011. – № 1. – С. 32-39.
 5. Солнцева, А. В. Эндокринные функции жировой ткани / А. В. Солнцева // Медицинские новости. – 2009. – № 3. – С. 7-11.
 6. Чубриева, С. Ю. Жировая ткань как эндокринный регулятор (обзор литературы) / С. Ю. Чубриева, Н. В. Глухов, А. М. Зайчик // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 11, Медицина. – 2008. – Вып. 1. – С. 32-43.
 7. Kershaw, E. E. Adipose tissue as an endocrine organ / E. E. Kershaw, J. S. Flier // Clin. Endocrinol. Metab. – 2004 Jun. – Vol. 89, N 6. – P. 2548-2556.
 8. Стромальные клетки жировой ткани – пластический тип клеток, обладающих высоким терапевтическим потенциалом / Д. О. Трактуев [и др.] // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 2. – С. 83-94.
 9. Мяделец, О. Д. Морфофункциональная дерматология / О. Д. Мяделец, В. П. Адаскевич. – М. : Медицинская литература, 2006. – 752 с.
 10. Быков, В. Л. Цитология и общая гистология: функциональная морфология клеток и тканей человека / В. Л. Быков. – СПб. : Сотис, 1998. – 510 с.
 11. Руководство по изучению кожного покрова млекопитающих / В. Е. Соколов [и др.]. – М. : Наука, 1988. – 280 с.
 12. Клушенко, Е. П. Топография и васкуляризация бурой жировой ткани белой беспородной крысы / Е. П. Клушенко, О. Д. Мяделец // X съезд Белорусского общества физиологов : тез. док. – Минск, 2001. – С. 72-73.
 13. Мяделец, О. Д. Морфология бурой жировой ткани у лабораторных крыс / О. Д. Мяделец, Е. П. Клушенко // Функциональная нейроморфология. Фундаментальные и прикладные исследования. – Минск, 2001. – С. 334-337.
 14. Медведев, Л. Н. Бурая жировая ткань: молекулярные основы регулируемого термогенеза / Л. Н. Медведев, Е. И. Елсукова. – Красноярск : Амальгама, 2002. – 528 с.
 15. Медведев, Л. Н. Бурая жировая ткань человека / Л. Н. Медведев, Е. И. Елсукова // Успехи физиологических наук. – 2002. – Т. 33, № 2. – С. 17-29.
 16. Медведев, Л. Н. Влияние естественного перекорма молодняка на бурую жировую ткань / Л. Н. Медведев, Е. И. Елсукова // Онтогенез. – 1999. – Т. 30, № 1. – С. 61-63.
 17. Мурашкин, Т. В. Люминесцентная морфология межлопаточной бурой жировой ткани / Т. В. Мурашкин // Экспериментальная и прикладная морфология : межвуз. сб. науч. тр. – Чебоксары, 1988. – С. 80-84.
 18. PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis / P. Boström [et al.]. – Nature. – 2012 Jan. – Vol. 481, N 7382. – P. 463-468.
 19. Ferrer-Martínez, A. Mouse PeP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development / A. Ferrer-Martínez, P. Ruiz-Lozano, K. R. Chien // Dev Dyn. – 2002 Jun. – Vol. 224, N 2. – P. 154-167.
 20. Афанасьев, Ю. И. Бурая жировая ткань / Ю. И. Афанасьев, Е. Д. Колодезникова. – Иркутск : ИГУ, 1995. – 184 с.
 21. Erickson, H. P. Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? / H. P. Erickson // Adipocyte. – 2013 Oct. – Vol. 2, N 4. – P. 289-293.
 22. Irisin Stimulates Browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling / Y. Zhang [et al.] // Diabetes. – 2014 Feb. – Vol. 63, N 2. – P. 514-525.
 23. Exercise Induces Hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 Pathway / C. D. Wrann [et al.] // Cell Metabolism. – 2013 Nov. – Vol. 18, N 5. – P. 649-659.
 24. Frcp1 and Frcp2, two novel fibronectin type III repeat containing genes / A. Teufel [et al.] // Gene. – 2002 Sep. – Vol. 297, N 1/2. – P. 79-83.

Поступила 31.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Мяделец О.Д. – д.м.н, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Мяделец В.О. – к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Соболевская И.С. – к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Кичигина Т.Н. – к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии. E-mail: miadelets@gambler.ru – Мяделец Олег Данилович.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ НАЛИЧИИ ЖЕЛУДОЧНОЙ МЕТАПЛАЗИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА

МАСТЫКОВА Е.К., КОНОРЕВ М.Р., МАТВЕЕНКО М.Е.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель исследования – определить прогностическое значение диагностики желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода в формировании эрозивной формы гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ).

Материал и методы. Проведено проспективное, сравнительное исследование. В исследование было включено 102 пациента с ГЭРБ. Средний возраст составил 55 (40; 63) лет. Мужчин было 63 (61,7%), женщин – 39 (38,3%). Длительность наблюдения составила в среднем 1,7 (1,4; 2,5) лет. Пациентам выполнена видеоэзофагогастродуоденоскопия с прицельной биопсией слизистой оболочки нижней трети пищевода. Анализ частоты появления эрозий проводили с заполнением таблицы 2x2 (для обработки использовался критерий χ^2). Для численной оценки факторов риска развития эрозивного эзофагита (мужской пол, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, желудочная метаплазия) использовалась логистическая регрессия.

Результаты. Изучены прогностически неблагоприятные признаки, достоверно влияющие на появление эрозивной формы ГЭРБ: мужской пол, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы и желудочная метаплазия слизистой оболочки пищевода. Установлены высокие показатели прогностического фактора (наличие желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода) для прогноза появления эрозий у пациентов с ГЭРБ: чувствительность прогноза – 80,7% (95% ДИ: 73,6-94,4%); специфичность прогноза – 84,0% (95% ДИ: 69,8-91,7%); доля правильных прогнозов – 82,4% (95% ДИ: 74,8-89,9%); относительный риск прогнозируемого исхода – 4,3; относительный риск иного исхода - 0,2 (95% ДИ: 0,1-0,39%); отношение шансов – 22,05 (95% ДИ: 7,7-62,6%).

Заключение. Желудочная метаплазия слизистой оболочки пищевода является достоверным фактором риска появления эрозивной формы ГЭРБ без учета дополнительных факторов (мужской пол, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы).

Ключевые слова: пищевод, ГЭРБ, желудочная метаплазия, эрозивный эзофагит.

Abstract.

Objectives. To assess the prognostic value of diagnosing gastric metaplasia of the esophageal mucous membrane in the development of erosive form of the gastroesophageal reflux disease (GERD).

Material and methods. Prospective, comparative study of 102 patients with GERD (the mean age 55 (40; 63) years, 63 men (61,7%) and 39 women (38,3%)) was conducted. The term of monitoring averaged 1,7 (1,4; 2,5) years. All included patients underwent endoscopy for the diagnosis of erosive esophagitis and biopsies were obtained from the esophagus in order to determine the metaplastic changes. Frequency analysis of the development of erosions was conducted filling in the table 2x2 (χ^2 criterion was used for the processing). To estimate the risk factors for the erosive esophagitis development (male gender, hiatus hernia and gastric metaplasia) the logistic regression was used.

Results. Prognostic risk factors reliably influencing the erosive esophagitis development (male gender, hiatus hernia and gastric metaplasia of the esophageal mucous membrane) were studied. High rates of the prognostic factor (the presence of gastric metaplasia) were determined for the prognosis of erosive esophagitis development in patients with GERD: sensitivity – 80,7% (95% CI: 73,6-94,4%); specificity – 84,0% (95% CI: 69,8-91,7%); predictive accuracy – 82,4% (95% CI: 74,8-89,9%); positive relative risk – 4,3, negative relative risk - 0,2 (95% CI: 0,1-0,39%); odds ratio – 22,05 (95% CI: 7,7-62,6%).

Conclusions. Gastric metaplasia of the esophageal mucous membrane is a reliable risk factor for the development of erosive esophagitis disregarding other factors (male gender and hiatus hernia).

Key words: esophagus, GERD, gastric metaplasia, erosive esophagitis.

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) является одним из наиболее распространенных гастроэнтерологических заболеваний. Согласно Монреальскому соглашению (2006 г.) ГЭРБ - это состояние, развивающееся, когда рефлюкс содержимого желудка вызывает появление беспокоящих пациента симптомов и/или развитие осложнений [1].

Частота встречаемости ГЭРБ составляет 10-20% в западных странах, в то время как в странах Азии – около 5% [1-8]. По данным проведенных исследований эрозивная форма ГЭРБ встречается у 19-45% пациентов [1, 9, 10].

Метаплазия слизистой оболочки пищевода является результатом патологической регенерации эпителия пищевода в ответ на повреждение [11]. Наличие метаплазии слизистой оболочки пищевода предполагается эндоскопически (во время проведения эзофагогастродуоденоскопии - ЭГДС), когда имеет место подъем цилиндрического эпителия в пищевод выше зоны кардиоэзофагального перехода (КЭП). Ориентиром КЭП большинство исследователей считают проксимальный край желудочных складок [10].

При гистологическом исследовании метаплазированного эпителия слизистой оболочки пищевода может быть обнаружен эпителий трех типов – кардиальный, фундальный и кишечный тип. Установлено, что у людей, имеющих кишечный тип метаплазии, риск возникновения аденокарциномы пищевода (АКП) в 30-40 раз больше, чем в общей популяции [10, 12].

Однако имеются данные, что наличие в пищеводе эпителия желудочного типа также является патологическим состоянием, которое может быть связано с длительно существующей ГЭРБ [12-15].

Известно, что хроническое воспаление может способствовать развитию рака пищевода. Lassen и соавторы [16] сообщили, что среди пациентов с эрозивным эзофагитом риск развития АКП в 5 раз выше, и большинство аденокарцином возникли на фоне метаплазии слизистой оболочки пищевода (СОП). Кроме того, в некоторых исследованиях отмечается связь степени тяжести эрозивного эзофагита и частоты возникновения АКП [17, 18].

Учеными подчеркивается необходимость изучения клинического значения сосуществования эрозивного эзофагита и метапла-

зии СОП, поскольку метаплазия СОП может оказывать негативное влияние на заживление эрозивного эзофагита при наличии ГЭРБ [19].

Возможно, обнаружение желудочной метаплазии СОП при ЭГДС может служить признаком, предполагающим повышенный риск возникновения эрозивной формы ГЭРБ в дальнейшем, наряду с другими факторами риска (мужской пол, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы – ГПОД, длительный анамнез курения и чрезмерного употребления алкоголя, повышенный индекс массы тела).

Цель исследования заключалась в определении прогностического значения диагностики желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода в формировании эрозивной формы гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ).

Методы

Проведено проспективное, сравнительное исследование. Отбор пациентов проводился рандомизированным методом. Пациенты включались в исследование при отсутствии эрозий пищевода по данным анамнеза, эндоскопического и морфологического методов обследования. Длительность наблюдения составила в среднем 1,7 (1,4; 2,5) лет.

Диагноз ГЭРБ устанавливался согласно рекомендациям Монреальского консенсуса (2006 г.) – легкие симптомы изжоги и/или регургитации, «беспокоящие» пациента 2 и более дня в неделю, а также симптомы средней тяжести и тяжелые, возникающие чаще 1 дня в неделю [1].

Под «изжогой» подразумевалось наличие чувства жжения различной интенсивности, возникающее за грудиной (в нижней трети пищевода) и/или в эпигастральной области [9]. Согласно Монреальскому определению под термином «регургитация» понималось попадание содержимого желудка вследствие рефлюкса в ротовую полость или нижнюю часть глотки [1].

Появление эрозивного эзофагита устанавливалось на основе данных эндоскопического исследования пищевода. ЭГДС выполнялась видеоэзофагогастродуоденоскопом фирмы «Олимпус». Эрозивный рефлюкс-эзофагит определялся при наличии видимых дефектов слизистой оболочки дистального отде-

ла пищевода. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Во время эндоскопического исследования всем пациентам проводилась прицельная биопсия слизистой оболочки нижней трети пищевода.

Полученные биоптаты после проводки материала окрашивали: гематоксилином – эозином, азур-эозином, для выявления главных клеток фундальных желёз; реактивом Шиффа, для выявления слизеобразующих клеток; альциановым синим при рН 2,5 выявляли сиаломуцины и при рН 1,0 – сульфомуцины для дифференцировки полной и неполной (с явлениями дисплазии) кишечной метаплазии. Неинформативные биоптаты не учитывались. Также в исследование не включались пациенты, имеющие кишечную метаплазию.

В исследование было включено 102 пациента. Медиана возраста пациентов составила 55 (40; 63) лет. Мужчин было 63 (61,7%), женщин – 39 (38,3%).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statistica 6.0. Данные, имеющие распределение, отличное от нормального, представляли в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (P25 и P75).

Для численной оценки факторов риска развития эрозивного эзофагита (мужской пол, ГПОД, желудочная метаплазия) нами была применена логистическая регрессия (выполнена с помощью программы Med Calc Statistics 10.2.00). Перечисленные факторы являются бинарными, принимающими значение 1, если фактор присутствует и 0, если фактор отсутствует. В качестве зависимой переменной был определен также бинарный признак – 1 - появление эрозий СОП и 0 – отсутствие эрозий.

Качество построенных моделей проверяли с помощью ROC-анализа, интерпретируя показатель площади под кривой (AUC). Также анализ частоты появления эрозивной формы ГЭРБ проводили с заполнением всех четырех полей (a, b,c,d) таблицы 2x2 (табл. 1).

Для обработки таблицы размерности 2x2 использовался критерий χ^2 . Для относительных частот определялся 95% доверительный интервал.

При оценке прогноза появления эрозивной формы ГЭРБ учитывались следующие характеристики прогностического фактора: чувствительность, специфичность, доля правильных прогнозов, абсолютный риск прогнозируемого исхода в опытной и контрольной группе, изменение абсолютного риска, относительный риск прогнозируемого исхода в группе фактор-положительных пациентов, изменение относительного риска и относительный риск иного исхода в группе фактор-положительных пациентов, коэффициент асимметрии (отношение шансов).

Результаты и обсуждение

При ЭГДС через 1,7 (1,4; 2,5) лет наблюдения эрозивный эзофагит был выявлен у 50 человек (49,1%, 95% ДИ: 39,2-58,5%) из 102 пациентов с ГЭРБ. Желудочная метаплазия была диагностирована у 50 пациентов (49,1%, 95% ДИ: 39,2-58,5%), у остальных 52 пациентов (50,9%, 95% ДИ: 41,2-60,7%) морфологическое исследование не выявило наличия метаплазии СОП.

Среди пациентов с эрозивной формой ГЭРБ было 39 мужчин (75%, 95% ДИ: 63,1-86,8%), а среди пациентов с ГЭРБ без эрозивного эзофагита – 24 мужчины (48%, 95% ДИ:

Таблица 1 – Стандартная таблица для определения операционных характеристик прогностического фактора

Исход заболевания	Прогноз (на основании значения некоторого фактора)		Всего
	неблагоприятный	благоприятный	
Неблагоприятный	a	c	a+c
Благоприятный	b	d	b+d
Всего	a+b	c+d	a+b+c+d

Примечание: a – число истинно положительных прогнозов (ИП); b - число ложноположительных прогнозов (ЛП); c – число ложноотрицательных прогнозов (ЛО); d – число истинно отрицательных прогнозов (ИО).

34,1-61,9%). Кроме того у пациентов с эрозивным эзофагитом ГПОД была выявлена у 27 человек (51,9%, 95% ДИ: 38,2-65,6%), а у пациентов без эрозивного эзофагита ГПОД встречалась у 8 человек (16,0%, 95% ДИ: 5,7-26,2%).

На первом этапе регрессионного анализа прогнозирования развития эрозивной формы ГЭРБ использовали мужской пол в качестве единственной независимой переменной. В целом данная модель имеет среднее качество по экспертной шкале ($AUC = 0,65$), невысокие показатели чувствительности (76,9%) и специфичности (54%). ROC-кривая прогнозирования для данной модели представлена на рисунке 1.

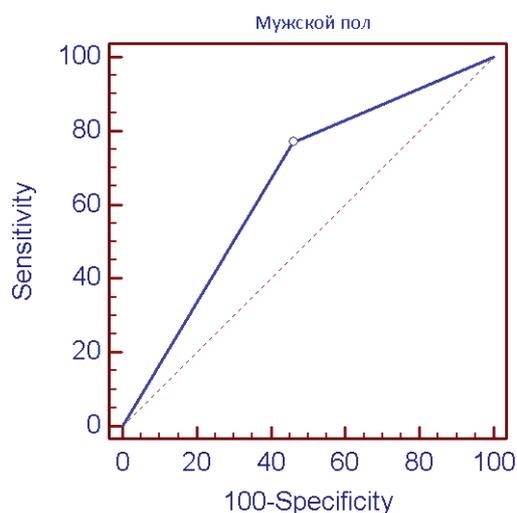


Рисунок 1 – ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита на основании принадлежности к мужскому полу.

На следующем этапе анализа в модель была включена ГПОД. Данная модель имеет хорошее качество по экспертной шкале ($AUC=0,74$), а также более высокий показатель чувствительности (87,7%) по сравнению с предыдущей моделью, но обладает меньшей специфичностью (36,8%). ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита на основании принадлежности к мужскому полу и наличия ГПОД представлена на рисунке 2.

На третьем этапе регрессионного анализа в модель была включена желудочная метаплазия СОП. Данная модель демонстрирует очень хорошее качество по экспертной шкале ($AUC=0,89$), что свидетельствует о положи-

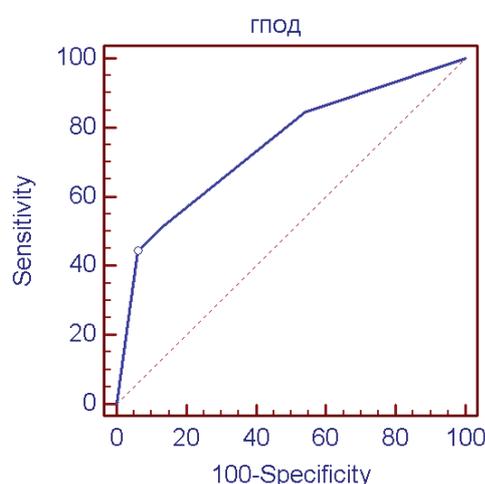


Рисунок 2 – ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита на основании принадлежности к мужскому полу и наличия грыжи пищеводного отверстия диафрагмы.

Таблица 2 – Определение операционных характеристик прогностического фактора (желудочная метаплазия) для прогноза развития эрозивной формы ГЭРБ (n=102)

Появление эрозий	Прогноз (диагностика желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода)		Всего
	неблагоприятный (ЖМ+)	Благоприятный (ЖМ-)	
Эрозии СОП имеются	42 ИП	10 ЛО	52
Эрозии СОП отсутствуют	ЛП 8	ИО 42	50
Всего	50	52	102

Примечание: ЖМ+ – наличие желудочной метаплазии; ЖМ- – отсутствие желудочной метаплазии; ИП – число истинно положительных прогнозов; ЛП – число ложноположительных прогнозов; ЛО – число ложноотрицательных прогнозов; ИО – число истинно отрицательных прогнозов.

тельном влиянии переменной «желудочная метаплазия». Также модель имеет более высокий показатель чувствительности (90,4%) и специфичности (82,0%) по сравнению с предыдущими моделями. ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита на основании принадлежности к мужскому полу, наличия ГПОД и желудочной метаплазии представлена на рисунке 3.

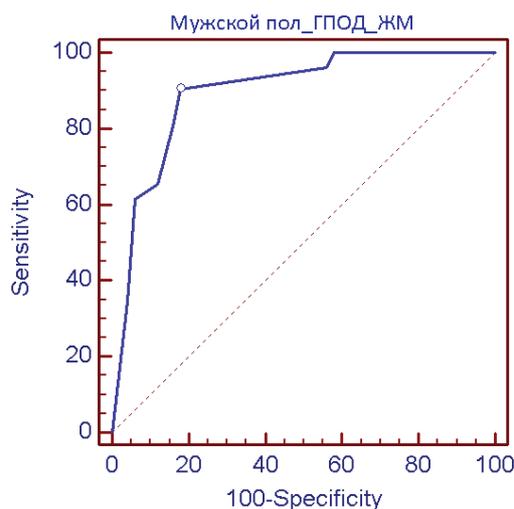


Рисунок 3 – ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита на основании принадлежности к мужскому полу, наличия грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и желудочной метаплазии.

При рассмотрении желудочной метаплазии в качестве неблагоприятного прогностического фактора для прогноза появления эрозивной формы ГЭРБ за 1,7 (1,4; 2,5) лет наблюдения, оказалось, что число истинно положительных прогнозов (ИП) составило 42 случая, ложноположительных прогнозов (ЛП) - 8, ложноотрицательных прогнозов (ЛО) - 10, истинно отрицательных прогнозов (ИО) – 42

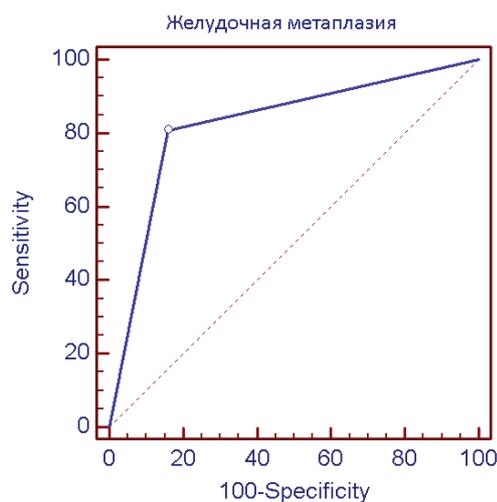


Рисунок 4 – ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита по результатам одновариантной (желудочная метаплазия) логистической регрессии.

Таблица 3 – Основные характеристики прогностического фактора (желудочная метаплазия) для прогноза развития эрозивной формы ГЭРБ (n=102)

Характеристики прогностического фактора	ЖМ СОП	95% ДИ
Чувствительность	80,7%	73,6-94,4%
Специфичность	84,0%	69,8-91,7%
Доля правильных прогнозов	82,4%	74,8-89,9%
Абсолютный риск прогнозируемого исхода в группе фактор-положительных пациентов	84%	74,0-94,0%
Абсолютный риск прогнозируемого исхода в группе фактор-отрицательных пациентов	19,2%	8,1-30,3%
Повышенный абсолютный риск прогнозируемого исхода в группе фактор-положительных пациентов	64,7%	54,9-74,5%
Относительный риск прогнозируемого исхода в группе фактор-положительных пациентов	4,3	2,7-6,5
Относительный риск иного исхода в группе фактор-положительных пациентов	0,2	0,19-0,38
Отношение шансов	22,05	7,7-62,6

Примечание: ЖМ – желудочная метаплазия, СОП – слизистая оболочка пищевода, ДИ – доверительный интервал.

случая. Результаты анализа прогностического фактора (наличие желудочной метаплазии) для прогноза появления эрозивной формы ГЭРБ (n=102) представлены в таблице 3.

Как видно из представленной таблицы, желудочная метаплазия СОП достоверно влияла на прогноз появления эрозивной формы ГЭРБ.

Повышенный относительный риск появления эрозивной формы ГЭРБ при наличии желудочной метаплазии СОП оказался равным 3,3.

Нами была построена модель, которая включала только желудочную метаплазию как единственную независимую переменную. Модель, включающая один фактор (желудочную метаплазию СОП), демонстрирует очень хорошее качество по экспертной шкале (AUC = 0,82), как и при включении трех факторов (мужской пол, ГПОД, желудочная метаплазия). ROC-кривая прогнозирования развития эрозивного эзофагита по результатам одновариантной (желудочная метаплазия) логистической регрессии представлена на рисунке 4.

Также данная модель характеризуется хорошими показателями чувствительности (80,7%) и специфичности (84%), что позволяет использовать желудочную метаплазию СОП в качестве достоверного фактора риска появления эрозивной формы ГЭРБ без учета дополнительных факторов (мужской пол, ГПОД).

Заключение

1. Желудочная метаплазия слизистой оболочки пищевода как прогностический фактор развития эрозивной формы ГЭРБ обладает высокими показателями эффективности (чувствительность – 80,7%, специфичность – 84%, доля правильных прогнозов – 82,4%, отношение шансов – 22,05).

2. В исследовании установлен повышенный абсолютный риск (84%; 95% ДИ: 74,0-94,0%) и повышенный относительный риск (4,3; 95% ДИ: 2,7-6,5) развития эрозивной формы ГЭРБ у пациентов, имеющих желудочную метаплазию СОП

3. Желудочная метаплазия слизистой оболочки пищевода может рассматриваться в качестве достоверного фактора риска появления эрозивной формы гастроэзофагеальной рефлюксной болезни без учета дополнитель-

ных факторов (мужской пол, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы).

Литература

1. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus / N. Vakil [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2006 Aug. – Vol. 101, N 8. – P. 1900-1920.
2. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review / J. Dent [et al.] // *Gut.* – 2005 May. – Vol. 54, N 5. – P. 710-717.
3. Результаты многоцентрового исследования «Эпидемиология гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в России» (МЭГРЕ) / Л. Б. Лазебник [и др.] // *Терапевтический архив.* – 2011. – Т. 83, № 1. – С. 45-50.
4. Prevalence, risk factors and impact of gastroesophageal reflux disease symptoms: a population based study in South China / M. Chen [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2005 Jul. – Vol. 40, N 7. – P. 759-767.
5. A population-based survey of the epidemiology of symptom-defined gastroesophageal reflux disease: the Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China / H. Jia [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2010 Aug. – Vol. 10. – P. 94.
6. Jung, H-K. Epidemiology of Gastroesophageal Reflux Disease in Asia: A Systematic Review / H-K. Jung / *J. Neurogastroenterol. Motil.* – 2011 Jan. – Vol. 17, N 1. – P. 14-27.
7. Prevalence, clinical spectrum and health care utilization of gastro-esophageal reflux disease in a Chinese population: a population-based study / W. M. Wong [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2003 Sep. – Vol. 18, N 6. – P. 595-604.
8. Prevalence of gastroesophageal reflux symptoms in a large unselected general population in Japan / H. Yamagishi [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2008 Mar. – Vol. 14, N 9. – P. 1358-1364.
9. Ивашкин, В. Т. Гастроэнтерология. Национальное руководство / В. Т. Ивашкин, Т. Л. Лапина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 704 с.
10. American Gastroenterological Association technical review in the management of Barrett's esophagus / S. J. Spechler [et al.] // *Gastroenterology.* – 2011 Mar. – Vol. 140, N 3. – P. 18-52.
11. Barrett, N. R. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis' / N. R. Barrett // *Br. J. Surg.* – 1950 Oct. – Vol. 38, N 150. – P. 175-182.
12. Prateek Sharma, M. D. Barrett's Esophagus / M. D. Prateek Sharma // *New England Journal of Medicine.* – 2009 Dec. – Vol. 361. – P. 2548-2556.
13. Chandrasoma, P. Pathophysiology of Barrett's

- esophagus / P. Chandrasoma // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1997 Jul. – Vol. 9, N 3. – P. 270-278.
14. History, molecular mechanisms, and endoscopic treatment of Barrett's Esophagus / S. J. Spechler [et al.] // Gastroenterology. – 2010 Mar. – Vol. 138, N 3. – P. 854-869.
 15. Cardiac rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma / K. Takubo [et al.] // Hum. Pathol. – 2009 Jan. – Vol. 40, N 1. – P. 65-74.
 16. Lassen, A. Esophagitis: incidence and risk of esophageal adenocarcinoma—a population-based cohort study / A. Lassen, J. Hallas, O. B. Muckadell // Am. J. Gastroenterol. – 2006 Jun. – Vol. 101, N 6. – P. 1193-1199.
 17. Wu, A. H. Hiatal hernia, reflux symptoms, body size, and risk of esophageal and gastric adenocarcinoma / A. H. Wu, C. C. Tseng, L. Bernstein // Cancer. – 2003 Sep. – Vol. 98, N 5. – P. 940-948.
 18. Risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in patients with gastroesophageal reflux diseases and after antireflux surgery / W. Ye [et al.] // Gastroenterology. – 2001 Dec. – Vol. 121, N 6. – P. 1286-1293.
 19. Sharma, P. Gastro-oesophageal reflux disease: symptoms, erosions, and Barrett's—what is the interplay? / P. Sharma // Gut. – 2005 Jun. – Vol. 54, N 6. – P. 739-740.

*Поступила 31.09.2014 г.
Принята в печать 05.12.2014 г.*

Сведения об авторах:

Мастыкова Е.К. – ассистент кафедры общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Конорев М.Р. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Матвеевко М.Е. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: shelest@tut.by – Мастыкова Евгения Константиновна.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

КЛИНИЧЕСКИЕ, ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭРАДИКАЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* У ПАЦИЕНТОВ, ДЛИТЕЛЬНО ИСПОЛЬЗУЮЩИХ НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

ДИКАРЕВА Е.А., МАТВЕЕНКО М.Е., ПИМАНОВ С.И., МАКАРЕНКО Е.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель исследования. Провести проспективную оценку клинических, эндоскопических, морфологических эффектов эрадикации *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) у пациентов, которые длительное время принимают нестероидные противовоспалительные средства (НПВС).

Материал и методы. В исследование было включено 116 пациентов с хеликобактерной инфекцией. Методом рандомизации сформировано 2 группы: первой группе (57 человек) проводили эрадикацию *H. pylori*, а второй группе (59 обследованных) её не выполняли. Эффекты антихеликобактерной терапии оценивали через 4-7 лет после проведенного лечения у 29 пациентов с успешной эрадикацией *H. pylori* и 24 человек с персистирующей хеликобактерной инфекцией.

Результаты. Через 4-7 лет при постоянном приёме НПВС успешная эрадикация *H. pylori* способствовала уменьшению боли в эпигастральной области ($\chi^2=7,20$; $p=0,007$) и изжоги ($\chi^2=3,95$; $p=0,047$), а персистирование инфекции *H. pylori* повышало вероятность дискомфорта в эпигастральной области ($\chi^2=10,55$; $p=0,012$) и боли ($\chi^2=5,34$; $p=0,21$). Не было выявлено статистически значимых различий по частоте встречаемости эрозивно-язвенных повреждений гастродуоденальной слизистой оболочки (СО) до начала лечения ($\chi^2=0,01$; $p=0,920$) и через 4-7 лет ($\chi^2=0,02$; $p=0,878$) между группой пациентов с успешной эрадикацией *H. pylori* и группой, где она не проводилась. На фоне постоянного использования НПВС через 4-7 лет после успешной эрадикации *H. pylori* имелась положительная динамика морфологических показателей СО желудка, а сохранение хеликобактерной инфекции приводило к усилению воспаления и активности СО тела желудка и нарастанию атрофии СО в антральном отделе и теле желудка ($p<0,05$).

Заключение. Успешная эрадикация хеликобактерной инфекции у пациентов, принимавших до эрадикационной терапии НПВС и постоянно получавших НПВС в дальнейшем, способствовала улучшению клинической симптоматики и оказывала положительную динамику на морфологические показатели СО желудка, но не влияла на частоту эрозивно-язвенных повреждений гастродуоденальной зоны.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, *Helicobacter pylori*, эрадикация.

Abstract.

Objectives. To conduct a prospective evaluation of clinical, endoscopic, morphological effects of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication in patients who had been taking nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for a long time.

Material and methods. The study included 116 patients with *H. pylori* infection. Two groups were randomly formed: in the first group (57 persons) *H. pylori* eradication was performed, and in the second group (59 examined patients) it was not conducted. The effects of anti-*H. pylori* therapy were assessed in 4-7 years after the treatment in 29 patients with successful *H. pylori* eradication, and in 24 people with persistent *H. pylori* infection.

Results. Successful *H. pylori* eradication after 4-7 years with constant intake of NSAIDs contributed to the reduction of pain in the epigastric region ($\chi^2=7,20$; $p=0,007$) and heartburn ($\chi^2=3,95$; $p=0,047$). The persistence of *H. pylori* infection after 4-7 years with constant intake of NSAIDs increased the likelihood of discomfort in the epigastric region ($\chi^2=10,55$; $p=0,012$) and pain ($\chi^2=5,34$; $p=0,21$). There were no statistically significant differences in the frequency of occurrence of erosive and ulcerative lesions of the gastroduodenal mucous membrane (MM) prior to treatment ($\chi^2=0,01$; $p=0,920$) and in 4-7 years ($\chi^2=0,02$; $p=0,878$) after it between the group of patients

with successful *H. pylori* eradication and the group, where it was not performed. With the constant use of NSAIDs in 4-7 years after successful *H. pylori* eradication there was a positive dynamics of morphological indicators of gastric MM, and the preservation of *H. pylori* infection led to the increased MM inflammation of the stomach body and intensification of MM atrophy in the antrum and the corpus of the stomach ($p < 0,05$).

Conclusion. Successful eradication of *H. pylori* infection in patients treated with NSAIDs prior to eradication therapy and constantly receiving NSAIDs thereafter, contributed to the improvement of clinical symptoms and positively influenced the morphological parameters dynamics of gastric MM, but did not affect the frequency of erosive and ulcerative lesions of the gastroduodenal zone.

Key words: nonsteroid anti-inflammatory drugs, *Helicobacter pylori*, eradication.

В настоящее время основными причинами возникновения эрозивно-язвенных поражений гастродуоденальной слизистой оболочки (СО) считаются воздействие *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) и прием нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) или ацетилсалициловой кислоты (АСК) [1].

Эрадикация микроорганизма при *H. pylori*-ассоциированных язвах без приема НПВС резко снижает частоту эрозий и язв желудка и двенадцатиперстной кишки, а также благоприятно влияет на морфологические характеристики СО желудка, характеризующие гастрит: уменьшается активность, воспаление и атрофия [2].

Профилактика гастропатии, вызываемой приемом НПВС (НПВС-гастропатии), осуществляется преимущественно дополнительным назначением ингибиторов протонной помпы (ИПП), которые в несколько раз уменьшают кислотопродукцию желудка [3, 4].

Взаимодействие между двумя основными факторами ulcerогенеза оценивается неоднозначно. Существует ряд исследований, которые показывают, что взаимодействие между хеликобактерной инфекцией и НПВС в развитии эрозий и язв желудка и двенадцатиперстной кишки может быть независимым, синергетическим либо антагонистическим [5]. Особую актуальность для клинической практики имеет ответ на вопрос: насколько необходима эрадикация *H. pylori* при длительном приеме НПВС? На сегодняшний день официальная позиция гастроэнтерологов и ревматологов, закрепленная в ряде консенсусов, такова: эрадикация *H. pylori* необходима перед началом длительного приема НПВС или АСК [4]. В то же время алгоритм ведения таких пациентов в соответствии с консенсусом американских кардиологов и гастроэнтерологов предусматривает эрадикационную терапию

при наличии инфекции *H. pylori* без учета начала или продолжения лечения АСК [3]. Остаются неясными результаты эрадикационной терапии на целевые точки (клинические проявления, эрозивно-язвенные поражения гастродуоденальной СО, морфологические характеристики СО желудка) у пациентов, длительно принимающих НПВС.

Цель исследования – изучить влияние эрадикации *H. pylori* на частоту развития НПВС-гастропатии, выраженность её клинических и эндоскопических проявлений, а также динамику морфологических показателей СО желудка у пациентов с ревматоидным артритом (РА), длительно принимающих НПВС, через 4-7 лет после проведения антихеликобактерной терапии.

Методы

В проспективное исследование было включено 116 пациентов (94 женщины и 22 мужчины), соответствующих следующим критериям включения: возраст старше 18 лет; диагноз РА, установленный в соответствии с классификационными критериями Американской коллегии ревматологов для РА (1987 г.) [6]; наличие хеликобактерной инфекции; отсутствие предварительной эрадикационной терапии и приёма антибиотиков и/или висмут-содержащих лекарственных средств в течение последнего месяца, а также антисекреторных средств в течение двух недель до исследования; постоянный прием одного НПВС в стандартной дозе; подписанное информированное согласие. Исследование было одобрено местным этическим комитетом.

Средний возраст ($M \pm \sigma$) обследованных составил $51,22 \pm 9,71$ лет. Все обследованные в течение длительного времени ($M \pm \sigma$) $77,98 \pm 56,95$ мес. принимали нимесулид, дикло-

фенак, мелоксикам или индометацин в стандартной дозе.

Всем пациентам выполняли фиброэзофагогастродуоденоскопию (ФЭГДС) с гастробиопсией. Для морфологического исследования получали два биоптата из антрального отдела желудка по малой и большой кривизне и два – из середины тела желудка по передней и задней стенке. Окраска препаратов осуществлялась гематоксилин-эозином, по Гимзе, ШИК-реактивом и альциановым синим (рН=1,0 и рН=2,5). Описание гистологических препаратов проводилось в соответствии с Хьюстонской модификацией Сиднейской системы.

Наличие инфекции *H. pylori* констатировали при положительном результате быстрого уреазного теста и/или морфологического исследования. Быстрый уреазный тест осуществлялся с использованием тест-наборов УП «Семпер» (Республика Беларусь).

Методом рандомизации сформированы следующие группы пациентов: группа, получавшая эрадикационную терапию, и группа сравнения, где эрадикация *H. pylori* не осуществлялась. Все пациенты до включения в исследование принимали НПВС и постоянно получали эти лекарственные средства в дальнейшем.

Эрадикационная терапия проведена 57 пациентам: 40 человек получали лечение в соответствии с протоколом ОКА (20 мг омепразола, 500 мг кларитромицина и 1000 мг амоксициллина, каждый из лекарственных средств 2 раза в сутки в течение 7 дней) и 17 обследованных проходили однедельную эрадикационную терапию по протоколу ЛКО (30 мг лансопразола, 500 мг кларитромицина и 500 мг орнидазола 2 раза в сутки).

Пациентам группы сравнения (59 человек) эрадикацию *H. pylori* не проводили. Они получали ингибитор протонной помпы – омепразол 20 мг в сутки. Пациенты группы сравнения и те, кто получал эрадикационную терапию, не отличались по возрасту ($p=0,55$), длительности течения РА ($p=0,34$) и продолжительности приёма НПВС ($p=0,15$).

Результаты эрадикации *H. pylori* учитывали не ранее, чем через 8 недель после проведенного лечения с соблюдением следующих условий: отсутствие приема антисекреторной или какой-либо антибактериальной терапии в течение 2 недель при повторной ФЭГДС с прицельной гастробиопсией. Констатация

успешной эрадикации осуществлялась при отрицательном результате быстрого уреазного теста и/или морфологического исследования, свидетельствующего об отсутствии микроорганизма во всех полях зрения.

Частоту развития НПВС-гастропатии, выраженность её клинических проявлений и динамику морфологических показателей СО желудка оценивали через 4-7 лет после проведенного лечения, в среднем через ($M\pm\sigma$) $5,72\pm 0,57$ лет. Для анализа отдаленных результатов эрадикации были приглашены пациенты с успешным лечением (откликнулось 29 человек) и участники исследования, которым такая терапия не проводилась (приняло участие 24 человека). При этом осуществлялся опрос пациентов, анализ медицинской документации за 4-7 лет, ФЭГДС и морфологическое исследование биоптатов СО из антрального отдела и тела желудка. В данной статье проанализированы показатели двух вышеуказанных групп пациентов – с успешной эрадикацией (29 человек, I группа) и не проходившие эрадикацию *H. pylori* (24 человека, II группа).

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи STATISTICA 6.0. Оценка соответствия нормальному распределению осуществлялась при помощи теста Шапиро-Уилка. Сравнение показателей возраста, длительности заболевания РА, продолжительности приема НПВС выполняли методом непараметрической статистики с использованием теста Манна-Уитни. Сравнение частоты возникновения симптомов диспепсии, боли в эпигастральной области и эрозивно-язвенных повреждений СО желудка и двенадцатиперстной кишки у пациентов с наличием и отсутствием хеликобактерной инфекции осуществляли по критерию χ^2 Пирсона-Фишера. Сравнение морфологических показателей СО желудка (активность, воспаление, атрофия, кишечная метаплазия, количество лимфоидных фолликулов и *H. pylori*) осуществлялось методами непараметрической статистики с использованием теста Уилкоксона в зависимых группах и теста Манна-Уитни в независимых группах. Отличия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

В I группе пациентов, прошедших успешную эрадикацию *H. pylori*, до ее проведения

боль в эпигастральной области выявлялась у 17 из 29 пациентов (58,62%), после лечения – у 6 из 29 человек (20,69%). До проведения эрадикационной терапии жалобы на изжогу предъявляли 13 пациентов (44,83%), а после лечения – 5 человек (17,24%). Таким образом, успешная эрадикации *H. pylori* способствовала уменьшению боли в эпигастральной области ($\chi^2=7,20$; $p=0,007$) и изжоги ($\chi^2=3,95$; $p=0,047$).

При первом опросе пациентов II группы боль в эпигастральной области беспокоила 7 из 24 человек (29,17%), а спустя 4-7 лет – 16 обследованных (66,67%). Жалобы на дискомфорт в эпигастральной области исходно предъявлял 1 обследованный (4,17%), а через 5-7 лет – 12 участников исследования (50,0%). Персистенция инфекции *H. pylori* в СО желудка статистически значимо повышало вероятность дискомфорта в эпигастральной области ($\chi^2=10,55$; $p=0,012$) и боли ($\chi^2=5,34$; $p=0,21$).

До проведения эрадикационной терапии эрозивно-язвенные изменения гастродуоденальной области были обнаружены у 8 из 29 пациентов (27,59%) I группы. Эрозии желудка были обнаружены у 4 человек, эрозии двенадцатиперстной кишки – у 2, язва двенадцатиперстной кишки – у 1, одновременно эрозии желудка и двенадцатиперстной кишки – у 1 обследованного.

При исходной ФЭГДС эрозии и/или язвы гастродуоденальной области были обнаружены у 6 из 24 человек (25,0%) II группы. Эрозии желудка были выявлены у 4 пациентов, эрозии двенадцатиперстной кишки – у 1, язва двенадцатиперстной кишки – у 1 участника исследования. До начала лечения не было выявлено статистически значимых различий по частоте встречаемости эрозивно-язвенных повреждений гастродуоденальной СО ($\chi^2=0,01$; $p=0,920$) между группой пациентов, получавших антихеликобактерную терапию, и группой сравнения.

Через 4-7 лет наличие НПВС-гастропатии по данным ФЭГДС в группе пациентов с успешной эрадикацией *H. pylori*, установлено у 9 из 29 человек (31,03%). При этом в 8 случаях имели место эрозии желудка и у одного пациента одновременно была язва и эрозии желудка. У 20 человек (68,9%) эрозивно-язвенные повреждения гастродуоденальной СО отсутствовали.

Во II группе, где эрадикационная терапия не проводилась, через 4-7 лет НПВС-гастропатия была выявлена у 7 из 24 обследованных (29,17%). При этом 6 человек имели эрозии желудка, а у одного была обнаружена язва желудка. Не было выявлено различий между группами по частоте возникновения НПВС-гастропатии через 4-7 лет ($\chi^2=0,02$; $p=0,878$).

При исходном морфологическом исследовании гастробиоптатов СО желудка между I и II группами не было выявлено различий по показателям активности, воспаления, атрофии, кишечной метаплазии, количеству лимфоидных фолликулов и обсемененности *H. pylori* ($p>0,1$).

Через 4-7 лет после лечения у пациентов с успешной эрадикацией *H. pylori* в СО антрального отдела желудка статистически значимо снизились показатели активности, воспаления и количество лимфоидных фолликулов, а в СО тела желудка – показатели активности, воспаления, атрофии и количество лимфоидных фолликулов (табл. 1).

Во II группе пациентов, где эрадикационная терапия не проводилась и персистировала хеликобактерная инфекция, через 4-7 лет статистически значимо увеличились показатели атрофии СО в антруме и теле желудка, а также воспаления и активности СО тела желудка (табл. 2).

Таким образом, успешная эрадикация *H. pylori* способствовала положительной динамике морфологических показателей СО желудка, а персистенция инфекции *H. pylori* привело к дальнейшему прогрессированию негативных изменений СО желудка у пациентов, длительно принимающих НПВС.

Влияние приема НПВС и наличие хеликобактерной инфекции на частоту развития гастродуоденальных язв и их осложнений противоречивые. Утверждение, что хеликобактерная инфекция может защищать от возникновения язв, индуцированных приемом НПВС, и даже способствовать их заживлению, является спорным. Допускается возможность защитного влияния хеликобактерной инфекции на СО гастродуоденальной области при постоянном использовании НПВС. В исследовании, проведенном М. Kunovská и соавт., была выявлена более низкая частота эрозивно-язвенных

Таблица 1 – Морфологические показатели слизистой оболочки желудка у пациентов с ревматоидным артритом до эрадикации *Helicobacter pylori* и через 4-7 лет после успешного лечения (I группа)

Морфологические показатели (в баллах)		До эрадикации (n=29) (M±σ)	Через 4-7 лет (n=29) (M±σ)	Статистическая значимость
Активность	Антрум	1,45±0,73	0,78±0,27	p<0,001
	Тело	1,29±0,72	0,65±0,25	p<0,001
Воспаление	Антрум	1,86±0,32	1,44±0,45	p=0,002
	Тело	1,71±0,41	1,13±0,38	p<0,001
Атрофия	Антрум	1,21±0,58	1,09±0,52	p=0,299
	Тело	0,49±0,69	0,22±0,41	p=0,036
Кишечная метаплазия	Антрум	0,09±0,27	0,11±0,28	p=0,932
	Тело	0,06±0,29	0,03±0,19	–
<i>Helicobacter pylori</i>	Антрум	2,33±0,98	0	p<0,001
	Тело	2,25±1,21	0	p<0,001
Лимфоидные фолликулы	Антрум	0,45±0,76	0	p=0,012
	Тело	0,36±0,75	0,07±0,26	p=0,028

Примечание: n – количество пациентов в группе; p – статистические отличия в сравнении с исходными показателями.

Таблица 2 – Морфологические показатели слизистой оболочки желудка через 4-7 лет у пациентов с ревматоидным артритом без проведения эрадикации *Helicobacter pylori* (II группа)

Морфологические показатели (в баллах)		Исходные данные (n=24) (M±σ)	Через 4-7 лет (n=24) (M±σ)	Статистическая значимость
Активность	Антрум	1,25±0,61	1,29±0,67	p=0,868
	Тело	0,98±0,67	1,45±0,65	p=0,038
Воспаление	Антрум	1,82±0,37	1,90±0,36	p=0,441
	Тело	1,71±0,47	2,07±0,41	p=0,007
Атрофия	Антрум	1,13±0,58	1,70±0,48	p<0,001
	Тело	0,20±0,33	1,02±0,76	p<0,001
Кишечная метаплазия	Антрум	0,13±0,27	0,17±0,38	p=0,500
	Тело	0	0,04±0,21	–
<i>Helicobacter pylori</i>	Антрум	1,88±1,25	1,59±1,32	p=0,702
	Тело	1,84±1,13	1,93±1,18	p=0,958
Лимфоидные фолликулы	Антрум	0,57±0,88	0,33±0,70	p=0,308
	Тело	0,09±0,33	0,46±0,96	p=0,108

Примечание: n – количество пациентов в группе; p – статистические отличия в сравнении с исходными показателями.

повреждений при длительном использовании НПВС у пациентов с хеликобактерной инфекцией по сравнению с теми, у которых она отсутствовала [7].

S. Santolaris и соавт. сообщали об уменьшении риска желудочных кровотечений у пациентов с наличием хеликобактерной инфекции при постоянном использовании НПВС [8]. Возможный защитный эффект микроорганизма *H. pylori* можно объяснить стимуляцией пролиферации эпителиоцитов в антральном отделе и теле желудка [9].

В исследовании A. Pilotto и соавт. сравнивалась эффективность антихеликобактерной терапии с четырёхнедельным назначением пантопразола 40 мг в сутки в течение одной недели. Сравнение проводили среди пациентов старше 60 лет, которые длительное время принимали НПВС и имели диспепсические симптомы или язвенную болезнь в анамнезе. В группе, где пациенты принимали пантопразол, гастродуоденальные повреждения были выявлены только у 9% пациентов, а в группе с эрадикацией *H. pylori* – у 29% участников исследования

[10]. Увеличение количества повреждений СО желудка и двенадцатиперстной кишки после проведения эрадикации *H. pylori*, возможно, связано с тем, что персистенция в желудке микроорганизма *H. pylori* приводит к развитию гастрита и глубокому подавлению секреции соляной кислоты, которая частично обратима при проведении эрадикационной терапии [11].

В других исследованиях сообщается об увеличении гастроудоденальных язв и их осложнений у пациентов с наличием хеликобактерной инфекции при постоянном приёме НПВС. В своём исследовании С. Аалукке и соавт. сообщали, что среди тех, кто постоянно принимал НПВС, присутствие *H. pylori* почти в два раза повышало риск язвенных кровотечений в сравнении с теми, у кого не было хеликобактерной инфекции [12].

В ряде исследований установлено, что наличие хеликобактерной инфекции не влияет на частоту гастроудоденальных язв при постоянном использовании НПВС [13]. К.С. Lai и соавт. оценивали влияние антихеликобактерной терапии на предотвращение гастроудоденальных язв у пациентов, которые длительное время принимали НПВС и установили, что эрадикация *H. pylori* не повлияла на частоту их возникновения. При проведении эндоскопического исследования язвы были обнаружены в 7% случаев в группе пациентов, получавших тройную антибактериальную терапию, и в 9% случаев у тех, кто получал плацебо [14].

В консенсусе Маастрихт IV указывается, что инфекция *H. pylori* ассоциирована с увеличением осложнённых и неосложнённых гастроудоденальных язв при использовании НПВС или низких доз аспирина. В то же время, проведение эрадикации *H. pylori* уменьшает риск их возникновения. В данном документе отмечено, что эрадикация полезна пациентам, начинающим принимать НПВС. Однако для тех, кто уже длительное время использует НПВС, проведение антихеликобактерной терапии является недостаточной мерой для полного предотвращения возникновения НПВС-индуцированных язв [15].

Эффективность эрадикации *H. pylori* у пациентов, которые только начинают терапию НПВС, оценивали в двух исследованиях F.K. Chan и соавт. [16, 17]. В одной из работ установлено снижение частоты НПВС-

индуцированных язв у тех пациентов, которым до назначения НПВС была проведена эрадикационная терапия [16]. В другом исследовании было показано существенное снижение частоты возникновения гастроудоденальных язв при эрадикации *H. pylori* у тех, кто начинал приём НПВС, по сравнению с пациентами, принимавшими омега-3 [17].

Обобщая современные доказательные исследования, можно сделать вывод, что у тех, кто только начинает принимать НПВС, эрадикация *H. pylori* может рассматриваться как эффективная стратегия первичной и вторичной профилактики язвообразования. Однако среди тех, кто принимает НПВС длительное время, эрадикационная терапия менее эффективна для профилактики образования язв и их осложнений, чем использование ингибиторов протонной помпы (ИПП) [18]. В то же время, длительный приём ИПП у *H. pylori*-позитивных пациентов ассоциирован с развитием гастрита, локализованного преимущественно в области тела желудка. Это может быть предотвращено путем успешной эрадикационной терапии [15].

В проведенных ранее исследованиях установлены позитивные изменения в морфологической картине СО желудка, возникающие через различные промежутки времени после осуществления эрадикации *H. pylori* у тех, кто не принимает НПВС [19, 20]. Однако имеется только небольшое число исследований с малым количеством пациентов, в которых оценивали влияние эрадикации *H. pylori* на морфологические показатели СО желудка при постоянном использовании НПВС. Получены данные о том, что инфекция *H. pylori* не увеличивала гистологические признаки повреждения СО желудка и не влияла на частоту возникновения язв [21]. В другом исследовании было выявлено, что через три месяца после проведения эрадикационной терапии у пациентов уменьшалась активность и воспаление СО в антральном отделе и в теле желудка при сравнении с группой лиц, где такое лечение не проводилось [22].

Эти исследования указывают на то, что нет единого мнения о влиянии инфекции *H. pylori* на гистологические характеристики СО желудка при длительном использовании НПВС.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что проведение успешной эрадикации *H. pylori* сопровождается улучшением состояния СО желудка через 4-7 лет после проведения лечения, а сохранение хеликобактерной инфекции способствует прогрессированию патологических изменений СО желудка.

Заключение

1. Пациенты с ревматоидным артритом, постоянно принимающие НПВС, через 4-7 лет после успешной эрадикации *H. pylori* реже жаловались на боль в эпигастральной области и изжогу, чем аналогичные пациенты, не прошедшие эрадикационную терапию.

2. Успешная эрадикация *H. pylori* у пациентов, постоянно принимавших НПВС до эрадикационной терапии и продолжавших их прием в дальнейшем, не привела к снижению частоты возникновения эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки.

3. Через 4-7 лет после успешной эрадикации *H. pylori* в слизистой оболочке антрального и фундального отделов желудка статистически значительно снизилась активность, воспаление и количество лимфоидных фолликулов, а в слизистой оболочке тела желудка уменьшилась атрофия.

4. В группе пациентов, где эрадикационная терапия не проводилась, через 4-7 лет в слизистой оболочке антрума и тела желудка статистически значительно увеличилась атрофия, а в слизистой оболочке фундального отдела желудка – воспаление и активность.

Литература

1. Gisbert, J. P. Review article: *Helicobacter pylori*-negative duodenal ulcer disease / J. P. Gisbert, X. Calvet // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2008 Oct. – Vol. 30, N 8. – P. 791–815.
2. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom *Helicobacter pylori* was eradicated / T. Ohkusa [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2001 Mar. – Vol. 134, N 5. – P. 380–386.
3. ACCF/ACG/AHA 2008 Expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents / D. L. Bhatt [et al.] // *Circulation.* – 2008 Oct. – Vol. 118, N 18. – P. 1894–1909.
4. Lanza, F. L. Guidelines for prevention of NSAID-related ulcer complications / F. L. Lanza, F. K. Chan, E. M. Quigley // *Am. J. Gastroenterol.* – 2009 Mar. – Vol. 104, N 3. – P. 728–738.
5. *Helicobacter pylori* increases the risk of upper gastrointestinal bleeding in patients taking low-dose aspirin / A. Lanis [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2002 Apr. – Vol. 16, N 4. – P. 779–786.
6. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis / F. C. Arnett [et al.] // *Arthritis. Rheum.* – 1988 Mar. – Vol. 31, N 3. – P. 315–324.
7. *Helicobacter pylori* negative gastroduodenal lesions in subjects treated with NSAID / M. Kunovská [et al.] // *Vnitr. Lek.* – 2000 Jul. – Vol. 46, N 7. – P. 384–386.
8. *Helicobacter pylori* infection is a protective factor for bleeding gastric ulcers but not for bleeding duodenal ulcers in NSAID users / S. Santolaria [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 1999 Nov. – Vol. 13, N 11. – P. 1511–1518.
9. Аруин, Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. – М.: Триада-Х, 1998. – 489 с.
10. Pantoprazole versus one-week *Helicobacter pylori* eradication therapy for the prevention of acute NSAID-related gastroduodenal damage in elderly subjects / A. Pilotto [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2000 Aug. – Vol. 14, N 8. – P. 1077–1082.
11. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion / E. M. El-Omar [et al.] // *Gastroenterology.* – 1997 Jul. – Vol. 113, N 1. – P. 15–24.
12. *Helicobacter pylori* and risk of ulcer bleeding among users of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a case-control study / C. Aalykke [et al.] // *Gastroenterology.* – 1999 Jun. – Vol. 116, N 6. – P. 1305–1309.
13. Kim, J. G. *Helicobacter pylori* infection and development of gastric or duodenal ulcer in arthritic patients receiving chronic NSAID therapy. The Misoprostol Study Group / J. G. Kim, D. Y. Graham // *Am. J. Gastroenterol.* – 1994 Feb. – Vol. 89, N 2. – P. 203–207.
14. Effect of treatment of *Helicobacter pylori* on the prevention of gastroduodenal ulcers in patients receiving long-term NSAIDs: a double-blind, placebo-controlled trial / K. C. Lai [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2003 Mar. – Vol. 17, N 6. – P. 799–805.
15. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report / P. Malfertheiner [et al.] // *Gut.* – 2012. – Vol. 61. – P.

- 646-664.
16. Randomised trial of eradication of *Helicobacter pylori* before non-steroidal anti-inflammatory drug therapy to prevent peptic ulcers / F. K. Chan [et al.] // Lancet. – 1997 Oct. – Vol. 350, N 9083. – P. 975-979.
 17. Eradication of *Helicobacter pylori* and risk of peptic ulcers in patients starting long-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a randomised trial / F. K. Chan [et al.] // Lancet. – 2002 Jan. – Vol. 359, N 9300. – P. 9-13.
 18. Meta-analysis: role of *Helicobacter pylori* eradication in the prevention of peptic ulcer in NSAID users / M. Vergara [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2005 Jun. – Vol. 21, N 12. – P. 1411-1418.
 19. Fichman, S. Histological changes in the gastric mucosa after *Helicobacter pylori* eradication / S. Fichman, Y. Niv // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2004 Nov. – Vol. 16, N 11. – P. 1183-1188.
 20. *Helicobacter pylori* eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year prospective study of patients with atrophic gastritis / M. Ito [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2002 Aug. – Vol. 16, N 8. – P. 1449-1456.
 21. Frezza, M. The histopathology of nonsteroidal anti-inflammatory drug induced gastroduodenal damage: correlation with *Helicobacter pylori*, ulcers, and haemorrhagic events / M. Frezza, N. Gorji, M. Melato // J. Clin. Pathol. – 2001 Jul. – Vol. 54, N 7. – P. 521-525.
 22. *Helicobacter pylori* eradication in patients on long-term treatment with NSAIDs reduces the severity of gastritis: a randomized controlled trial / H. T. De Leest [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. – 2009 Feb. – Vol. 43, N 2. – P. 140-146.

Поступила 01.10.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Дикарева Е.А. – аспирант кафедры терапии №2 ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Матвеев М.Е. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Пиманов С.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии №2 ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Макаренко Е.В. – д.м.н., доцент кафедры терапии №2 ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра терапии №2 ФПК и ПК. E-mail: ruselikelena@mail.ru – Дикарева Елена Александровна.

ПОДБОР ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ДОЗЫ АТОРВАСТАТИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ КАРОТИДНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ I–II СТЕПЕНИ

БАЛАШЕНКО Н.С.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Целью работы являлось разработать способ подбора индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациентов с АГ I–II степени.

Материал и методы. Всем пациентам было проведено ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий. При выявлении у обследуемых пациентов с АГ I–II степени каротидных бляшек, была измерена их общая площадь методом планиметрического очерчивания контуров бляшки и последующем суммированием всех полученных значений с получением единого показателя – общей площади каротидных бляшек.

Результаты. В ходе работы 35 пациентам с сочетанием АГ I–II степени и каротидными бляшками было проведено измерение степени стенозирования просвета артерии каждой каротидной бляшкой, а также измерение общей площади каротидных бляшек планиметрическим методом, после чего данной группе пациентов был назначен аторвастатин в дозе 40 мг, с повторным исследованием через 6 месяцев и оценкой динамики степени стенозирования просвета артерии и общей площади каротидных бляшек методом расчета коэффициента регрессии. При оценке динамики каротидных бляшек у пациентов с АГ I–II степени на фоне лечения по проценту стенозирования просвета артерии через 6 месяцев не было выявлено достоверно значимых изменений, в отличие от метода измерения общей площади каротидных бляшек, что позволило через 6 месяцев проводить коррекцию дозы аторвастатина, используя коэффициент регрессии.

Заключение. При выявлении каротидной бляшки при ультразвуковом исследовании необходимо дополнительно измерять общую площадь каротидных бляшек, а также рассчитывать коэффициент регрессии каротидных бляшек на фоне приема аторвастатина при динамическом наблюдении, что позволяет более адекватно подбирать дозу аторвастатина при комбинированном лечении пациентов с АГ I–II.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, каротидные бляшки, аторвастатин.

Abstract.

The aim of the research was to develop atorvastatin individual dose selection method for the treatment of carotid atherosclerosis in patients with arterial hypertension of the 1st-2nd degree (HT I–II).

Material and methods. Carotid arteries ultrasound investigation was conducted in all patients. When the examined patients with arterial hypertension of the 1st-2nd degree had carotid plaques their total area was measured by means of tracing around the plaque with a cursor. Afterwards all the obtained values were summed up to get the total carotid plaques area.

Results. In 35 patients with the combination of HT I–II and carotid plaques carotid stenosis measurement and total carotid plaques planimetric measurement were conducted. This group of patients was treated with atorvastatin at the dose of 40 mg. All patients underwent repeated ultrasound investigation after 6 months of treatment. Carotid stenosis was not significantly changed in contradiction to the total carotid plaques area. Regression coefficient was calculated and atorvastatin doses were corrected.

Conclusion. If carotid plaques are detected during ultrasound investigation, it is necessary in addition to measure total carotid plaques area and to calculate the carotid plaques regression coefficient after 6 months of treatment with atorvastatin, which enables the doctors to select atorvastatin doses more adequately for the combined treatment of patients with HT I–II.

Key words: arterial hypertension, carotid plaques, atorvastatin.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире, в том числе и в Республике Беларусь [1]. Наиболее частыми и опасными сердечно-сосудистыми осложнениями являются инфаркт миокарда и инсульт [2]. Артериальная гипертензия (АГ) вне зависимости от возрастных и этнических групп находится в непрерывной связи с частотой ряда сердечно-сосудистых событий (инсульта, инфаркта миокарда, внезапной смерти и периферическим поражением артерий), что делает актуальным не только снижение артериального давления, но и лечение поражений органов-мишеней, в том числе атеросклеротического поражения артерий [3-5]. Следовательно, возрастает необходимость разработки методов комбинированной терапии АГ с учетом поражения органов-мишеней, в частности атеросклеротического поражения артерий.

Для коррекции выраженности атеросклеротического поражения артериального русла Европейское общество кардиологов рекомендует модификацию образа жизни, медикаментозную коррекцию уровня артериального давления и уровня холестерина, контроль гликемии у пациентов с сахарным диабетом, прием антиагрегантов (аспирина или клопидогрела) в низкой дозе, а также назначение гиполипидемической терапии [6]. Наиболее часто в качестве гиполипидемического лекарственного средства при лечении каротидного атеросклероза используются ингибиторы ГМГ-КоАредуктазы – статины. Среди множества существующих на современном фармацевтическом рынке статинов аторвастатин первым доказал возможность замедления и регресса атеросклеротической бляшки в двух крупных исследованиях с использованием внутрисосудистой ультразвуковой диагностики: REVERSAL и ESTABLISH [7, 8, 9].

Однако на сегодняшний день недостаточно данных, в какой степени и насколько быстро происходят изменения выраженности каротидного атеросклероза при приеме аторвастатина, особенно у пациентов с АГ, артерии которых находятся в условиях регулярных гемодинамических перегрузок.

Целью работы являлось разработать способ подбора индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациентов с АГ I-II степени.

Методы

Исследование проводилось на базе УЗ «Витебский областной кардиологический диспансер». В ходе работы было обследовано 190 пациентов с АГ I-II степени: 96 (50,5%) женщин и 94 (49,5%) мужчины. Средний возраст обследованных пациентов составил $52,5 \pm 0,60$ лет.

Обследование всех пациентов начиналось с заполнения регистрационной карты, которая включала: социально-демографические данные (возраст, адрес проживания); стандартный опрос по кардиологической анкете; информацию о перенесенных заболеваниях; антропометрию (рост, вес, окружность талии).

Артериальное давление (АД) измеряли сфигмоманометром двукратно в положении сидя после 10-минутного отдыха с точностью до 2 мм рт.ст. Систолическое АД определяли по появлению тонов Короткова (I фаза), диастолическое АД – по их исчезновению (V фаза). Учитывали средние значения АД из двух измерений. Интерпретация уровней АД для диагностики АГ проводили по критериям ВОЗ/МОАГ (1999). АГ диагностировалась при $АД \geq 140/90$ мм рт.ст., а также у лиц с нормальным АД на фоне приема гипотензивных лекарственных средств в момент скрининга или прекращения их приема в течение последних двух недель.

Всем пациентам было проведено определение концентрации общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) ферментным методом на автоматическом анализаторе BS-300 (Италия) с использованием диагностических наборов фирмы CORMAY (Польша), а анализ ХС липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛВП) выполнялся методом химической преципитации апо-В-содержащих липопротеидов под действием гепарина в присутствии ионов марганца. Расчетным путем было определено содержание ХС липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛНП) [10]:

$$ХС-ЛНП = \text{общий ХС} - (ХС-ЛВП + (ТГ/2,2)) \text{ (ммоль/л)}.$$

Стандартизация и контроль качества липидных исследований осуществлялись с помощью стандартов и контрольных сывороток.

Ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий выполнялось с использова-

нием ультразвукового аппарата «Vivid7pro» (GE, США) с частотой излучения датчика 7,0–9,0 МГц и точностью измерительной системы 0,1 мм. В план ультразвукового скрининга были включены общая сонная артерия (ОСА), экстракраниальные отделы внутренней сонной артерии (ВСА) и наружной сонной артерии (НСА), позвоночные артерии (ПА), брахиоцефальный ствол (БЦС), подключичные артерии (ПКА).

При проведении УЗИ сосудов определялись следующие параметры:

- геометрия сосуда;
- сосудистая стенка (толщина, структура, однородность);
- толщина комплекса интима–медиа (КИМ). Толщина КИМ в сонных артериях измерялась в трех точках: на расстоянии 1 см проксимальнее бифуркации ОСА, в области бифуркации ОСА и на расстоянии 1 см после отхождения внутренней сонной артерии, в зонах, свободных от атеросклеротических бляшек;
- наличие атеросклеротических бляшек (АБ) (локализация, эхографические особенности: гомогенная, гетерогенная, с кальцинозом, характер поверхности);
- степень стеноза ($SD=100\%*(D2-D1)/D2$, где D2 – истинный диаметр сосуда (измеряется по внутренней границе адвентиции), D1 – диаметр свободного от АБ просвета сосуда);

Дополнительно, используя кардиаль-

ный пакет программ для измерения площади эффективного отверстия клапанов сердца планиметрическим методом, проводилось очерчивание площади каждой из визуализируемых каротидных бляшек (рис. 1).

При обнаружении в исследуемом бассейне нескольких каротидных бляшек их площади суммировали по формуле:

$S_{общая} = S_1 + S_2 + S_3 + \dots + S_n$, где $S_{1...n}$ – площадь каждой из визуализируемых каротидных атером.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ SPSS 19.0.

Результаты

В ходе исследования было обследовано 190 пациентов с АГ (100 пациентов с АГ I степени и 90 пациентов с АГ II степени), не имеющих в анамнезе инфаркта миокарда, инсульта, транзиторной ишемической атаки, облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. Возраст пациентов с АГ составил $52,5 \pm 0,60$ лет, среди обследованных было 96 (50,5%) женщин и 94 (49,5%) мужчин.

Атеросклеротические бляшки в брахиоцефальном бассейне были обнаружены у 120 (66,3%) обследуемых пациентов с АГ: в 2,5% случаев – в области общей сонной артерии (ОСА), в 44,3% – в области бифуркации ОСА, в 21,5% – переходили на устье внутренней сон-

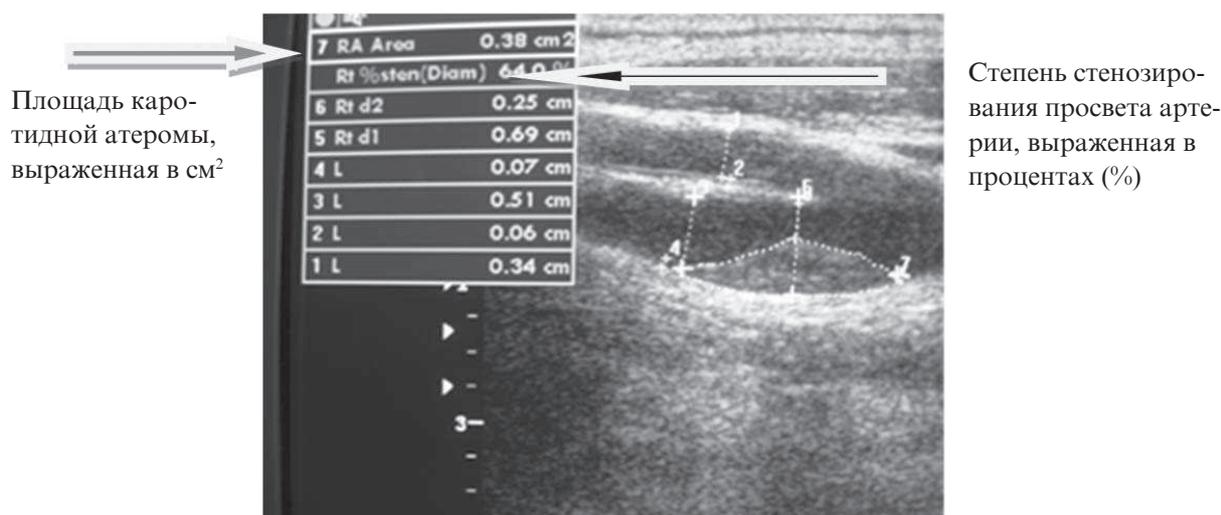


Рисунок 1 – Расчет степени стенозирования просвета бифуркации ОСА с переходом на устье ВСА (%) и планиметрическое очерчивание площади каротидной атеромы (см²) на продольном сечении в В–режиме.

ной артерии (ВСА), в 20,3% – в ВСА, в 3,2% – в наружной сонной артерии (НСА), в 7,6% – в области бифуркации брахиоцефального ствола (БЦС).

У всех пациентов был применен способ определения общей площади каротидных бляшек.

В дальнейшем 35 пациентов с сочетанием АГ и каротидного атеросклероза получали в дополнение к гипотензивной терапии гиполипидемическое лекарственное средство аторвастатин в начальной дозе 40 мг в течение 6 месяцев с соблюдением правил контроля уровня липидов и ферментов для пациентов, принимающих гиполипидемические лекарственные средства [11].

Через 6 месяцев всем пациентам проводилось повторное аналогичное ультразвуковое исследование, при котором также рассчитывались процент стенозирования просвета артерии каждой визуализируемой бляшкой, а также их общая суммарная площадь.

Для оценки динамики каротидного атеросклероза рассчитывался коэффициент регрессии каротидного атеросклероза по формуле:

$$K = S_{\text{общая}} / S'_{\text{общая}}$$

где K – коэффициент регрессии;

$S_{\text{общая}}$ – общая площадь каротидного атеросклероза (сумма площадей всех выявленных каротидных бляшек) при первичном осмотре;

$S'_{\text{общая}}$ – общая площадь каротидного атеросклероза (сумма площадей всех выявленных каротидных бляшек) при осмотре в динамике через 6 месяцев;

и при значении $K > 1$ продолжали лечение аторвастатином в дозе 40 мг; при $K \leq 1$ – дозировку аторвастатина увеличивали до максимальной – 80 мг.

Таким образом, при значении $K > 1$ при повторном ультразвуковом обследовании брахиоцефальных артерий через 6 месяцев доза аторвастатина считается эффективной, следовательно, следует продолжать лечение

стартовой дозой гиполипидемического лекарственного средства. При $K \leq 1$ следует изменить тактику лечения, увеличив дозировку аторвастатина вплоть до максимальной – 80 мг, с последующим ультразвуковым контролем через 6 месяцев и, при стабилизации процесса, переходом на дозу аторвастатина 40 мг.

При оценке динамики каротидных бляшек у пациентов с АГ I–II степени на фоне лечения по проценту стенозирования просвета артерии было выявлено, что достоверно значимой динамики каротидной бляшки не произошло (табл. 1).

Расчет коэффициента регрессии для показателя стенозирования просвета артерии является затруднительным из-за невозможности суммировать количественные показатели, выраженные в процентах.

Клинический пример №1 подбора индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациентки с артериальной гипертензией

Пациентка «В», пол женский, возраст 50 лет. Проживает в г. Витебске. Имеет среднее специальное образование, бухгалтер. Рост – 161 см. Вес – 73 кг. Артериальное давление – 143/91 мм. рт. ст. липидный спектр: общий холестерин – 6,00 ммоль/л; триглицериды – 0,59 ммоль/л; холестерин липопротеинов высокой плотности – 1,86 ммоль/л; холестерин липопротеидов низкой плотности – 3,87 ммоль/л. При дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий выявлена одна атеросклеротическая бляшка в области устья внутренней сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 45%, площадью 0,38 см². Назначен аторвастатин в дозе 40 мг на 6 месяцев. При контрольном визите через 6 месяцев получены следующие данные: липидный спектр: общий холестерин – 3,87 ммоль/л; триглицериды – 0,53 ммоль/л; холестерин липопротеинов высокой плотности – 1,58 ммоль/л; холестерин липопротеидов низкой плотности

Таблица 1 – Динамика каротидного стеноза различных локализаций на фоне приема аторвастатина в дозе 40 мг в течение 6 месяцев

Локализация стеноза	Среднее значение стеноза до лечения, %	Среднее значение стеноза после лечения, %	Уровень значимости
Бифуркация ОСА	37,14±4,62	31,57±2,25	p=0,18
ВСА	38,0±1,83	36,17±1,83	p=0,13

– 2,05 ммоль/л. При повторном дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий снова выявлена одна атеросклеротическая бляшка в области устья внутренней сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 45%, площадью 0,22 см².

Согласно формуле оцениваем регресс каротидного атеросклероза при приеме аторвастатина в дозе 40 мг в течение 6 месяцев:

$$K = S_{\text{общая}} / S'_{\text{общая}};$$

$$K = 0,38 / 0,22 = 1,72.$$

$K > 1$ – наблюдается регресс каротидного атеросклероза. Следует продолжать терапию каротидного атеросклероза аторвастатином в дозе 40 мг. В результате применения предлагаемого метода не произошло изменений со стороны толщины атеросклеротической бляшки, что отражается с помощью процента стенозирования просвета артерии, однако произошло уменьшение общей площади атеросклеротической бляшки на 32,3%. ХС–ЛПНП также достиг целевых значений.

Клинический пример № 2 подбора индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациента с артериальной гипертензией

Пациент «Д», пол мужской, возраст 53 года. Проживает в г. Витебске. Имеет высшее образование, юрист. Рост – 176 см. Вес – 110 кг. Артериальное давление – 160/100 мм.рт.ст. Липидный спектр: общий холестерин – 6,8 ммоль/л; триглицериды – 3,1 ммоль/л; холестерин липопротеинов высокой плотности – 0,90 ммоль/л; холестерин липопротеидов низкой плотности – 5,1 ммоль/л. При дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий выявлены две атеросклеротические бляшки: в области бифуркации общей сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 32%, площадью 0,33 см² и в области устья внутренней сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 35%, площадью 0,17 см². При суммировании площадей двух выявленных атером получают общую площадь атеросклеротических бляшек брахиоцефальных артерий: 0,33+0,17=0,50 см². Назначен аторвастатин в дозе 40 мг на 6 месяцев. При контрольном визите через 6 месяцев получены следующие данные: липидный спектр: общий холестерин – 4,92 ммоль/л; триглицериды – 2,8 ммоль/л; холестерин липопротеинов высокой плотности – 0,97 ммоль/л; холестерин липо-

протеидов низкой плотности – 2,55 ммоль/л. При повторном дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий снова выявлены две атеросклеротические бляшки: в области бифуркации общей сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 32%, площадью 0,33 см² и в области устья внутренней сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 35%, площадью 0,17 см². При суммировании площадей двух выявленных атером получают общую площадь атеросклеротических бляшек брахиоцефальных артерий: 0,33+0,17=0,50 см².

Согласно формуле оценивают регресс каротидного атеросклероза при приеме аторвастатина в дозе 40 мг в течение 6 месяцев:

$$K = S_{\text{общая}} / S'_{\text{общая}};$$

$$K = 0,50 / 0,50 = 1$$

$K = 1$ – общая площадь каротидного атеросклероза не изменилась. Следует увеличить дозу аторвастатина до 80 мг с целью уменьшения каротидного атеросклероза.

В результате применения предлагаемого способа не произошло уменьшения степени стенозирования просвета артерий, общей площади каротидного атеросклероза на визуализируемых участках брахиоцефальных артерий, хотя ХС–ЛПНП снизился на 50%.

При последующем визите через 12 месяцев получены следующие данные: липидный спектр: общий холестерин – 3,39 ммоль/л; триглицериды – 1,9 ммоль/л; холестерин липопротеинов высокой плотности – 0,97 ммоль/л; холестерин липопротеидов низкой плотности – 2,18 ммоль/л. При повторном дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий снова выявлены две атеросклеротические бляшки: в области бифуркации общей сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 23%, площадью 0,24 см² и в области устья внутренней сонной артерии справа, стенозирующая просвет артерии на 35%, площадью 0,14 см². При суммировании площадей двух выявленных атером получают общую площадь каротидного атеросклероза: 0,24+0,14=0,38 см².

Согласно формуле оценивают регресс каротидного атеросклероза при приеме аторвастатина в дозе 80 мг в течение 6 месяцев:

$$K = S_{\text{общая}} / S'_{\text{общая}};$$

$$K = 0,50 / 0,38 = 1,32$$

$K > 1$ – наблюдается регресс каротидного атеросклероза. Следует продолжать терапию

каротидного атеросклероза аторвастатином в дозе 80 мг.

В результате применения предлагаемого метода произошло уменьшение общей площади каротидного атеросклероза на визуализируемых участках брахиоцефальных артерий на 24,0%. Степень стенозирования просвета артерии в области бифуркации общей сонной артерии справа в результате лечения уменьшилась на 28,1%, в то время как в области устья внутренней сонной артерии справа процент стенозирования просвета артерии не изменился. ХС–ЛПНП достиг целевых значений.

Обсуждение

На сегодняшний день существует ряд способов диагностики атеросклеротического поражения артерий: определение лодыжечно–плечевого индекса давления, определение коронарного кальция и неинвазивная коронарография с помощью мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), КТ–ангиография коронарных артерий, МР–томография (безконтрастная и контрастная) в диагностике атеросклероза сонных артерий, коронарная ангиография (КАГ).

Доступным скрининговым методом диагностики каротидного атеросклероза является ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий с определением толщины комплекса «интима–медиа» (ТИМ) и наличия атеросклеротических бляшек. Необходимо отметить, что значимость ТИМ в качестве маркера атеросклероза была поставлена под сомнение по двум причинам: во–первых, у пациентов с АГ утолщение ТИМ чаще представляет собой гипертрофию медиального слоя артериальной стенки [12, 13]; во–вторых, ТИМ как правило, составляет доли миллиметра, а изменения ТИМ – сотые доли миллиметра. Учитывая то, что разрешающая способность изображения в В–режиме составляет 0,1 мм, отслеживание динамики ТИМ в короткие сроки (6–12 месяцев) является весьма затруднительным [14]. Кроме того, в клинико–эпидемиологических исследованиях было обнаружено, что наличие каротидных бляшек связано с более высоким сердечно–сосудистым риском по сравнению с диффузным увеличением ТИМ в сонных артериях, а также, что общая площадь каротидных бляшек является более четким

предиктором развития ишемической болезни сердца, чем ТИМ [12, 14, 15].

Оптимальным является комплексный подход к описанию бляшки, включающий такие параметры, как структура, плотность, состояние поверхности, форма атеромы, подвижность бляшки, степень стенозирования просвета артерии, выраженная в процентах [16]. Однако существуют данные, говорящие о том, что атеросклеротическая бляшка растет в длину в 2,4 раза быстрее, чем в толщину, поэтому возникает необходимость применения метода измерения выраженности атеросклеротического процесса с учетом не только толщины атеросклеротической бляшки, но и ее длины. Таким методом является измерение площади атеросклеротической бляшки путем планиметрического очерчивания контуров каротидной бляшки [17]. В данном исследовании были получены данные о том, что при лечении аторвастатином в дозе 40 мг уже через 6 месяцев был получен регресс общей площади каротидной бляшки, но не степени стенозирования просвета артерии.

Еще одним преимуществом измерения площади каротидных бляшек перед измерением только степени стенозирования просвета артерии является возможность измерить общую площадь всех каротидных бляшек путем суммирования площадей всех визуализируемых каротидных бляшек с получением количественных данных об атеросклеротической нагрузке в брахиоцефальном бассейне. Более того, J.D. Spence с соавторами выявил, что у пациентов верхней четверти площади атеросклеротической бляшки отмечается повышение риска инсульта и фатального инфаркта в течение 5 лет в 3,5 раза, по сравнению с пациентами нижней четверти, сопоставимыми по основным клинико–демографическим характеристикам, что подтверждает необходимость использовать общую площадь каротидных бляшек в клинической практике. Также опубликованы данные о том, что прогрессирование каротидного атеросклероза, несмотря на адекватную терапию, является неблагоприятным прогностическим событием и соответствует удвоению кардиоваскулярного риска [17], поэтому важной диагностической задачей является выявление направления динамики атеросклеротического процесса в ходе лечения в самые короткие сроки, что позволяет

оптимизировать подходы к медикаментозной коррекции каротидного атеросклероза и подбирать адекватную терапию.

В ходе проведенного исследования, целью которого являлось разработать способ подбора индивидуальной дозы аторвастатина при лечении каротидного атеросклероза у пациентов с АГ, был предложен коэффициент регрессии (К), отражающий динамику атеросклеротического процесса в брахиоцефальном бассейне. Данный коэффициент является количественным показателем и позволяет определить дальнейшую терапевтическую тактику и более точно подбирать индивидуальную дозу аторвастатина для лечения каротидного атеросклероза у пациентов с АГ, учитывая состояние брахиоцефальных артерий, подобно тому, как подбирается гипотензивная терапия на основании уровня артериального давления.

Разработанная методика проста в выполнении и не требует дополнительных затрат, ее можно использовать при разработке индивидуальных программ лечебных, профилактических и реабилитационных мероприятий, снижающих вероятность сердечно-сосудистых катастроф.

Заключение

1. При выявлении каротидной бляшки при ультразвуковом исследовании необходимо измерять не только степень стенозирования, выраженную в процентах, но также площадь каротидных бляшек для последующего динамического наблюдения.

2. Определение общей площади каротидных бляшек с расчетом коэффициента регрессии на фоне приема аторвастатина позволяет более адекватно подбирать дозу аторвастатина при комбинированном лечении пациентов с АГ I–II.

Литература

- Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2011. – 341 с.
- Доклад о ситуации в области неинфекционными заболеваниями в мире, 2010 [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 2013. – 162 с. – Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44579/6/9789244564226_rus.pdf?ua=1.
- Рекомендации ESH/ESC 2013 г. по лечению артериальной гипертонии / G. Mancia [et al.] // *Journal of Hypertension*. – 2013. – Vol. 31, N 7. – P. 1281–1357.
- Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a metaanalysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies / S. Lewington [et al.] // *Lancet*. – 2002 Dec. – Vol. 360, N 9349. – P. 1903–1913.
- Brown, D. W. Blood pressure parameters and risk of fatal stroke, NHANES II mortality study / D. W. Brown, W. H. Giles, K. J. Greenlund // *Am. J. Hypertens*. – 2007 Mar. – Vol. 20, N 3. – P. 338–341.
- Рекомендации европейского общества кардиологов по диагностике и лечению заболеваний периферических артерий / M. Tendera [et al.] // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2012. – Прилож. № 4. – С. 2–73.
- Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial / S. E. Nissen [et al.]. – *JAMA*. – 2004 Mar. – Vol. 291, N 9. – P. 1071–1080.
- Early statin treatment in patients with acute coronary syndrome: demonstration of the beneficial effect on atherosclerotic lesions by serial volumetric intravascular ultrasound analysis during half a year after coronary event: the ESTABLISH Study / S. Okazaki [et al.] // *Circulation*. – 2004 Aug. – Vol. 110, N 9. – P. 1061–1068.
- Булгак, А. Г. Современные подходы к применению статинов в лечении и профилактике атеросклероза / А. Г. Булгак // *Медицинские новости*. – 2012. – № 6. – С. 49–53.
- Friedewald, W. T. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge / W. T. Friedewald, R. I. Levy, D. S. Fredrickson // *Clin. Chem*. – 1972 Jun. – Vol. 18, N 6. – P. 499–502.
- ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias / Z. Reiner [et al.] // *Eur. Heart. J.* – 2011. – Vol. 32. – P. 1769–1818.
- Differences between carotid wall morphological phenotypes measured by ultrasound in one, two and three dimensions / K. Al-Shali [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2005 Feb. – Vol. 178, N 2. – P. 319–325.
- Beere, P. A. Experimental atherosclerosis at the carotid bifurcation of the cynomolgus monkey. Localization, compensatory enlargement, and the sparing effect of lowered heart rate / P. A. Beere,

- S. Glagov, C. K. Zarins // *Arterioscler Thromb.* – 1992 Nov. – Vol. 12, N 11. – P. 1245–1253.
14. Risk factors for progression of carotid intima-media thickness and total plaque area: a 13-year follow-up study: the Tromsø study / M. Herder [et al.] // *Stroke.* – 2012 Jul. – Vol. 43, N 7. – P. 1818–1823.
15. Spence, J. D. Noninvasive phenotypes of atherosclerosis: similar windows but different views / J. D. Spence, R. A. Hegele // *Stroke.* – 2004 Mar. – Vol. 35, N 3. – P. 649–653.
16. Шумилина, М. В. Комплексная ультразвуковая диагностика патологии периферических сосудов : учеб.-метод. рук. / М. В. Шумилина. – 2-е изд., доп. – М. : НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2012. – 384 с.
17. Spence, J. D. Technology Insight: ultrasound measurement of carotid plaque – patient management, genetic research, and therapy evaluation / J. D. Spence // *Nature Clinical Practice Neurology.* – 2006 Nov. – Vol. 2, N 11. – P. 611–619.

Поступила 18.11.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Балашенко Н.С. – аспирант кафедры терапии №1 ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра терапии №1 ФПК и ПК. Тел. моб.: +375 (29) 505–77–00 – Балашенко Надежда Сергеевна.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРИМЕНЕНИЯ БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В АКУШЕРСТВЕ И ГИНЕКОЛОГИИ

СЕМЕНОВ Д.М., СЕМЕНОВ В.М., ЗАНЬКО А.С.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель работы – повышение эффективности этиотропной терапии бактериальных инфекций и профилактики внутриутробного инфицирования плода при беременности путем оптимизации применения бета-лактамов антибиотиков в акушерско-гинекологической практике на основе исследования уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови.

Материал и методы. Проведено исследование образцов крови (n=423), околоплодных вод (n=20) беременных женщин и гинекологических пациенток (n=46), с определением собственной бета-лактамазной активности сыворотки.

Результаты исследования. У всех пациенток был выявлен тот или иной ненулевой уровень собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови, который существенно не менялся на протяжении беременности. Средний уровень бета-лактамазной активности в рассматриваемых группах 54,15% распада внесенного в пробу стандартного количества. Установлена группа пациенток (19,8%) с высокой (более 68,2%) бета-лактамазной активностью сыворотки крови. В околоплодных водах установлен более низкий по сравнению с сывороткой крови средний уровень бета-лактамазной активности 33,58% (23,37; 43,79). В группе пациенток, которым производилось изменение схемы антибактериальной терапии, высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови статистически значимо ассоциируется с высокой эффективностью замены бета-лактамов антибиотиков на антибактериальные лекарственные средства, принадлежащие к другим фармакологическим классам ($p < 0,05$), и замена бета-лактамов антибиотиков приводит к существенному сокращению сроков госпитализации.

Заключение. Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови может значимо влиять на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактамов лекарственных средств. Уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови – более 68,2% полного распада субстрата-хромогена требует отмены пациенткам бета-лактамов лекарственных средств первого ряда и назначения антибиотиков резерва.

Ключевые слова: бета-лактамы антибиотиков, беременность, биологическая резистентность, БИОЛАКТАМ.

Abstract.

Objectives. To improve the efficiency of etiotropic therapy of bacterial infections and prevention of intrauterine infection of the fetus during pregnancy by optimizing the use of beta-lactam antibiotics in obstetrical and gynecologic practice based on the research of beta-lactamase activity level of the blood serum.

Material and methods. The study of blood samples (n=423), amniotic fluid (n=20) of pregnant women and gynecological female patients (n=46) with the determination of intrinsic beta-lactamase activity of the blood serum has been conducted.

Results. In all patients one or another non-zero level of intrinsic beta-lactamase activity of the blood serum has been revealed, it did not change significantly during pregnancy. The average level of beta-lactamase activity in these groups made up 54,15% of the decay of the standard quantity introduced into the sample. The group of patients (19,8%) with high (more than 68,2%) beta-lactamase activity of the blood serum has been established. In the amniotic fluid the average beta-lactamase activity level was lower compared with that of the blood serum – 33,5% (23,37; 43,79). In the group of patients with the changed scheme of antibacterial therapy high beta-lactamase activity of the blood serum was statistically significantly associated with high efficiency of beta-lactam antibiotics replacement by drugs belonging to different pharmacological classes ($p < 0,05$) and beta-lactam antibiotics

replacement led to a significant reduction in the duration of hospital stay.

Conclusions. High beta-lactamase activity of the blood serum can significantly affect the efficiency of antibacterial therapy with the group of beta-lactam drugs. The level of beta-lactamase activity of the blood serum greater than 68,2% of the total substrate-chromogen decay requires discontinuation of therapy with beta-lactam first-line drugs in female patients and the administration of reserve antibiotics.

Key words: beta-lactam antibiotics, pregnancy, biological resistance, BIOLACTAM.

Беременность и лактация - периоды, отмечающиеся в жизни практически каждой женщины. Возникающие в эти периоды различные заболевания, как специфически характерные, так и экстрагенитальные, требуют медикаментозного лечения. В немалом числе случаев показана антибактериальная терапия. При выборе и назначении антибактериального лекарственного средства при беременности необходимо учитывать его возможность оказывать неблагоприятное воздействие на развивающийся плод и новорожденного, что в определенной мере ограничивает перечень антибактериальных лекарственных средств, используемых при беременности и лактации [1]. Бета-лактамы являются лидерами среди антибактериальных лекарственных средств, которые назначаются врачом при беременности. Это связано с их относительной безопасностью, хорошей переносимостью и широким спектром действия. Достижение необходимого результата возможно при учете бета-лактамазной резистентности как у макро-, так и у микроорганизма. Способность к продукции различных типов бета-лактамаз в различных концентрациях была выявлена у множества бактерий, как грам (+), так и грам (-). Вплоть до настоящего времени антибиотико-устойчивость болезнетворных бактерий рассматривалась лишь как приспособительная реакция микроорганизмов. При этом исследователи и клиницисты традиционно не принимают во внимание, что организм человека, со своей стороны, также небезразличен к введению антибиотиков. Антибиотики являются для макроорганизма чужеродными веществами, от которых он стремится освободиться, используя для этого разнообразные механизмы [2, 3]. Феномен собственной бета-лактамазной активности человеческой крови известен достаточно давно. Однако его клиническое значение не

исследовалось, и в результате это явление осталось незамеченным научным сообществом [4]. К основным факторам собственной бета-лактамазной активности человеческой крови можно отнести воздействие на молекулы антибактериального лекарственного средства человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Помимо ЧСА, большинство белковых фракций крови обладает бета-лактамазной активностью, составляющей приблизительно 9,6% от общей сывороточной. Собственной бета-лактамазной активностью обладают также и поликлональные IgG [4, 5].

Проблема биологической β -лактамазной активности сыворотки крови и других биологических жидкостей, при которой происходит разрушение β -лактамов антибиотиков и тем самым снижается клиническая эффективность лекарственных средств, определяет необходимость изменения тактики подбора антибактериальной терапии. Использование тест-системы БИОЛАКТАМ (ТУ ВУ 391353648.001-2011), разработанной УО «ВГМУ» для исследования уровня и количественной оценки бета-лактамазной активности биологических субстратов (сыворотки крови и околоплодных вод) в акушерстве и гинекологии является перспективным методом, позволяющим осуществить рациональный подбор антибактериальной терапии и избежать неэффективного применения бета-лактамов антибиотиков.

Цель работы – повышение эффективности этиотропной терапии бактериальных инфекций и профилактики внутриутробного инфицирования плода при беременности путем оптимизации применения бета-лактамов антибиотиков в акушерско-гинекологической практике на основе исследования уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови пациенток с бактериальными инфекциями.

Методы

Проведено исследование образцов крови ($n=423$) и околоплодных вод ($n=20$) беременных женщин и гинекологических пациенток ($n=46$), находившихся на стационарном лечении в Витебском городском клиническом роддоме №2 с определением собственной бета-лактамазной активности сыворотки за период с 1.10.12 г. по 1.05.13 г. Забор проб околоплодных вод осуществлялся при проведении операций кесарева сечения. Собранные пробы хранились при -20°C при условии однократного размораживания непосредственно перед исследованием. При заборе околоплодных вод проводился посев всех полученных образцов на бактериальную флору. Бета-лактамазную активность в сыворотке крови пациенток, полученной путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 минут цельной крови, выдержанной в холодильной камере при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 4-6 часов для образования фибринового сгустка и в околоплодных водах определяли с использованием Тест-система БИОЛАКТАМ (ТУ ВУ 391353648.001–2011). Учет результатов проводился с помощью программного обеспечения, адаптированного к ИФА-анализатору производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь (фотометр универсальный Ф300 ТП).

Возраст исследуемых женщин составил от 12 до 59 лет. Средний возраст составлял 28,4 года. Среди исследованных женщин, у 79 были выявлены инфекционные заболевания бактериальной этиологии, требующие назначения антибактериальной терапии (73 случая бактериальной инфекции половых путей (цервицит, кольпит) 6 случаев пиелонефрита). 390 женщин были здоровы.

Диагностика заболеваний у пациентов, вошедших в исследование, осуществлялась в соответствии с общими принципами и правилами клинической и лабораторной диагностики, изложенными в клинических протоколах наблюдения беременных, рожениц, родильниц, диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии, утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь (09.10.2012 г. № 1182).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0, Microsoft Excel 2007. Для обработки статистических данных ис-

пользовались методы непараметрической статистики. Количественные данные представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25%; 75%). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимали равным 0,05. Достоверность выявляемых различий средних значений сравниваемого признака в двух независимых выборках оценивали по U-критерию значимости Манна-Уитни. Анализ корреляционных зависимостей проведен с использованием метода Спирмена.

Результаты и обсуждение

Собственная бета-лактамазная активность сыворотки крови исследовалась у беременных женщин в разные trimestры беременности и у не беременных женщин. У всех пациенток был выявлен тот или иной ненулевой уровень собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови, который существенно не менялся на протяжении беременности. Средний уровень бета-лактамазной активности в рассматриваемых группах 54,15% распада внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина но разброс отдельных значений при этом весьма велик; при этом наиболее типичные значения активности лежат в интервале 55 - 65% распада внесенного в пробу нитроцефина. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин были сопоставимы с показателями у не беременных пациенток ($p > 0,05$). Установлена группа пациенток (19,8%) с высокой (более 68,2%) бета-лактамазной активностью сыворотки крови.

В околоплодных водах установлен более низкий по сравнению с сывороткой крови средний уровень бета-лактамазной активности 33,58% (23,37; 43,79). Полученные результаты свидетельствуют о том, что средний уровень бета-лактамазной активности в околоплодных водах ниже клинически значимого, однако 4 (20%) пациентки имели уровень бета-лактамазной активности выше клинически значимого.

С целью изучения влияния уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови пациенток с бактериальными инфекциями на эффективность терапии антибактериальными лекарственными средствами бета-лак-

тамного ряда были выделены отдельные группы пациенток. Собственная бета-лактамазная активность сыворотки крови исследовалась в группах беременных пациенток с пиелонефритом ($n=6$), неспецифическими бактериальными инфекциями половых путей (цервицит, кольпит) ($n=73$), многоводием ($n=12$), маловодием ($n=8$). Группа сравнения - женщины с нормально протекающей беременностью без признаков бактериальной инфекции ($n=370$).

Средний уровень бета-лактамазной активности в рассматриваемых группах достаточно близок, при этом наиболее типичные значения активности лежат в интервале 55-65% распада внесенного в пробу нитроцефина. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин без инфекционной патологии сопоставимы с показателями у беременных пациенток с бактериальной инфекцией различной этиологии и локализации, получавших антибактериальные препараты группы бета-лактамов ($p>0,05$) (критерий Манна-Уитни). Однако необходимо отметить некоторое преобладание уровня бета-лактамазной активности в группе беременных пациенток с бактериальными инфекциями по сравнению с беременными без признаков воспалительных процессов на момент обследования. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин с бактериальными инфекциями составлял 56,06% (54,53; 57,58), у беременных женщин без воспалительных процессов составлял 53,69% (52,93; 54,44) распада внесенного в пробу нитроцефина. Корреляционный анализ, проведенный по методу Спирмена, показал наличие статистически значимых корреляций между уровнем бета-лактамазной активности сыворотки крови и рядом показателей, характеризующих течение заболеваний и особенности проводимой антибактериальной терапии. Наблюдается ряд обратных зависимостей между уровнем бета-лактамазной активности крови и характеристиками проводимой пациентам антибактериальной терапии, в частности, продолжительностью антибактериальной терапии, фактом назначения и продолжительностью лечения антибиотиками резерва, как относящимися, так и не относящимися к классу бета-лактамов.

Поскольку целью данного исследования была оценка эффективности антибактериальной терапии, которая имеет смысл только при инфекциях, вызванных патогенными бактериями, нами из совокупной выборки была выделена группа пациенток ($n=99$), включающая: 6 пациенток с пиелонефритом, 73 пациентки с бактериальной инфекцией нижнего отдела половых путей, 12 пациенток с многоводием и 8 пациенток с маловодием. Все указанные пациентки страдали инфекционными заболеваниями бактериальной этиологии, при которых имеются абсолютные показания для назначения антибиотиков. В изученной нами группе из 99 пациенток антибактериальную терапию получали 100% обследованных, а замена ее производилась у 26 человек (27,27%, ДИ: 0,183 – 0,362). Для анализа влияния бета-лактамазной активности сыворотки крови на эффективность антибактериальной терапии пациентки с бактериальными инфекциями были разделены на две группы: 1-ая группа - пациентки, которым замена первоначально назначенной антибактериальной терапии не производилась ($n=73$), и 2-ая группа - пациентки, которым в процессе лечения замена схемы антибактериальной терапии производилась ($n=26$). В обеих группах пациенток (со сменой терапии и без) были, в свою очередь, выделены подгруппы с высокой (распад более 59,8%) исходно внесенного в пробу количества нитроцефина за 30 минут инкубации при 37°C) и с низкой (соответственно, распад менее 59,8% от исходного количества нитроцефина) сывороточной бета-лактамазной активностью.

В группе пациенток с заменой антибактериальной терапии насчитывалось 8 пациенток с высокой бета-лактамазной активностью сыворотки крови (29,62%, ДИ: 0,112 - 0,48), и 18 - с низкой (70,38%, ДИ: 0,112 - 0,48). Соответственно, в группе пациенток, которым замена антибиотиков не производилась ($n=73$), выявлено 19 человек с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью (26,38%, ДИ: 0,159 – 0,368), и 54 - с низкой (73,62%, ДИ: 0,159 – 0,368). Анализ достоверности различий частот и отношений по критерию Chi-square (χ^2) показывает отсутствие значимых различий между группами пациентов с заменой антибактериальной терапии и без нее по количеству лиц с высокой и низкой бета-лактамазной активностью сыворотки крови ($p=0,11$).

При этом уровень ЧСА в группах с высокой и низкой бета-лактамазной активностью также значимо не различался (U-тест Манна-Уитни, $p=0,3$). Все пациентки, включенные в данную выборку, получали антибактериальную терапию. Стартовая схема в большинстве случаев включала 1 антибиотик бета-лактаминового ряда, как правило – цефотаксим ($n=80$) 80,80%, (ДИ: 0,729 - 0,887), реже цефтриаксон ($n=19$) 19,20%, (ДИ: 0,729 - 0,887). Если в дальнейшем производилась смена схемы антибактериальной терапии, указанные антибиотики обычно заменялись на азитромицин ($n=7$) 25,92%, (ДИ: 0,082 - 0,435) или эритромицин ($n=19$) 74,08%, (ДИ: 0,082 - 0,435). Все замены производились при отсутствии эффекта от проводимой терапии и/или ухудшении состояния пациентки на фоне проводимой терапии.

Среди пациенток, которым производилась замена антибактериальной терапии, средняя продолжительность госпитализации составила 11,33 (10,0; 12,0) суток в подгруппе с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью против 13 (11,0; 15,0) суток в подгруппе с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью, т.е. имеет место разница в 1,67 дня, и эта разница является статистически значимой (U-тест Манна-Уитни, $p=0,01$). В подгруппе пациенток, которым замена антибактериальной терапии не производилась, средний срок госпитализации женщин с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью составил 7,5 суток, а с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью – 7,31 сут., причем указанные характеристики различаются недостоверно ($p=0,44$, U-тест Манна-Уитни).

Таким образом, в подгруппе пациенток, которым производилось изменение схемы антибактериальной терапии, высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови статистически значимо ассоциируется с высокой эффективностью замены бета-лактаминных антибиотиков на антибактериальные лекарственные средства, принадлежащие к другим фармакологическим классам ($p<0,05$) (средняя продолжительность госпитализации у таких пациенток оказалась на 1,67 суток короче, чем у женщин с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью); при этом в подгруппе пациенток, которым замена антибактериальной терапии не производилась, уровень

сывороточной бета-лактамазной активности не оказывает значимого влияния на срок госпитализации. Можно констатировать, что в подгруппе пациенток с высокой бета-лактамазной активностью крови замена бета-лактаминных антибиотиков на антибактериальные лекарственные средства из других фармакологических классов приводит к существенному сокращению сроков госпитализации по сравнению с подгруппой пациенток с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью.

Заключение

Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови может значимо влиять на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактаминных лекарственных средств. В свою очередь, обследование пациенток на наличие биологической резистентности к бета-лактаминным антибиотикам позволяет своевременно провести адекватную антибактериальную терапию, снизить вероятность развития осложнений, сократить длительность лечения, снизить частоту необоснованной смены антибиотиков, снизить стоимость терапии, уменьшить риск реализации инфекции с развитием внутриутробного инфицирования плода и получить снижение роста резистентности бактерий к антибиотикам.

Уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови – более 68,2% полного распада субстрата-хромогена требует отмены пациенткам бета-лактаминных препаратов первого ряда и назначения антибиотиков резерва, в частности, ингибитор-защищенных бета-лактамов, карбапенемов либо препаратов из других фармакологических групп с аналогичным спектром антимикробной активности. Уровень бета-лактамазной активности околоплодных вод более 40,0% полного распада субстрата-хромогена указывает на необходимость вышеописанной коррекции антибактериальной терапии. При низкой бета-лактамазной активности стартовую антибактериальную терапию целесообразно проводить бета-лактамами.

Литература

1. Стриженов, Е. А. Применение лекарственных средств при беременности: результаты много-

- центрового фармакоэпидемиологического исследования / Е. А. Стриженок, И. В. Гудков, Л. С. Страчунский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 162-175.
2. Семенов, В. М. Микробиологические и биологические аспекты резистентности к антимикробным препаратам / В. М. Семенов, Т. И. Дмитраченко, И. В. Жильцов // Медицинские новости. – 2004. – № 2. – С. 10-17.
 3. Assays for beta-lactamase activity and inhibition / T. Viswanatha [et al.] // Methods Mol. Med. – 2008. – Vol. 142. – P. 239-260.
 4. A secondary drug resistance mutation of TEM-1 beta-lactamase that suppresses misfolding and aggregation / V. Sideraki [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001 Jan. – Vol. 98, N 1. – P. 283-288.
 5. ДНК-гидролизующие IgG антитела из крови больных некоторыми инфекционными заболеваниями / Е. С. Одинцова [и др.] // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2006. – № 2. – С. 23-31.

Поступила 29.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Семенов Д.М. – д.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет»;

Семенов В.М. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет»;

Занько А.С. – врач акушер-гинеколог УЗ «Витебский городской клинический роддом №2».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210038, Витебск, пр-т Строителей, д.22, корп.1, кв.182. Тел.моб.: +375 (29) 650-18-95, e-mail: semenovdm@yandex.ru – Семенов Дмитрий Михайлович.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ И СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

КОВАЛЁВ Е.В., ЗАНЬКО Ю.В., ЯРОЦКАЯ Н.Н.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей протекания процессов перекисного окисления липидов, а также состояния эндотелия у пациентов при наличии задержки роста плода (ЗРП) и при физиологической беременности. Для этого нами в III триместре было обследовано 40 беременных с задержкой роста плода (основная группа) и 43 женщины с нормально протекающей беременностью. Для оценки процессов липопероксидации изучали показатели: S (полная светосумма хемилюминисценции, мВ/с), I_{max} (значение максимальной интенсивности за время опыта, мВ/с). Активность антиоксидантных систем оценивали по показателю tg 2 (tg угла максимального наклона кривой к оси времени) и коэффициентам Z и K. В качестве маркера эндотелиальной дисфункции было выбрано определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток по методу Hladovec J. и др.

Было определено, что беременности с ЗРП достоверно чаще сопровождались перенесёнными простудными заболеваниями в I триместре (55,8% и 32,5%, соответственно), экстрагенитальной патологией (51,2% и 27,5%), в первую очередь за счёт хронического пиелонефрита (16,3% и 7%).

ЗРП сочеталась с достоверным повышением активности процессов липопероксидации и антиоксидантной активности крови беременных (рост показателя S на 7,7%, I_{max} на 6,7%, tg 2 на 6,7%, p<0,05), а также эндотелиальной дисфункцией (количество ЦЭК=21 (18; 25) в основной группе и 12 (9; 15) в контрольной, p<0,001).

Системный анализ корреляционных связей показал, что при формировании ЗРП за счёт образования нетипичных межсистемных связей происходит формирование новой функциональной системы, деятельность которой направлена на обеспечение роста и развития плода.

Ключевые слова: задержка роста плода, липопероксидация, эндотелиальная дисфункция, беременность.

Abstract.

The purpose of the present study was to examine the features of the processes of lipid peroxidation, as well as the state of the endothelium in patients in the presence of intrauterine growth retardation (IUGR) and in physiological pregnancy. The first group consisted of 40 female patients with the diagnosed IUGR, in the second one there were 43 female patients with normal pregnancy. Venous blood samples in the 3rd trimester were collected. To assess lipid peroxidation processes the following parameters were studied: S (total chemiluminescence light sum, mV/s), I_{max} (the maximum intensity during the experiment, mV/s). The activity of antioxidant systems was evaluated according to tg 2 index (tg of the angle of maximum inclination of the curve to the time axis) as well as Z and K coefficients. As a marker of endothelial dysfunction the quantification of circulating endothelial cells (CEC) by the method of Hladovec J. et al. was chosen.

It was determined that the pregnancies complicated by IUGR significantly more often were accompanied by the suffered acute respiratory diseases during the 1st trimester (55,8% and 32,5%, respectively), extragenital pathology (51,2% and 27,5%, respectively), primarily due to chronic pyelonephritis (16,3% and 7%, respectively).

IUGR was combined with a significant increase in the activity of lipid peroxidation processes and antioxidant activity of the blood of pregnant women (the S index was higher by 7,7%, I_{max} was higher by 6,7%, and tg 2 - by 6,7% in 1st group (p<0,05)), and endothelial dysfunction (CEC number =21 (18 ; 25) in the main group and 12 (9; 15) in the control one, p<0,001).

Systemic analysis of correlations showed that on the formation of IUGR due to atypical interconnections the

foundation of a new functional system takes place the activity of which is aimed at the ensurance of the fetal growth and development.

Key words: hypotrophy, lipid peroxidation, endothelial dysfunction, pregnancy.

В настоящее время общепризнано, что оксидативный стресс (ОС) лежит в основе патофизиологии ряда осложнений беременности, включая задержку роста плода (ЗРП). Оксидативный стресс представляет собой преобладание процесса образования активных форм кислорода над внутренними антиоксидантными механизмами. Активные формы кислорода играют важную роль вторичных передатчиков во множестве внутриклеточных сигнальных каскадов, целью которых является поддержание клеток в состоянии устойчивого гомеостаза с их непосредственным окружением. Избыточное накопление активных форм кислорода ведёт к необратимому повреждению биологических молекул с последующей потерей их функции клеток вплоть до цитолиза.

Экспериментальными исследованиями было продемонстрировано, что плацентация идёт при преимущественном выделении кислорода эндометриальными железами, чем поступлении его из материнского кровотока [1]. Развитие эмбриона проходит в условиях относительной гипоксии, что является защитным адаптивным антитератогенным механизмом [2]. Результатом окончательно сформировавшегося маточно-плацентарного кровообращения является более чем в три раза рост концентрации кислорода в плаценте, при этом содержание естественных антиоксидантов в плацентарной ткани остаётся на относительно низком уровне.

Имеются единичные сообщения, касающиеся роли плацентарного оксидативного стресса при наличии ЗРП. Показано, что уровень ОС при данном осложнении беременности ниже, чем при гестозе, однако достаточный для супрессии синтеза белка. ОС, действующий продолжительное время, обуславливает низкую траекторию роста плаценты с последующей неполной реализацией потенциала роста плода [4]. При этом подчёркивается, что в формировании ЗРП важную роль играет нестабильный маточно-плацентарный кровоток в большей степени, нежели сама гипоксия.

Кроме того, активация перекисного

окисления липидов (ПОЛ) усиливает выработку тромбосана, что усиливает агрегацию тромбоцитов, эритроцитов, стимулирует вазоконстрикцию периферических сосудов, приводит к нарушению микроциркуляции. Спазм сосудов в разной степени вызывает местную ишемию, что в свою очередь способствует повышению интенсивности процессов ПОЛ.

Другим важным патогенетическим аспектом формирования ЗРП является эндотелиальная дисфункция (ЭД). С точки зрения биохимии ЭД можно характеризовать как нарушенную способность эндотелия к захвату и метаболизму аминокислоты L-аргинина, основного субстрата для синтеза оксида азота (NO) посредством NO-синтазы [5]. В свою очередь, снижение образования NO приводит к нарушению вазодилатации в сосудах плаценты и гипоксии. Кроме того, NO ингибирует адгезию, активацию, секрецию и агрегацию тромбоцитов, определяет образование эндотелина-1, фактора активации тромбоцитов и др. Развитие ЭД при ЗРП объясняется избыточным воспалительным ответом материнского организма на беременность [6].

Современные методы оценки тяжести эндотелиальной дисфункции, равно как интенсивности процессов перекисного окисления липидов и уровня антиоксидантной активности имеют ряд ограничений по использованию по причине высокой стоимости и/или трудоёмкости процесса определения. Поэтому поиск альтернативных доступных и воспроизводимых методик является актуальной задачей.

Целью настоящего исследования являлась оценка дисфункции эндотелия, а также изучение показателей перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности у пациенток, беременность у которых осложнилась ЗРП.

Методы

Было обследовано 83 беременных женщин в сроке беременности 30-37 нед. Обследованные пациентки были разделены на 2 груп-

пы: первую группу составили 43 пациентки, родивших детей с массо-ростовыми характеристиками ниже 10% для соответствующего гестационного срока, вторую группу составили 40 пациенток, новорождённые у которых соответствовали по массе и длине тела сроку гестации. Для сопоставления массо-ростовых показателей гестационному возрасту использовались перцентильные таблицы Н.К.Р. Робертон (1998). Критерием исключения в первой группе явилось наличие у плода генетической патологии, верифицированной в постнатальном периоде. Во второй группе дополнительным критерием исключения было наличие выставленного диагноза ЗРП с последовавшим за ним курсом метаболической терапии на любом сроке беременности.

Средний возраст пациенток основной группы составил $28,7 \pm 5,3$ года. Настоящая беременность была первой у 21 женщины (48,8% [95% ДИ 34,3; 63,3]), первородящими являлись 29 женщин (67,4% [95% ДИ 52,5; 79,6]). Простудные заболевания на ранних сроках беременности перенесли 24 беременные (55,8% [95% ДИ 41,1; 69,6]), нарушение жирового обмена отмечалось у 16 (37,2% [95% ДИ 24,3; 53,2]) женщин. Средняя прибавка массы тела за беременность равнялась 9,0 (3,2; 14,1). Гинекологическая патология отмечалась у 12 (27,9% [95% ДИ 16,6; 42,8]) женщин, экстрагенитальная - у 22 (51,2% [95% ДИ 36,8; 65,4]) пациентов. Угроза прерывания беременности была у 25 пациенток (59,5% [95% ДИ 43,3; 71,6]). Срок выставления диагноза ЗРП составил $32,5 \pm 2,7$ недели. Маловодие отмечалось у 23 (53,5%) женщин, нарушение маточно-плацентарного кровотока - у 16 (37,2%). Вес новорождённых у женщин основной группы составил $2341,5 \pm 367,8$ г, рост 47 ± 3 см.

Средний возраст пациенток контрольной группы равнялся $27,1 \pm 4,3$ года. Первая беременность была у 22 женщин (55,0% [95% ДИ 39,8; 69,3]), первородящими являлись 24 женщины (60,0% [95% ДИ 44,6; 73,7]). Простудные заболевания на ранних сроках беременности перенесли 13 (32,5% [95% ДИ 20,0; 48,1], $p=0,036$) пациенток. Нарушение жирового обмена было у 14 (35,0% [95% ДИ 22,1; 50,6], $p>0,05$) беременных. Средняя прибавка массы тела за беременность равнялась 13,0 (7,0; 21), что было достоверно ниже, чем в основной группе ($p<0,001$). Гинекологическая патоло-

гия имелась у 6 женщин (15,0% [95% ДИ 6,7; 29,5], $p>0,05$), экстрагенитальная - у 11 женщин (27,5% [95% ДИ 15,9; 43,0], $p=0,03$). Угроза прерывания беременности имела место у 15 пациенток (37,5% [95% ДИ 24,2; 53,0]), $p=0,048$). Вес новорождённых у женщин контрольной группы составил $3597,5 \pm 366,5$ г, рост 52 ± 2 см.

Для оценки интенсивности ПОЛ изучали показатели: S (полная светосумма хемилюминисценции) в мВ/с; I max (значение максимальной интенсивности за время опыта в мВ/с) методом индуцированной хемилюминисценции (ХЛ) сыворотки крови на биохемилуцинометре БХЛ-06. Об активности антиоксидантных систем судили по tg 2 (тангенс угла максимального наклона кривой к оси времени) без учёта знака (-) и коэффициентам $Z=S/I \text{ max}$ и $K=I \text{ max}/S$.

В качестве маркера эндотелиальной дисфункции было выбрано определенное количество циркулирующих эндотелиальных клеток в сыворотке венозной крови, забранной натощак. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в крови беременных определяли по методу Hladovec J. et al. [7]. Метод основан на изоляции клеток эндотелия вместе с тромбоцитами с последующим осаждением последних с помощью аденозиндифосфата. Подсчет количества ЦЭК проводили во всем объеме камеры Горяева (10 мкл). Жизнеспособные эндотелиальные клетки просматривались как большие (35×50 мкм) полигональные клетки с овальным, расположенным в центре ядром и более бледной окраской по сравнению с нежизнеспособными клетками эндотелия (каркасы эндотелиоцитов). От одной пациентки считали 10 проб по 10 мкл обогащенной клетками плазмы, суммировали данные и находили количество ЦЭК (жизнеспособных и нежизнеспособных) в 100 мкл обогащенной клетками плазмы.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Результаты исследования представлены в виде Me (25%; 75%), где Me - медиана, (25%; 75%) - верхняя и нижняя квартили. При сравнении независимых групп с отличным от нормального распределением признаков использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для анализа взаимосвязи признаков применяли метод непараметрического корреляционного анализа

(ранговая корреляция по Спирмену – R). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимали равным 0,05. Системный анализ совокупности изучаемых признаков выполнялся с помощью метода корреляционных структур [8]. Суть данного метода состоит в анализе корреляционной матрицы с изображением имеющихся связей в виде графики, узлами которой являются признаки, а рёбрами – достоверные ($p < 0,05$) связи между ними. При этом, согласно правилам системного анализа, обязательен расчёт следующих показателей: коэффициента лабилизации (КЛ) и показателей корреляционного различия (ПКР). КЛ характеризует относительное количество связей в структуре и определяется по формуле:

$$КЛ = \frac{n}{N(N - 1)} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где n – сумма всех значимых связей, образованных каждым параметром корреляционной структуры; N – общее число параметров системы.

ПКР определяет степень качественного различия сравниваемых корреляционных структур и вычисляется следующим образом:

$$ПКР = \frac{H - C}{H + C} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где H – число совпадающих связей в сравниваемых структурах; C – число совпадающих связей.

Результаты и обсуждение

Показатели ПОЛ, общей АОА, а также количество ЦЭК у обследованных женщин представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице, у женщин, беременность которых осложнилась ЗРП медианное значение показателя S было равно 11,27 (10,34; 11,79) мВ/с, что на 7,7% выше соответствующего показателя в контрольной группе (10,43 (9,23; 11,33) мВ/с, $p = 0,003$).

Медиана показателя $I \max$, отражающего активность ПОЛ у женщин основной группы составила 1,27 (1,15; 1,38) мВ/с, что на 6,7% выше, чем у женщин контрольной группы (1,19 (1,06; 1,34) мВ/с, $p = 0,032$).

Медианное значение $tg \ 2$ у пациенток при формировании ЗРП (0,32 (0,28; 0,36)) было на 6,7% выше, чем у пациенток с физиологически протекавшей беременностью (0,30 (0,26; 0,33), $p = 0,004$).

Таким образом, у пациенток с ЗРП отмечается повышенная активность процессов липопероксидации при одновременном возрастании потенциала антиоксидантной защиты. Данное явление, вероятно, является адаптивным механизмом в организме матери с одной стороны и повреждающим фактором для плаценты с другой, что обуславливает плацентарную недостаточность у указанной группы пациенток и таким образом препятствует реализации генетически обусловленного потенциала роста плода.

Количество ЦЭК в сыворотке венозной крови у пациенток при формировании ЗРП было достоверно выше, чем у пациенток кон-

Таблица 1 – Показатели ПОЛ, общей АОА, а также количество ЦЭК у обследованных женщин (Me (25%; 75%))

Показатель	Группы обследованных женщин	
	Основная группа (n=43)	Контрольная группа (n=40)
S , мВ/с	11,27 (10,34; 11,79) $p = 0,003$	10,43 (9,23; 11,33)
$I \max$, мВ/с	1,27 (1,15; 1,38) $p = 0,032$	1,19 (1,06; 1,34)
$tg \ 2$	0,32 (0,28; 0,36) $p = 0,004$	0,30 (0,26; 0,33)
$Z = S/I \max$	8,94 (8,45; 9,40) $p = 0,33$	8,81 (8,46; 9,18)
$K = I \max/S$	0,11 (0,11; 0,12) $p = 0,33$	0,11 (0,11; 0,12)
Количество ЦЭК	21 (18; 25) $p < 0,001$	12 (9; 15)

Примечание: p – вероятность справедливости нулевой гипотезы при сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна-Уитни).

трольной группы 21 (18; 25) и 12 (9; 15) соответственно, $p < 0,001$, что свидетельствует об имеющейся эндотелиальной дисфункции. Уве-

личение количества ЦЭК, равно как и повышение напряжённости процессов ПОЛ/АОА крови пациенток основной группы является

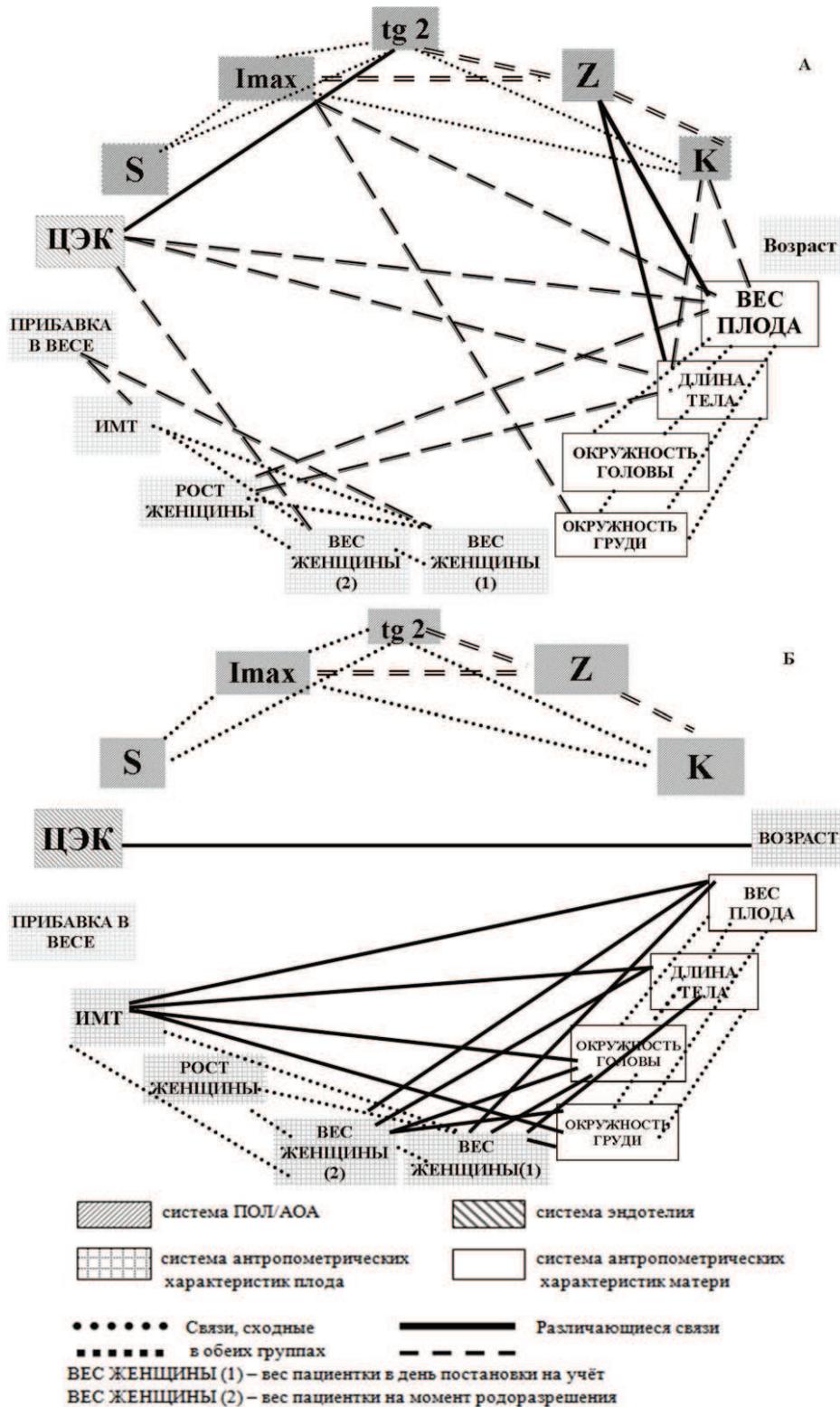


Рисунок 1 – Корреляционные структуры показателей ПОЛ/АОК, данных массо-ростовых характеристик беременных и новорождённых в основной (А) и контрольной (Б) группах.

Таблица 2 – Количественные характеристики корреляционных структур

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
КЛ ₀ , %	25,8	24,5
КЛ _{пл} , %	100	100
КЛ _м , %	40	33,3
КЛ _{ПОЛ}	80,0	80,0
КЛ _{м/пл}	4,4	22,2
КЛ _{э/м}	4,8	2,2
КЛ _{э/пл}	20,0	0
КЛ _{ПОЛ/пл}	16,6	0

Примечание: КЛ₀ – коэффициент лабализации всей структуры, КЛ_{пл} – коэффициент лабализации внутрисистемных связей плода, КЛ_м – коэффициент лабализации внутрисистемных связей матери, КЛ_{ПОЛ} – коэффициент лабализации внутрисистемных связей процессов ПОЛ/АОА, КЛ_{м/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «мать-плод», КЛ_{э/м} – коэффициент лабализации межсистемных связей «эндотелий-мать», КЛ_{э/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «эндотелий-плод», КЛ_{ПОЛ/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «ПОЛ/АОА – плод».

итогом патофизиологических изменений в организме женщин, беременность которых достоверно чаще протекала на неблагоприятном фоне (простудные заболевания, хронические воспалительные заболевания почек).

С целью выяснения патогенетических связей, образованных 4 условными системами (система ПОЛ/АОА, система эндотелия, функциональная система антропометрических характеристик плода и матери), нами был проведен системный анализ этих взаимоотношений с помощью метода корреляционных структур (рис. 1, табл. 2).

Беременность сопровождается формированием новой функциональной системы, деятельность которой направлена на обеспечение роста и развития плода. Общий КЛ равен 25,8% в основной и 24,5% в контрольной группе, что говорит о формировании сопоставимых по напряженности структур. При этом ПКР, равный 74,2%, указывает на то, что процессы адаптации в данных группах реализованы за счёт разных биологических процессов.

КЛ в системе ПОЛ/АОА у женщин обеих групп равен 80%, что свидетельствует об отсутствии функциональных перестроек взаимосвязей в системе защиты организма от избыточного оксидативного стресса при формировании ЗРП. При формировании гипотрофии плода наблюдается усиление напряжения процессов ПОЛ/АОА, что представляет собой типовой адаптивный ответ на имеющиеся ги-

поксические повреждения фето-плацентарной системы. Данные повреждения у пациенток с ЗРП можно объяснить следствием перенесённых простудных заболеваний (55,8% [95% ДИ 41,1; 69,6] пациентов в основной группе и 32,5% [95% ДИ 20,0; 48,1] в контрольной, $p=0,036$) во время первой и/или второй волн плацентации, а также имеющихся хронических очагов инфекции в организме матери (хронический пиелонефрит 16,3% в основной группе и 7% в контрольной, ОШ=4,3 [95% ДИ 0,8; 22,3], $p=0,08$).

КЛ связей между системами ПОЛ/АОА и системой плода в основной группе равен 16,6% и в контрольной – 0%, что говорит об отсутствии взаимосвязи между процессами липопероксидации/антиоксидантной защиты и конституциональными характеристиками плода при физиологически протекающей беременности. При увеличении активности ПОЛ у пациенток основной группы наблюдается появление обратной связи между показателем Imax и весом плода ($r=-0,32$, $p<0,05$) и окружностью груди ($r=-0,33$, $p<0,05$). Следует отметить и образующиеся связи между коэффициентами Z, K и массо-ростовыми показателями плода. Интегральные показатели Z и K характеризуют общую антиоксидантную защиту, которая при формировании ЗРП не в состоянии компенсировать возросшую активность процессов ПОЛ. При физиологической беременности реализация плодом своего генетически детерминированного потенциала роста находится

в значимо более напряжённой взаимосвязи с конституционными характеристиками матери, о чём говорит КЛ=22,2% в контрольной группе против 4,4% в основной.

Сходная ситуация наблюдается и при анализе взаимосвязей системы эндотелия и системы плода. КЛ в основной группе составил 20,0%, в то время как в контрольной группе межсистемных связей «эндотелий матери-плод» не было. Этот факт свидетельствует о значимом влиянии эндотелиальной дисфункции на формирование гипотрофии плода. В контрольной группе количество ЦЭК было напрямую связано только с возрастом матери ($r=0,43$, $p=0,05$), что указывает на возрастные изменения эндотелия у данной группы пациентов.

Заключение

1. ЗРП сопровождается повышением активности процессов ПОЛ/АОА крови (рост показателя S на 7,7%, I_{max} на 6,7% и tg 2 на 6,7%), а также эндотелиальной дисфункцией (количество ЦЭК в основной группе 21 (18; 25) и 12 (9; 15), $p<0,001$).

2. Установлено, что ЗРП сочетается с перенесённой во время настоящей беременности острой респираторной инфекцией (ОШ=3,46 [95% ДИ 1,40; 8,58], $p=0,007$).

3. Формирование новой функциональной системы, в которой происходит перестройка межсистемных связей в системе ПОЛ/АОА, приводит к формированию ЗРП.

Литература

1. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure / E. Jauniaux [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2000 Dec. – Vol. 157, N 6. – P. 2111-2122.
2. Burton, G. J. Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies / G. J. Burton, J. Hempstock, E. Jauniaux // *Reprod. Biomed. Online.* – 2003 Jan-Feb. – Vol. 6, N 1. – P. 84-96.
3. Cartwright, J. E. Hypoxia and placental remodelling / J. E. Cartwright, R. J. Keogh, M. C. Tissot van Patot // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2007. – Vol. 618. – P. 113-126.
4. Burton, G. J. Oxidative stress / G. J. Burton, E. Jauniaux // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011 Jun. – Vol. 25, N 3. – P. 287-299.
5. Fetoplacental Vascular Endothelial Dysfunction as an Early Phenomenon in the Programming of Human Adult Diseases in Subjects Born from Gestational Diabetes Mellitus or Obesity in Pregnancy [Electronic resource] / A. Leiva [et al.] // *Exp. Diabetes. Res.* – 2011. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3226353>. – Date of access: 7.10.2014.
6. PTX3 as a potential endothelial dysfunction biomarker for severity of preeclampsia and IUGR / V. Cozzi [et al.] // *Placenta.* – 2012 Dec. – Vol. 33, N 12. – P. 1039-1044.
7. Circulating endothelium as an indication of vascular injury / C. A. Bouvier [et al.] // *Thrombos. Diathes. Haemorrh.* – 1970. – Vol. 40, (Suppl.). – P. 163-168.
8. Сиренко, А. Н. Диагностическая значимость иммуногормональных взаимосвязей у подростков в раннем периоде первичной туберкулезной инфекции / И. А. Сиренко, А. Н. Зосимов // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.* – 2004. – № 2. – С. 41-45.

Поступила 10.11.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Ковалев Е.В. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Занько Ю.В. – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Яроцкая Н.Н. – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии. Тел. моб.: +375 (29) 713-29-58, e-mail: kovalev-egor@mail.ru – Ковалев Егор Владимирович.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

ВОЗМОЖНОСТИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ И СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛОВУШЕК

ДЯДИЧКИНА О.В., КОРОТИНА О.Л., РАДЕЦКАЯ Л.Е., ГЕНЕРАЛОВ И.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель исследования – сравнить воспроизводимость результатов определения нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) при люминесцентной и световой микроскопии с использованием ДНК-селективных красителей.

Материал и методы. Материалом для исследования явились нейтрофильные гранулоциты, выделенные из периферической крови у женщин с физиологическим течением беременности во 2 и 3 триместрах гестации. Произведена оценка их способности образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки в спонтанном (инкубация 180 минут с физиологическим раствором) и стимулированном (инкубация 180 минут со *Staphylococcus aureus*) вариантах с микроскопической оценкой результатов.

Результаты. Проведен анализ воспроизводимости результатов различных вариантов микроскопии и окраски фиксированных мазков при определении спонтанного и стимулированного уровней образования нейтрофильных внеклеточных ловушек. Были использованы высокочувствительные флуоресцентные красители Sytox Green, DAPI, акридиновый оранжевый и Hoechst 33342. После обработки последними лейкоциты и ДНК ловушки определяли с помощью люминесцентной микроскопии с использованием соответствующих источников излучения и наборов светофильтров. Для световой микроскопии применяли краситель метиловый зеленый. Оптимальным флуоресцентным красителем для определения нейтрофильных внеклеточных ловушек явился Hoechst 33342. Результаты, полученные при люминесцентной микроскопии с использованием Hoechst 33342 и световой микроскопии с красителем метиловый зеленый, статистически не отличались.

Заключение. Световая микроскопия с использованием красителя метиловый зеленый не уступает люминесцентной микроскопии с применением красителя Hoechst 33342 для определения нейтрофильных внеклеточных ловушек и может быть использована в лабораториях любого уровня.

Ключевые слова: нейтрофильные внеклеточные ловушки, врожденный иммунитет, люминесцентная микроскопия, световая микроскопия, Hoechst 33342, метиловый зеленый.

Abstract.

Objectives. To compare the reproducibility of the results of neutrophil extracellular traps (NETs) determination using fluorescence microscopy and light microscopy with DNA selective dyes.

Material and methods. We examined neutrophilic granulocytes isolated from the peripheral blood of women with physiological pregnancy in the 2nd and the 3rd trimesters of gestation. Spontaneous (180 minutes incubation with saline) and stimulated (180 minutes incubation with *Staphylococcus aureus*) ability of neutrophils to form neutrophil extracellular traps was assessed by means of microscopic examination.

Results. Reproducibility results analysis was made after different types of microscopy and fixed smears staining was applied for the determination of spontaneous and stimulated neutrophil extracellular traps production levels. Highly sensitive fluorescent dyes Sytox Green, DAPI, acridine orange and Hoechst 33342 were used. Leukocytes and DNA traps were determined using Hoechst 33342 by means of fluorescence microscopy with appropriate radiation sources and color filters. Examination of stained cells with methyl green dye was carried out by light microscopy. Hoechst 33342 was found to be an optimal fluorescent dye for neutrophil extracellular traps detection. The results obtained by fluorescent microscopy using Hoechst 33342 and light microscopy with methyl green dye were not statistically different.

Conclusion. Assessment of neutrophil extracellular traps by light microscopy with methyl green dye is equivalent to fluorescent microscopy with Hoechst 33342; thus, it can be used in laboratory practice of resource-limited health

care settings.

Key words: neutrophil extracellular traps, innate immunity, fluorescent microscopy, light microscopy, Hoechst 33342, methyl green.

Изучение различных морфологических форм нейтрофильных гранулоцитов и их функциональной активности по-прежнему остается важной задачей практической медицины в связи с активной ролью последних в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета, а также в поддержании гомеостаза организма в целом [1, 2, 3]. В 2004 году описан новый механизм антимикробного действия нейтрофилов – образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps, NETs или НВЛ). Нейтрофильные гранулоциты после взаимодействия с микробными агентами (бактериями, простейшими, клетками грибов), а также с различными индукторами биологической или химической природы (опсонинами, цитокинами, активными формами кислорода при дыхательном взрыве, форбол-12-миристат-13-ацетатом и т.д.) выбрасывают во внеклеточное пространство сетеподобные структуры – НВЛ, в состав которых входят ДНК, гистоны, а также различные белки и ферменты гранул [4]. Было установлено, что образование НВЛ представляет собой один из базовых механизмов противoinфекционной защиты, биологическая функция которого не менее важна, чем фагоцитоз и секреция медиаторов нейтрофилами. Тем не менее, избыток образования НВЛ может приводить к развитию ряда заболеваний: системная красная волчанка [5], малярия, шигеллез [6], периодонтит [7], аппендицит [4], тромбоз вен нижних конечностей [8]. Обнаружено нарушение образования НВЛ и при акушерско-гинекологической патологии, а именно при бактериальном вагинозе, бесплодии, гестозе, антифосфолипидном синдроме [9, 10]. Таким образом, оценка уровня образования НВЛ является ценным диагностическим критерием в лабораторно-клинической практике. Однако применяющиеся в настоящее время методы для определения НВЛ не позволяют широко использовать их при массовых иммунологических исследованиях, так как требуют применения люминесцентной микроскопии с использованием флуоресцентных высокочувствительных красителей к ДНК [4, 10]. Большинство клинико-

диагностических лабораторий городского и районного звена не оснащены люминесцентной микроскопической техникой.

Выявление НВЛ микроскопией в проходящем свете пока активно не применяется. Так, окрашивание по Романовскому-Гимзе не является специфическим на ДНК и выявляет все продукты распада клеток крови независимо от их происхождения. В свою очередь известно, что краситель метиловый зеленый способен специфически связываться с ДНК и может применяться для количественного определения ДНК и фермента ДНКазы в биологических жидкостях [11, 12, 13, 14]. Поэтому световая микроскопия с применением метилового зеленого может использоваться для определения НВЛ как альтернатива люминесцентной микроскопии.

Цель данной работы заключалась в сравнении воспроизводимости результатов определения НВЛ при люминесцентной и световой микроскопии с использованием ДНК-селективных красителей.

Методы

За период с марта по июнь 2014 года в УЗ «Витебская городская акушерско-гинекологическая поликлиника», филиал №1, женская консультация №1 были обследованы 20 здоровых беременных женщин в возрасте 28,5 (25-30) лет. Срок гестации при обследовании составил 217 (206-230) дней. Первобеременными были 9 (45%) женщин, повторобеременными – 11 (55%), из них 2 пациенткам предстояли первые роды, 9 – вторые роды. Акушерский анамнез был отягощен у 6 (30 %) женщин.

В исследование не включались пациентки, имевшие острые и хронические воспалительные процессы с клиническими и/или лабораторными проявлениями заболевания, а также с иммунопатологическими и ревматическими заболеваниями.

Биоматериалом для исследования была выбрана венозная кровь. Для выделения нейтрофилов 5-6 мл венозной крови забирали натощак в пластиковые пробирки с гепарином

в количестве 10-15 Ед на 1 мл крови, отстаивали при 37°C в течение 30 минут под углом 45°, затем в вертикальном положении 15 минут при комнатной температуре. Плазму с клеточными элементами наслаивали на двойной градиент плотности стерильных растворов фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,075-1,077 г/см³, нижнего – 1,093-1,095 г/см³. Объем градиента для каждого образца равнялся 1,5 мл. Через 35 минут центрифугирования при 1500 оборотах в минуту на границе между градиентами появлялось кольцо гранулоцитов. Последние собирали в стерильную центрифужную пробирку, трижды отмывали от градиента стерильным физиологическим раствором хлорида натрия путем центрифугирования при 1000 оборотах в минуту в течение 5 минут и довели до концентрации 5×10⁶ клеток/мл. Для оценки чистоты лейкозвеси использовали окраску по Романовскому – Гимзе, для оценки жизнеспособности клеток – окраску 0,1% раствором трипанового синего. Производили подсчет 100 клеток, результат выражали в процентах. Лейкозвесь содержала не менее 98% нейтрофилов, жизнеспособность клеток была не менее 90%. К 0,1 мл суспензии клеток в концентрации 5×10⁶ клеток/мл добавляли 10 мкл микробной взвеси *Staphylococcus aureus* в концентрации 1×10⁸ бактериальных клеток в 1 мл. Проводили инкубацию смеси в течение 180 мин при температуре 37°C. Пробы для определения базального уровня НВЛ инкубировали в

тех же условиях, но без микроорганизмов. Через 180 мин инкубации из реакционной смеси забирали 20 мкл содержимого и готовили мазки. После высушивания мазки фиксировали одним из стандартных фиксаторов (96% этанолом, 4% параформальдегидом или коммерческими фиксаторами). Для люминесцентной микроскопии использовали краситель Hoechst 33342 в концентрации 5 мкг/мл, Sytox Green 1 мкМ, DAPI 300 нМ, акридиновый оранжевый 4 мкг/мл [15], для световой микроскопии – 5% раствор метилового зеленого, приготовленного на 1% растворе уксусной кислоты. Экспозиция составляла 5 мин. Красители отмывали дистиллированной водой, мазки высушивали. Учет результатов проводили с помощью люминесцентного микроскопа, используя соответствующие светофильтры, иммерсионный объектив 100/1,25; окуляр 10/22 и при помощи светового микроскопа с использованием иммерсионного объектива 100/1,25; окуляра 10/22. Проводили подсчет 100 морфологических единиц и определяли процентное содержание НВЛ. Ядра нейтрофилов, нейтрофильные внеклеточные ловушки, представленные тонкими нитями, занимающими пространство, в 2-3 раза превосходящее диаметр неизменного нейтрофила (рис. 1, 2), в зависимости от красителя окрашивались в голубой (Hoechst 33342, DAPI), зеленый цвет (Sytox Green, акридиновый оранжевый, метиловый зеленый). Цитоплазма гранулоцитов не окрашивалась.

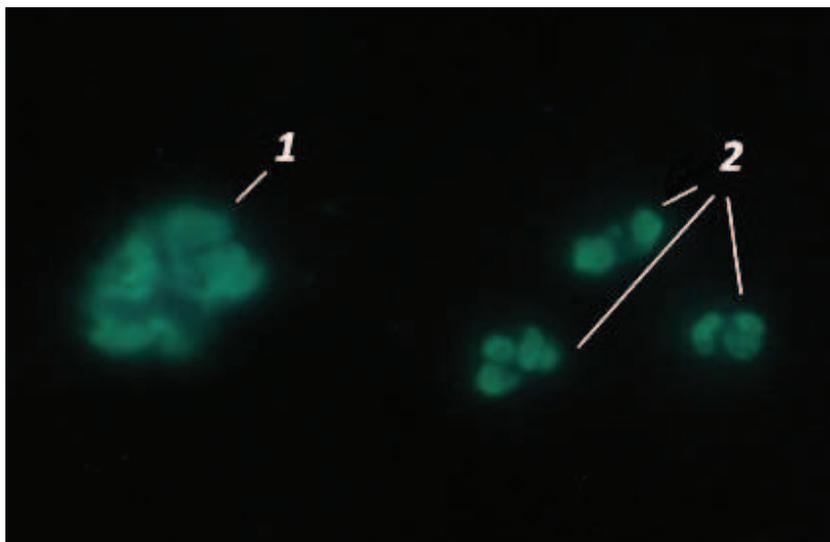


Рисунок 1 – Люминесцентная микроскопия с использованием Hoechst 33342, x100: 1 – НВЛ, 2 – сегментированные ядра нейтрофилов.

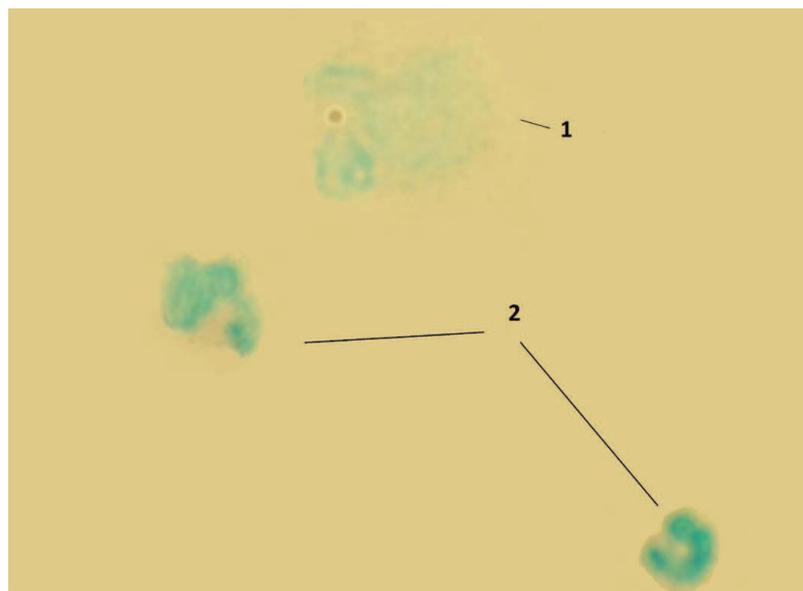


Рисунок 2 – Световая микроскопия с использованием метилового зеленого, х100: 1 – НВЛ, 2 – сегментированные ядра нейтрофилов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных компьютерных программ Statistica for Windows (v. 10.0; Statsoft Inc.). Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1-Q3). О достоверности межгрупповых различий судили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона. Проверка статистических гипотез осуществлялась при критическом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ воспроизводимости результатов различных вариантов микроскопии и окраски фиксированных мазков при определении нейтрофильных внеклеточных ловушек. В настоящее время большинство способов определения ловушек базируется на выявлении внеклеточной ДНК активированных лейкоцитов в реакции со специфическими красителями на ДНК. После обработки последними лейкоциты и ДНК ловушки определяют с помощью люминесцентной микроскопии с использованием соответствующих источников излучения и наборов светофильтров или спектральных детекторов. При этом все эти способы используют высокочувствительные флуоресцентные красители, которые избирательно связывают ДНК ловушек. В нашем исследова-

нии были использованы Sytox Green, DAPI, акридиновый оранжевый и Hoechst 33342. Все красители являются мембранопроникающими, поэтому возможно их использование для окраски как фиксированных, так и нативных препаратов [15].

По результатам проведенного исследования оказалось, что оптимальным красителем для флуоресцентной оценки ловушкообразования является краситель Hoechst 33342. Известно, что данный флюорохром является производным бензимидазола, окрашивает только ДНК, связываясь с аденин-тиминовыми участками в малой бороздке [15]. Hoechst 33342 хорошо растворяется в воде и не изменял свою окраску в зависимости от pH среды. Акридиновый оранжевый, DAPI способны окрашивать не только ДНК, но и РНК, что затрудняет определение НВЛ. Акридиновый оранжевый в зависимости от pH изменял цвет окраски клеточных структур с зеленого до красного. Sytox Green является ДНК-селективным красителем, при окраске не изменял цвет микропрепарата в зависимости от pH среды, хорошо растворялся в водных растворителях. Однако Sytox Green отличается высокой стоимостью в сравнении с красителем Hoechst 33342.

Таким образом, красители Hoechst 33342 явились оптимальными для флуоресцентной оценки ловушкообразования. Тем не менее, до сих пор большинство клинико-диагности-

Таблица 1 – Содержание нейтрофильных внеклеточных ловушек при выбранных способах окраски, Me (Q1-Q3)

Пробы	Количество НВЛ, %	
	Ноеchst 33342, фиксированный препарат, люминесцентный микроскоп, n=17	Метиловый зеленый, фиксированный препарат, световой микроскоп, n=20
Нейтрофилы, инкубированные с физиологическим раствором	13 (7-16)	13 (7-25)
Нейтрофилы, инкубированные со <i>Staphylococcus aureus</i>	16 (10-19)	19 (15-29)

ческих лабораторий городского и районного звена не оснащены флюоресцентной микроскопической техникой, поэтому проведен сравнительный анализ световой микроскопии с использованием метилового зеленого и люминесцентной микроскопии с применением Ноеchst 33342 (табл. 1).

Как видно из таблицы, при люминесцентной микроскопии с использованием красителя Ноеchst 33342 количество НВЛ после инкубации нейтрофилов в течение 180 мин с физиологическим раствором составило 13% (7-16%), при световой микроскопии с окраской метиловым зеленым – 13% (7-25%), ($p>0,05$).

После инкубации нейтрофилов со *Staphylococcus aureus* количество НВЛ статистически значимо увеличилось в сравнении с пробами без индуктора при использовании обеих методик (13% (7-16%) и 16% (10-19%), $p=0,04$; 13% (7-25%) и 19% (15-29%), $p=0,01$). При этом результаты, полученные при использовании люминесцентной и световой микроскопии, не различались. Так, количество НВЛ при люминесцентной микроскопии составило 16% (10-19%), а при световой – 19% (15-29%), ($p>0,05$).

Заключение

Полученные результаты показали, что Ноеchst 33342 является оптимальным по соотношению цены и качества ДНК-селективным красителем при использовании люминесцентной микроскопии для выявления НВЛ. При этом количество обнаруженных НВЛ методом люминесцентной микроскопии с использованием красителя Ноеchst 33342 статистически не различалось с количеством последних при световой микроскопии с применением метилового зеленого. Из этих данных следует, что

световая микроскопия с использованием красителя метилового зеленого не уступает по чувствительности люминесцентной микроскопии с применением красителя Ноеchst 33342 для выявления НВЛ. Кроме того, инактивированная культура *Staphylococcus aureus* оказалась эффективным естественным индуктором образования НВЛ нейтрофилами. В целом, предложенная нами методика определения нейтрофильных внеклеточных ловушек методом световой микроскопии является экономичной альтернативой флюоресцентной микроскопии и может применяться в иммунологических лабораториях любого уровня.

Литература

1. Gura, T. Innate immunity: ancient system gets new respect / T. Gura // Science. – 2001 Mar. – Vol. 291, N 5511. – P. 2068–2070.
2. Долгушин, И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин, О. В. Бухарин. – Екатеринбург : Изд-во УрОРАН, 2001. – 256 с.
3. Пинегин, Б. В. Нейтрофилы: структура и функция / Б. В. Пинегин, А. Н. Маянский // Иммунология. – 2007. – № 6. – С. 374-382.
4. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann [et al.] // Science. – 2004 Mar. – Vol. 303, N 5663. – P. 1532–1535.
5. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis / A. Hakkim [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010 May. – Vol. 107, N 21. – P. 9813–9818.
6. Cytokine-associated neutrophil extracellular traps and antinuclear antibodies in Plasmodium falciparum infected children under six years of age / V. S. Baker [et al.] // Malar J. – 2008 Feb. – Vol. 7. – P. 41.
7. Extracellular neutrophil traps in periodontitis / L. Vitkov [et al.] // Journal of Periodontal Research. – 2009 Oct. – Vol. 44, N 5. – P. 664-672.
8. Fuchs, T. A. Neutrophil extracellular trap (NET)

- impact on deep vein thrombosis / T. A. Fuchs, A. Brill, D. D. Wagner // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2012 Aug. – Vol. 32, N 8. – P. 1777–1783.
9. Neutrophil nets in reproduction: from Infertility to preeclampsia and the possibility of fetal loss / S. Hahn [et al.] // *Front Immunol.* – 2012 Nov. – Vol. 3. – P. 362.
10. Долгушин, И. И. Нейтрофильные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов / И. И. Долгушин, Ю. С. Андреева, А. Ю. Савочкина. – М. : РАМН, 2009. – 208 с.
11. Kurnick, N. B. Methyl green-pyronin; stoichiometry of reaction with nucleic acids / N. B. Kurnick, A. E. Mirsky // *J. Gen. Physiol.* – 1950 Jan. – Vol. 33, N 3. – P. 265–274.
12. Kurnick, N. B. Methyl green. III. Reaction with desoxyribonucleic acid, stoichiometry, and behavior of the reaction product / N. B. Kurnick, M. Foster // *J. Gen. Physiol.* – 1950 Nov. – Vol. 34, N 2. – P. 147–159.
13. Colorimetric determination of DNase I activity with a DNA-methyl green substrate / D. Sinicropi [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1994 Nov. – Vol. 222, N 2. – P. 351–358.
14. Peters, D. L. A method of DNA quantitation for localization of DNA in metrizamide gradients / D. L. Peters, M. E. Dahmus // *Anal. Biochem.* – 1979 Mar. – Vol. 93, N 2. – P. 306–311.
15. Johnson, I. D. The molecular probes handbook : a guide to fluorescent probes and labeling technologies / I. D. Johnson, Michelle T.Z. Spence. – 11th ed. – Life Technologies Corporation, 2010. – 1060 p.

*Поступила 23.10.2014 г.
Принята в печать 05.12.2014 г.*

Сведения об авторах:

Дядичкина О.В. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Коротина О.Л. – аспирант кафедры клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Радецкая Л.Е. – д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Генералов И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии. Тел.раб.: +375 (212) 55-07-72, e-mail: vitebsk1508@gmail.com – Дядичкина Ольга Васильевна.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

АСИРЯН Е.Г.*, ГОЛУБЕВА А.И.**, МАЦУК О.Н.*, МАТЮЩЕНКО О.В.*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

**УЗ «Витебская детская областная клиническая больница», Республика Беларусь

Резюме.

Цель – изучение особенностей анамнеза, клинической картины, результатов лабораторных исследований, а также анализ результатов аллергологического обследования детей с бронхиальной астмой.

Материал и методы. В ходе работы обследовано 144 ребенка с бронхиальной астмой, использовались клинические, лабораторные и инструментальные методы диагностики, проводились кожные скарификационные пробы с бытовыми аллергенами, определялся уровень общего IgE в сыворотке крови.

Результаты. В обследуемой группе детей у 84 (58,3%) пациентов БА имела легкое течение, 60 (41,7%) детей имели БА средней степени тяжести. Давность заболевания менее 2 лет наблюдалась у 56 (38,9%) детей, более 2 лет – у 88 (61,1%) детей. Наследственную отягощенность по аллергопатологии имели 76 (52,8%) детей. Нарушения по обструктивному типу при проведении спирометрии установлены у 20 (13,9%) детей с БА средней степени тяжести. Сопутствующая патология выявлена у 92 (63,9%) детей, достоверно чаще ($p < 0,05$) БА сочеталась с каким-либо другим аллергическим заболеванием. Эозинофилия в общем анализе крови выявлена у 87 (60,4%) детей. Повышение уровня общего IgE (более 100 КЕ/л) в сыворотке крови наблюдалось у 116 (80,6%) детей. Положительные кожные пробы с аллергеном домашней пыли наблюдались у 42 (29,2%) детей, сенсибилизация к *Dermatophagoides pteronyssinus* выявлялась у 46 (31,9%) детей, положительные результаты к *Dermatophagoides farinae* имели 38 (26,4%) детей.

Заключение. В результате проведения клинических и лабораторных исследований при бронхиальной астме у детей выявляются различные особенности, что следует учитывать при постановке диагноза БА, а также для дальнейшего выбора адекватной терапии.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, общий IgE, кожные пробы.

Abstract.

Objectives. To determine the peculiarities of the anamnesis, clinical picture, the results of laboratory investigations and allergic examination of children with bronchial asthma.

Material and methods. We have examined 144 children with bronchial asthma; clinical, laboratory and instrumental methods of diagnosis, skin scratch tests with household allergens have been used and serum level of total IgE has been determined.

Results. In the examined group of children 84 (58,3%) patients had mild asthma and 60 (41,7%) children had its moderate form. The disease was observed for at least 2 years in 56 (38,9%) children, during more than 2 years - in 88 (61,1%) patients. 76 (52,8%) children had a hereditary predisposition to allergy. Violations according to the obstructive type during spirometry were found in 20 (13,9%) children with moderate bronchial asthma. The associated pathology was found in 92 (63,9%) patients. Asthma was reliably more frequently associated with some other allergic disease ($p < 0,05$). Eosinophilia in general blood analysis was detected in 87 (60,4%) children. The increase of total IgE level (more than 100 KU/l) in blood serum was observed in 116 (80,6%) children. Positive skin scratch tests with house dust allergen were observed in 42 (29,2%) children. Sensitization to *Dermatophagoides pteronyssinus* was detected in 46 (31,9%) patients; positive results to *Dermatophagoides farinae* were obtained in 38 (26,4%) children.

Conclusion. As a result of clinical and laboratory studies in asthmatic children various features of the disease are identified. They should be considered while making a diagnosis of bronchial asthma as well as for the further choice of adequate therapy.

Key words: bronchial asthma, children, total IgE, skin tests.

В последние десятилетия бронхиальная астма (БА) является одним из самых частых заболеваний органов дыхания, которое приводит к частичной или полной инвалидности как взрослых, так и детей. Данное заболевание относится к наиболее распространенным хроническим заболеваниям, которым страдает около 300 миллионов людей в мире [1, 2]. Частота встречаемости БА среди детского населения в разных странах составляет от 7 до 30% [3, 4].

Бронхиальная астма – это хроническое заболевание органов дыхания, при котором развивается воспаление стенки дыхательных путей на фоне гиперреактивности бронхов, приводящее к их структурным изменениям. Основными симптомами заболевания являются кашель, затрудненное свистящее дыхание, удушье [5, 6]. Развитие сенсибилизации организма к веществам и соединениям экзогенного и эндогенного происхождения составляет основу для формирования бронхиальной астмы как аллергического заболевания [7]. Среди бытовых аллергенов наиболее частым является домашняя пыль, которая представляет собой комплекс различных аллергенов. Важнейшей составной частью являются аллергены постельных клещей *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, которых выявлено более 35 видов. Они широко распространены в жилых помещениях, обитая в постельных матрацах, принадлежностях, мягкой мебели, коврах [8]. Количество клещей определяют микроскопически, а также по уровню гуанина, который является продуктом их жизнедеятельности. В 1 г домашней пыли может содержаться несколько тысяч особей. Это микроскопические клещи размером 0,1-0,3 мм, их наибольшая численность наблюдается в сентябре-октябре, а также в марте-апреле. Аллергическая БА, ассоциированная с клещевой сенсибилизацией, характеризуется периодами обострения, которые совпадают с пиками вегетации клещей. Эти аллергены часто играют роль в развитии не только астмы, но аллергического ринита, атопического дерматита, крапивницы [8, 9, 10].

В ряде случаев сложно идентифицировать причиннозначимый аллерген, что способствует частым обострениям заболевания, госпитализациям, трудностям в подборе адекватной фармакотерапии. Наиболее часто для

установления этиологического фактора проводят постановку кожных проб с различными аллергенами, а также определение аллерген-специфических IgE, полученные положительные результаты указывают на наличие сенсибилизации [2, 11].

Достаточно часто основное внимание уделяется симптомам астмы, не учитывая наличие сопутствующей патологии, которая может утяжелять течение заболевания, провоцировать приступы. В ряде исследований демонстрируется, что у больных с бронхиальной астмой, с трудом поддающейся лечению, выявляются тяжелые заболевания околоносовых пазух, патология со стороны желудочно-кишечного тракта, рецидивирующие респираторные инфекции [4, 7]. По литературным данным, более чем у 25% взрослых пациентов БА сочетается с аллергическим ринитом [12]. Учитывая эти данные, следует отметить, что адекватная терапия, направленная на лечение сопутствующей патологии, значительно улучшает уровень контроля астмы у таких пациентов.

Методы

В ходе работы обследовано 144 ребенка в возрасте от 6 до 15 лет с диагнозом БА, находившихся на лечении в аллергологическом отделении Витебской детской областной клинической больницы. Группы детей с бронхиальной астмой, включенных в исследование, формировались на основании международных согласительных документов [2, 3]. Обоснование диагноза у всех детей проведено при обследовании в условиях стационара, в специализированном аллергологическом отделении.

Обследование детей проводилось в межприступный период. Пациенты обследуемой группы поступали в стационар для проведения противорецидивной терапии, прохождения курса реабилитации, уточнения диагноза, а также определения тактики дальнейшего лечения и подбора дозы препаратов.

Пациентам проводилось клиническое обследование, которое включало сбор анамнеза, обследование по органам и системам, оценку степени тяжести заболевания, выявление сопутствующей патологии. Проводились лабораторные и инструментальные исследования (общий анализ крови, спирометрия, рентгенография органов грудной клетки).

Аллергологическое обследование включало проведение кожных скарификационных проб (КСП), определение общего IgE, оценку уровня эозинофилов в периферической крови.

Результаты и обсуждение

Все дети обследуемой группы наблюдались по поводу аллергической бронхиальной астмы. У 84 (58,3%) пациентов БА имела легкое течение, 60 (41,7%) детей находилось в стационаре по поводу БА средней степени тяжести. Анализируя данные анамнеза заболевания, следует отметить, что давность заболевания менее 2 лет наблюдалась у 56 (38,9%) детей, более 2 лет – у 88 (61,1%) детей.

В городе проживали 94 ребенка, 50 пациентов были из сельской местности. 36 (25%) детей не соблюдали рекомендованный им гипоаллергенный быт. В комнатах, где проживали дети, находилась старая мебель, книги, старые газеты и журналы, ковры, комнатные растения с землей, у многих имелись домашние животные. 14 детей проживало в общежитии.

Изучив семейный анамнез, следует отметить, что у 76 (52,8%) детей близкие родственники имели аллергические заболевания. Наибольший процент приходился на долю бронхиальной астмы – 24 (16,7%) и атопического дерматита – 18 (12,5%).

легочной звук. Всего у 4 детей при перкуссии грудной клетки выявлялся коробочный оттенок звука, а также притупление в межлопаточной области. При аускультации легких выслушивалось везикулярное дыхание, у 8 детей выявлялось жесткое дыхание, в связи с перенесенной накануне острой респираторной инфекцией.

При проведении спирометрии у 20 (13,9%) детей со средней степенью тяжести бронхиальной астмы выявлялись нарушения легочной вентиляции по обструктивному варианту. У большинства детей объем форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ1) за первую секунду составил 80-90% воздуха, что свидетельствовало об отсутствии бронхиальной обструкции. При рентгенологическом исследовании, проведенном 36 (25%) детям, патологических изменений не было выявлено.

У 92 (63,9%) детей из обследуемой группы выявлена сопутствующая патология. Достоверно чаще ($p < 0,05$) бронхиальная астма сочеталась с каким-либо другим аллергическим заболеванием. У 36 (39,1%) детей с БА установлен аллергический ринит, у 16 (17,4%) пациентов – атопический дерматит, у 10 (10,9%) – лекарственная аллергия. Среди других заболеваний наличие аденоидных вегетаций I-II степени наблюдалось у 8 детей, у 6 детей при осмотре были выявлены гиперплазированные миндалины, у 4 детей в анамнезе была проведена аденотомия. При ультра-

Таблица 1 – Данные семейного анамнеза у детей с БА (n=144)

Семейный анамнез	Количество (%) детей, имеющих родственников с аллергическими заболеваниями
Бронхиальная астма	24 (16,7%)
Атопический дерматит	18 (12,5%)
Аллергический ринит	16 (11,1%)
Поллиноз	12 (8,3%)
Отек Квинке	2 (1,4%)
Крапивница	2 (1,4%)
Лекарственная аллергия	2 (1,4%)
Всего детей с отягощенной наследственностью по аллергической патологии	76 (52,8%)

При объективном обследовании детей, учитывая, что пациенты поступали в межприступный период, частота дыхания соответствовала возрастным нормам. При перкуссии легких в большинстве случаев определялся ясный

звуковым исследованием сердца у 6 детей был выявлен пролапс митрального клапана. При анализе вегетативной реактивности 12 детям выставлен сопутствующий диагноз синдром вегетативной дисфункции.

Фиброзофагогастродуоденоскопия была проведена 44 (30,6%) детям. У 20 (45,5%) пациентов выявлена патология со стороны желудочно-кишечного тракта.

В общем анализе крови у детей у 14 (6,1%) детей наблюдалась гипохромная анемия I степени (гемоглобин в пределах 102-110 г/л, цветовой показатель – 0,6-0,8 ед.). Лейкоцитоз отмечался у 12 детей, у 4 выявлялась ускоренная скорость оседания эритроцитов более 15 мм/час. У 87 (60,4%) детей в общем анализе крови выявлялась эозинофилия (уровень эозинофилов составил 5% и выше).

Повышение уровня общего IgE (более 100 КЕ/л) в сыворотке крови имело место у 116 (80,6%) детей, страдающих БА. Значительные уровни, более 500 КЕ/л, выявлялись у 48 (41,4%) пациентов. Мы проанализировали уровень общего IgE и длительность заболевания. Достоверно чаще ($p < 0,05$) высокие уровни общего IgE, превышающие норму в 5 и более раз, определялись у детей с продолжительностью заболевания более 2-х лет, а также имеющих сопутствующую аллергопатологию (аллергический ринит, атопический дерматит). При БА средней степени тяжести в среднем определялись более высокие концентрации общего IgE, однако у двоих детей уровень общего IgE был в пределах нормы. У 19 пациентов с легким течением заболевания имелись очень высокие уровни общего IgE в сыворотке крови.

Детям обследуемой группы проводились кожные скарификационные пробы (КСП) с бытовыми аллергенами (домашняя пыль, *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*) и эпидермальными аллергенами. В качестве отрицательного тест-контроля использовали пробу с раство-

рителем, положительного – пробу с гистамином. Положительные КСП к домашней пыли наблюдались у 42 (29,2 %) детей: реакцию на +++ и ++++ имели 14 детей, на ++ – 20, и на + – 8. Сенсibilизация к *D. pteronyssinus* по результатам КСП выявлялась у 46 (31,9%) детей: сенсibilизацию на ++++ и +++ имели 16 детей, на ++ – 18, и на + – 12. Положительные результаты к *D. farinae* наблюдались у 38 (26,4%) детей, результаты распределились следующим образом: ++++ и +++ – у 10 детей, ++ – у 18 детей, + – у 10 детей. В большинстве случаев результаты КСП совпадали с данными анамнеза. Однако следует отметить, что у 9 детей пробы с бытовыми аллергенами были отрицательными, в то же время при контакте с ними развивался приступ бронхоспазма.

Диагностика аллергии с помощью кожных тестов не всегда совпадает с данными анамнеза и клинической картиной. По литературным данным ложноотрицательные кожные пробы на аллергены наблюдаются у 15-25% взрослых больных БА и у 30-40% детей, в то же время у 7-10% здоровых лиц наблюдаются ложноположительные результаты [13]. Существуют различные причины таких результатов, например, неправильная техника постановки проб, физиологические особенности кожных покровов в детском возрасте, индивидуальные свойства кожи и др. [13, 14].

Заключение

1. В развитии бронхиальной астмы у детей имеет большое значение наследственная предрасположенность, особенности быта, в которых проживает ребенок.

2. При обследовании детей с бронхиальной астмой следует особое внимание уделять

Таблица 2 – Уровень общего IgE в сыворотке крови у детей с бронхиальной астмой в зависимости от длительности заболевания (n=144)

Уровень общего IgE, КЕ/л	Возраст детей	
	1 группа до 2-х лет (n=56)	2 группа более 2-х лет (n=88)
<100	35,7% (20)	13,6% (12)
100-500	42,9% (24)	45,5% (40)
>500	21,4% (12)	40,9% (36) *

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверные отличия между детьми 1 и 2 групп.

выявлению сопутствующей патологии, которая в ряде случаев может провоцировать приступы и способствовать более тяжелому течению заболевания.

3. Выявление у детей с бронхиальной астмой повышенного уровня IgE в сыворотке крови свидетельствует об IgE-опосредуемом механизме аллергии, что имело место у 116 (80,6%) детей, включенных в обследование. Более высокий уровень общего IgE имеют дети с продолжительностью заболевания более двух лет, а также имеющие сопутствующую аллергопатологию.

4. Результаты кожных скарификационных проб следует сопоставлять с данными анамнеза и результатами других аллергологических обследований для более точного установления этиологического фактора.

Литература

1. The incidence of adult asthma: a review / T. M. Eagan [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* – 2005 Jun. – Vol. 9, N 6. – P. 603-612.
2. Pocket Guide for Asthma Management and Prevention (for Adults and Children than 5 Years) : revised 2014. – Available from: www.ginasthma.org.
3. International consensus on (ICON) pediatric asthma / N. G. Papadopoulos [et al.] // *Allergy.* – 2012. – V. 67. – P. 976-997.
4. Федосеев, Г. Б. Бронхиальная астма / Г. Б. Федосеев, В. И. Трофимов. – СПб. : Нордмедиздат, 2006. – 308 с.
5. Аллергология и иммунология : нац. рук. / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2009. – 656 с.
6. Cantani, A. Pediatric Allergy, Asthma and Immunology / A. Cantani // Springer. – 2008. – P. 706-708.
7. Жерносек, В. Ф. Диагностика и лечение аллергических болезней у детей : справ. / В. Ф. Жерносек, Т. П. Дюбкова. – Минск : РИВШ, 2013. – 120 с.
8. Новиков, Д. К. Бронхиальная астма у взрослых и детей / Д. К. Новиков, В. И. Новикова, Э. А. Доценко. – М. ; Витебск, 1998. – 187 с.
9. Successful management of mite-allergic asthma with modified extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* in a double-blind, placebo-controlled study / J-C. Garcia-Robaina [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* – 2006 Nov. – Vol. 118, N 5. – P. 1026-1032.
10. Study on *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens fingerprinting by two-dimensional immunoblotting / J. Sun [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* – 2005 Feb. – Vol. 115, N 2. – P. 53.
11. Ильина, Е. В. Способы оценки контроля бронхиальной астмы / Е. В. Ильина, О. М. Курбачева, Н. И. Ильина // *Российский аллергологический журнал.* – 2009. – № 2. – С. 6-17.
12. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen) / J. Bousquet [et al.]. – *Allergy.* – 2008 Apr. – Vol. 63, N 86. – P. 8-160.
13. Пампура, А. Н. Диагностика пищевой аллергии у детей: проблемы и пути решения / А. Н. Пампура // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* – 2009. – Т. 54, № 4. – С. 69-77.
14. Аллергология и иммунология / под общей ред. А. А. Баранова, Р. М. Хаитова. – М. : Союз педиатров России, 2010. – 248 с.

Поступила 25.06.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Асирян Е.Г. – к.м.н., доцент кафедры педиатрии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Голубева А.И. – заведующая отделением аллергологии УЗ «Витебская детская областная клиническая больница»;

Мацук О.Н. – к.м.н., доцент кафедры педиатрии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Матющенко О.В. – к.м.н., ассистент кафедры педиатрии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра педиатрии. Тел.моб.: +375 (29) 515-04-86 – Асирян Елена Геннадьевна.

КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ НА ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ УРОВНЕЙ ТУБЕРКУЛИНСВЯЗЫВАЮЩИХ МОНОЦИТОВ

СЕРЕГИНА В.А., БУДРИЦКИЙ А.М.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Туберкулез, согласно оценкам ВОЗ, в настоящее время является угрозой человечеству в глобальном масштабе (ВОЗ, 2010). Поэтому особенно актуально своевременно определить эффективность лечения туберкулеза, так как от этого во многом зависит прогноз и исход заболевания. Критериями клинико-рентгенологического улучшения при лечении туберкулеза легких в настоящее время являются результаты клинических, рентгенологических, лабораторных методов исследования, указывающих на снижение активности туберкулезного процесса. Целью нашего исследования было определение новых критериев оценки эффективности лечения туберкулеза легких на основании определения количества туберкулинсвязывающих моноцитов крови. Уровень туберкулинсвязывающих моноцитов в крови определяли у пациентов с туберкулезом легких с наличием бактериовыделения. Для исследования использовали свежую гепаринизированную кровь пациентов. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов определяли методом проточной цитометрии на аппарате Beckman Coulter FC500, используя аргоновый лазер с длинной волны эмиссии 488 нм. Туберкулин конъюгировали с FITC при помощи реагентов лота НИМФИТЦ.5x2 ОДО «НИКП РЕ-САН» (Беларусь). Статистическую обработку полученных результатов проводили на компьютере с помощью пакетов прикладных программ (Статистика-10). Использовали непараметрический анализ (критерий Манна-Уитни, Вилкоксона, Спирмена). Проведен анализ количества туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с установленным диагнозом туберкулеза легких на основании обнаружения микобактерий туберкулеза в мокроте. Было выявлено, что количество туберкулинсвязывающих моноцитов крови отражает эффективность лечения туберкулеза легких. Повышение его к концу третьего месяца лечения более чем в два раза свидетельствует об эффективности проводимой терапии; у пациентов с наличием множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) микобактерий туберкулеза количество туберкулинсвязывающих моноцитов крови в процессе лечения не меняется; у пациентов, получавших комплексную терапию с применением лекарственного средства циклоферон, выявлено достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов раньше на один месяц, чем у пациентов, не принимавших циклоферон, что может свидетельствовать об эффективности лечения туберкулеза легких с использованием циклоферона.

Ключевые слова: туберкулез, эффективность лечения, туберкулинсвязывающие моноциты.

Abstract.

According to the World Health Organization assessment tuberculosis at the present time is a threat to humanity on a global scale (WHO, 2010). Therefore, it is especially important to duly assess the effectiveness of treating tuberculosis, for it largely determines the prognosis and the outcome of the disease. Currently the criteria of clinico-roentgenologic improvement while treating pulmonary tuberculosis are the results of clinical, roentgenologic, laboratory examination methods, indicating the decrease in active pulmonary tuberculosis process. The aim of our study was to find out new criteria to assess the effectiveness of the treatment of pulmonary tuberculosis on the basis of determining the number of tuberculin-binding blood monocytes. The level of tuberculin-binding monocytes in the blood was determined in patients suffering from pulmonary tuberculosis with bacterioexcretion. Fresh heparinized blood of the patients was used in this research. The number of tuberculin-binding monocytes was determined with tuberculin, conjugated with FITC using reagents of lot (SIMFITC.5x2, SRE «RESAN», Belarus) by means of flow cytometry method on the Beckman Coulter FC500 apparatus. Argon laser with emission wave length of 488 nm was used. Statistical processing of the results was performed on the computer with the help of software sets (Statistica-10). Nonparametric analysis (Mann-Whitney test, Wilcoxon, Spearman criterion) was

used. The analysis of the number of tuberculin-binding monocytes in patients with the diagnosis of pulmonary tuberculosis being made on the basis of the detection of tuberculosis mycobacteria in the sputum was conducted. It has been found that the effectiveness of treatment of pulmonary tuberculosis depends on the number of tuberculin-binding blood monocytes. Its doubling by the end of the third month of treatment testifies to the effectiveness and relevancy of the conducted therapy; in patients with multiple drug resistance the number of tuberculin-binding blood monocytes during treatment didn't change; in patients receiving complex treatment with the use of cycloferon in tablets significant increase in the number of tuberculin-binding monocytes was determined one month earlier than in patients who did not take cycloferon, which can testify to the effectiveness of treatment for pulmonary tuberculosis with the use of cycloferon.

Key words: tuberculosis, efficacy of treatment, tuberculin-binding monocytes.

Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в нашей республике остается напряженной, несмотря на стабилизацию показателей заболеваемости в течение последних лет и наметившуюся тенденцию к их улучшению. В то же время имеет место значительное снижение эффективности лечения. Под критериями клинико-рентгенологического, лабораторного улучшения при лечении туберкулеза легких следует понимать совокупность признаков, указывающих на снижение активности туберкулезного процесса в легких, обусловленных клиническими, рентгенологическими, лабораторными и иммунологическими методами исследования [1]. Основные критерии клинического излечения туберкулеза легких можно определить на основании комплексного обследования пациента: отсутствия клинических признаков туберкулезной интоксикации; нормализации показателей периферической крови; исчезновения локальных признаков активного туберкулеза; стойкого прекращения бактериовыделения, которое подтверждено комплексом бактериоскопических и бактериологических методов исследований; улучшения рентгенологической картины, что выражается в частичном рассасывании изменений в легких; полной нормализации биохимических и иммунологических показателей. При установлении клинического излечения недостаточно ориентироваться на какой-либо один признак. Каждый из перечисленных критериев исследуется параллельно и находится в тесной зависимости от других, поэтому только при их совокупности можно сделать вывод о том, что проведенное лечение было эффективным и наступило клиническое излечение [2]. Применение современных критериев эффективности лечения туберкулеза легких является новым подходом к оценке результатов лечения и мо-

жет быть использовано в случаях отсутствия результатов терапии по вышеуказанным показателям [3, 4, 5, 6]. Использование критериев определения эффективности лечения туберкулеза, основанных на определении динамики количества туберкулинсвязывающих моноцитов в крови, может позволить уже на ранних этапах терапии выделить пациентов с высокой вероятностью развития неблагоприятного исхода специфического процесса для своевременной коррекции мероприятий.

Цель исследования – установление новых критериев оценки эффективности лечения туберкулеза легких, основанных на определении количества туберкулинсвязывающих моноцитов крови.

Методы

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в крови определяли у 53 пациентов с туберкулезом легких, сопровождающимся бактериовыделением. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов определяли методом проточной цитометрии на аппарате Beckman Coulter FC500, используя аргоновый лазер с длиной волны эмиссии 488 нм. Для исследования использовали свежую гепаринизированную венозную кровь пациентов (24 единицы гепарина на 1 миллилитр цельной венозной крови). Для типирования 1×10^6 клеток к 100 мкл гепаринизированной крови добавляли 5 мкл. реагента (моноклональные антитела 2-х компонентной тест-системы «Биоскан – М 1», лот: НИМ 14 – 45.50. CD 14 (R-PE), CD 45 (PE-Cy 5.5) и туберкулин, конъюгированный с FITC при помощи реагентов лота НИМФИТЦ.5x2 ОДО «НИКП РЕСАН» (Беларусь) в соотношении 2:1, перемешивали содержимое в течение 2 - 3 секунд с помощью

встряивателя. Инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре в темноте. После чего добавляли 500 мкл лизирующего раствора и перемешивали содержимое в течение 2-3 секунд. Инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре в темноте. Добавляли 500 мкл буферного раствора и перемешивали содержимое в течение 2-3 секунд. Далее количество туберкулинсвязывающих моноцитов определяли методом проточной цитометрии. Оценивали не менее 20000 клеток. Задействовали каналы и флуоресцентные метки: канал FL1 - флуоресцентная метка туберкулин FITC, канал FL2 - флуоресцентная метка CD14 R-PE. В протоколе устанавливали точечные распределения клеток по осям: FS/SS Ungated (FS/SS), выделяли зону моноцитов, а из зоны моноцитов выделяли туберкулин FITC/CD14 R-PE (FL1/FL2). Расчет уровня туберкулинсвязывающих моноцитов крови проводили по формуле: $A = B \times C / 100$, где:

A - уровень туберкулинсвязывающих моноцитов ($10^9/л$);

B - абсолютное количество моноцитов ($10^9/л$);

C - % туберкулинсвязывающих моноцитов (%).

Полученные результаты записаны в виде: $Me (25\% - 75\%) \times 10^9/л$.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на компьютере, используя пакеты прикладных программ (Статистика-10). Использовали непараметрический анализ (критерий Манна-Уитни, Вилкоксона, Спирмена).

Определение количества туберкулинсвязывающих моноцитов проводили при поступлении, через один, два и три месяца лечения.

Анализ количества туберкулинсвязывающих моноцитов проведен у 53 пациентов с достоверно доказанным туберкулезом легких на основании обнаружения микобактерий туберкулеза в мокроте. Пациенты с туберкулезом легких были разделены на группы:

– группа городских жителей - 28 человек (52,8%) и группа сельских жителей - 25 человек (47,2%);

– группа пациентов - 13 человек (41,9%), у которых установлена множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) микобактерий туберкулеза, и группа пациентов - 39 человек (58,1%), у которых лекарственная чувствитель-

ность микобактерий туберкулеза сохранена;

– группа пациентов - 28 человек (52,8%), у которых при поступлении был выявлен интоксикационный синдром и группа пациентов - 25 человек (47,2%) без признаков интоксикации;

– пациенты с инфильтративной формой туберкулеза легких – 45 (84,9%) человек и диссеминированной формой туберкулеза легких – 8 (15,1%) человек;

– пациенты - 27 человек (50,9%), у которых диагноз туберкулеза легких подтверждался на основании обнаружения микобактерий туберкулеза (МБТ) методом бактериоскопии – 27 человек (50,9%) или посева на плотные питательные среды – 47 человек (88,7%) и пациенты, у которых методом бактериоскопии – 26 человек (49,1%) или посева на плотные питательные среды – 6 человек (11,3%) микобактерии туберкулеза не обнаружены;

– группа пациентов – 28 человек (59,6%), у которых выявлена в процессе лечения положительная клинико-рентгенологическая и лабораторная динамика и группа пациентов – 19 человек (40,4%) без клинико-рентгенологической и лабораторной динамики.

С целью повышения эффективности лечения туберкулеза легких пациенты были разделены на две группы: пациенты - 21 человек (39,6%), которые получали стандартную противотуберкулезную терапию и циклоферон (600 мг три раза в неделю в течение 3 месяцев) и пациенты - 32 человека (50,4%), которые получали противотуберкулезное лечение по стандартным схемам без циклоферона.

Результаты

В результате проведенных исследований было установлено, что у пациентов с туберкулезом легких на протяжении трех месяцев лечения имелось достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов ($p=0,04$), при этом имело место достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов через два и три месяца терапии ($p=0,02$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов при поступлении составило $0,044 (0,006; 0,149) \times 10^9/л$, через один месяц лечения - $0,021 (0,007; 0,192) \times 10^9/л$, через два месяца - $0,05 (0,006; 0,191) \times 10^9/л$, через три месяца - $0,076 (0,022; 0,216) \times 10^9/л$. В итоге показатели

увеличились к концу третьего месяца в 1,7 раза (табл. 1).

Увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов крови у пациентов с туберкулезом легких происходило в результате деградации микобактерий туберкулеза. Образовавшиеся при этом специфические антигены, вероятно, могут стимулировать повышенную экспрессию специфических туберкулинсвязывающих рецепторов на моноцитах, что, по нашему мнению, может быть использовано для контроля эффективности терапии. При анализе уровней туберкулинсвязывающих моноцитов у сельских и городских жителей также выявлены различия в процессе лечения. Достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов по сравнению с исходным у сельских жителей выявлено через два месяца лечения ($p=0,03$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в этой же группе при поступлении составило $0,042 (0,05; 0,141) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,025 (0,009; 0,192) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,093 (0,006; 0,245) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,053 (0,0085; 0,276) \times 10^9/\text{л}$. У городских жителей увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов произошло несколько позже – к концу третьего месяца лечения ($p=0,04$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у городских пациентов при поступлении составило $0,083 (0,014; 0,207) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения снизилось до $0,021 (0,007; 0,200)$

$\times 10^9/\text{л}$, через два месяца до $0,009 (0,002; 0,115) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца резко выросло до $0,122 (0,066; 0,167) \times 10^9/\text{л}$. При этом исходное количество туберкулинсвязывающих моноцитов у сельских жителей при поступлении было ниже, чем у городских, в 1,9 раза. Увеличение уровня туберкулинсвязывающих моноцитов у сельских жителей к концу третьего месяца произошло на 20,8%, а у городских – на 32%. Однако к концу третьего месяца лечения уровень туберкулинсвязывающих моноцитов у сельских жителей оставался в 2,3 раза ниже, чем у городских (табл. 2).

Анализ количества туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с МЛУ микобактерий туберкулеза показал, что достоверных изменений количества туберкулинсвязывающих моноцитов на протяжении трех месяцев лечения не произошло ($p>0,05$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с МЛУ микобактерий туберкулеза при поступлении составило $0,044 (0,004; 0,293) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,192 (0,016; 0,385) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,041 (0,008; 0,232) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,054 (0,006; 0,276) \times 10^9/\text{л}$. Абсолютное количество туберкулинсвязывающих моноцитов в течение трех месяцев лечения увеличилось незначительно – на 17%. При анализе результатов определения количества туберкулинсвязывающих моноцитов в группе пациентов с сохраненной лекарственной чувствительностью микобактерий

Таблица 1 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения у пациентов с туберкулезом легких ($n=53$)

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов ($10^9/\text{л}$)	Медиана (Me)	25%	75%
При поступлении	0,044	0,006	0,149
Ч/з 1 месяц	0,021	0,007	0,192
Ч/з 2 месяца	0,05	0,006	0,191
Ч/з 3 месяца	0,076	0,022	0,216

Таблица 2 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения у сельских и городских жителей

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов ($10^9/\text{л}$)	Сельские жители, $n=28$	Городские жители, $n=25$
При поступлении	0,042 (0,005;0,140)	0,083 (0,014;0,207)
Ч/з 1 месяц	0,025 (0,009;0,192)	0,021 (0,007;0,200)
Ч/з 2 месяца	0,093 (0,006;0,245)	0,009 (0,002;0,115)
Ч/з 3 месяца	0,053 (0,008;0,276)	0,122 (0,066;0,167)

туберкулеза было выявлено достоверное увеличение определяемых показателей через один и три месяца лечения ($p=0,03$), через два и три месяца лечения ($p=0,02$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов этой группы при поступлении составило $0,053$ ($0,007$; $0,149$) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - $0,021$ ($0,006$; $0,141$) $\times 10^9$ /л, через два месяца - $0,050$ ($0,005$; $0,180$) $\times 10^9$ /л, через три месяца - $0,089$ ($0,031$; $0,216$) $\times 10^9$ /л. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов к третьему месяцу по сравнению с началом лечения выросло на 40,5%. Следует отметить, что исходное количество туберкулинсвязывающих моноцитов в группе пациентов с сохраненной лекарственной чувствительностью было несколько выше их количества у пациентов с наличием МЛУ микобактерий туберкулеза. Достоверных различий количества туберкулинсвязывающих моноцитов крови у пациентов с МЛУ микобактерий туберкулеза в процессе лечения не было выявлено, что, вероятно, связано с отсутствием под воздействием противотуберкулезных лекарственных средств деградации микобактерий туберкулеза и последующей повышенной экспрессии специфических туберкулинсвязывающих рецепторов на моноцитах. Это может быть использовано как дополнительный критерий наличия МЛУ микобактерий туберкулеза (табл. 3).

При анализе результатов определения количества туберкулинсвязывающих моноцитов в крови при различном клиническом течении туберкулеза легких было выявлено, что у пациентов с наличием интоксикационного синдрома при поступлении наблюдалось достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов спустя три месяца лечения ($p=0,04$), а также между вторым и третьими месяцами терапии ($p=0,02$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с наличием интоксикационного синдрома при поступлении составило $0,034$ ($0,008$; $0,152$) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - $0,021$ ($0,014$; $0,193$) $\times 10^9$ /л, через два месяца - $0,073$ ($0,005$; $0,261$) $\times 10^9$ /л, через три месяца - $0,124$ ($0,057$; $0,185$) $\times 10^9$ /л. Несмотря на то, что в группе пациентов с наличием интоксикационного синдрома спустя один месяц лечения было выявлено снижение количества туберкулинсвязывающих моноцитов, в последующие второй и третий месяцы лечения произошло его значительное увеличение (в 3,3 раза). У пациентов, не имеющих интоксикационного синдрома при поступлении, достоверных различий количества туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения не выявлено ($p>0,05$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов этой группы при поступлении составило $0,066$ ($0,006$; $0,032$) $\times 10^9$ /л, через один

Таблица 3 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения у пациентов с МЛУ микобактерий туберкулеза (МЛУ+) и без МЛУ микобактерий туберкулеза (МЛУ-)

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов (10^9 /л)	МЛУ (+), n=39	МЛУ (-), n=13
При поступлении	0,044 (0,004; 0,293)	0,053 (0,007; 0,149)
Ч/з 1 месяц	0,192(0,016;0,385)	0,021 (0,006; 0,141)
Ч/з 2 месяца	0,041(0,008;0,232)	0,050 (0,005; 0,180)
Ч/з 3 месяца	0,054(0,006;0,276)	0,089 (0,031; 0,216)

Таблица 4 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов при поступлении с наличием интоксикационного синдрома (+) и без интоксикационного синдрома (-)

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов (10^9 /л)	Интоксикационный синдром (+), n=28	Интоксикационный синдром (-), n=25
При поступлении	0,034 (0,008; 0,152)	0,066 (0,006; 0,151)
Ч/з 1 месяц	0,021 (0,014; 0,193)	0,025 (0,006; 0,201)
Ч/з 2 месяца	0,073 (0,005; 0,261)	0,049 (0,064; 0,180)
Ч/з 3 месяца	0,124 (0,057; 0,185)	0,051 (0,012; 0,247)

месяц лечения - 0,025 (0,006; 0,201) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,049 (0,064; 0,180) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,051 (0,012; 0,247) $\times 10^9$ /л. Спустя один месяц лечения у этих пациентов также было выявлено снижение количества туберкулинсвязывающих моноцитов, однако к концу третьего месяца лечения показатели восстановились до исходного (табл. 4).

При анализе результатов определения количества туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с инфильтративной формой туберкулеза было выявлено достоверное увеличение их через два и три месяца лечения ($p=0,04$), чему предшествовало снижение этих показателей спустя один месяц терапии. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у этой группы пациентов при поступлении составило 0,054 (0,007; 0,151) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - 0,021 (0,009; 0,162) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,051 (0,008; 0,201) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,121 (0,051; 0,247) $\times 10^9$ /л. У пациентов с диссеминированным туберкулезом достоверных различий в количестве туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения выявлено не было ($p>0,05$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в этой группе пациентов при поступлении составило 0,015 (0,004; 0,245) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - 0,031 (0,008; 0,385) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,006 (0,005; 0,115) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,012 (0,006; 0,037) $\times 10^9$ /л. (табл. 5).

При определении количества туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов, у которых микобактерии туберкулеза методом бактериоскопии не были выявлены, установлено, что достоверных изменений количества туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения не произошло ($p>0,05$). В процессе наблюдения в этой группе пациентов количество туберкулинсвязывающих моноцитов колебалось от 0,083 (0,014; 0,208) $\times 10^9$ /л при по-

ступлении, до 0,033 (0,009; 0,216) $\times 10^9$ /л через один месяц лечения, 0,051 (0,009; 0,180) $\times 10^9$ /л через два месяца лечения и 0,123 (0,024; 0,248) $\times 10^9$ /л через три месяца лечения. При определении количества туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов, у которых обнаружены микобактерии туберкулеза при бактериоскопическом исследовании, определялось достоверное увеличение показателя в процессе лечения: при поступлении и через три месяца лечения ($p=0,004$); через два и три месяца лечения ($p=0,009$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в этой группе пациентов при поступлении составило 0,017 (0,004; 0,140) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - 0,021 (0,008; 0,121) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,035 (0,005; 0,246) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,057 (0,012; 0,184) $\times 10^9$ /л. В обеих группах к концу третьего месяца лечения отмечено увеличение уровней туберкулинсвязывающих моноцитов. В группе пациентов с отрицательной бактериоскопией увеличение произошло в 1,5 раза, а в группе пациентов с положительной бактериоскопией - в 3,3 раза. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с положительной бактериоскопией при поступлении составило 0,017 (0,004; 0,140) $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения - 0,021 (0,008; 0,121) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,035 (0,005; 0,246) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,057 (0,012; 0,184) $\times 10^9$ /л. В этой группе пациентов произошло постепенное нарастание количества туберкулинсвязывающих моноцитов в течение трех месяцев лечения. В группе пациентов, при бактериологических посевах у которых из мокроты определялся рост колоний МБТ, было установлено достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов при поступлении и через три месяца лечения ($p=0,04$), а также через два и три месяца терапии ($p=0,02$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов

Таблица 5 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения у пациентов в зависимости от клинической формы туберкулеза легких

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов (10^9 /л)	Инфильтративная форма туберкулеза, n=45	Диссеминированная форма туберкулеза, n=8
При поступлении	0,054 (0,007; 0,151)	0,015 (0,004; 0,245)
Ч/з 1 месяц	0,021 (0,009; 0,162)	0,031 (0,008; 0,385)
Ч/з 2 месяца	0,051 (0,008; 0,201)	0,006 (0,005; 0,115)
Ч/з 3 месяца	0,121 (0,051; 0,247)	0,012 (0,006; 0,037)

в этой группе пациентов при поступлении составило $0,043 (0,006; 0,147) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,027 (0,011; 0,208) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,049 (0,006; 0,202) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,076 (0,022; 0,216) \times 10^9/\text{л}$. У пациентов, у которых при бактериологических посевах из мокроты не был получен рост колоний МБТ, достоверных различий количества туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения выявлено не было, однако имелась тенденция к их увеличению. Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у этих пациентов при поступлении составило $0,079 (0,159; 0,029) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,033 (0,032; 0,007) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,097 (0,150; 0,023) \times 10^9/\text{л}$. В обеих группах спустя один месяц лечения выявлено снижение количества туберкулинсвязывающих моноцитов и их рост в последующие месяцы терапии. В группе пациентов с положительными бактериологическими посевами увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов через три месяца лечения произошло в 1,9 раза, а при отсутствии роста – в 1,2 раза.

При анализе количества туберкулинсвязывающих моноцитов в группе пациентов, у которых выявлена положительная клини-

ко-рентгенологическая, лабораторная динамика, определялись достоверные изменения определяемых показателей через один и три месяца лечения ($p=0,04$), а так же через два и три месяца лечения ($p=0,03$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у этих пациентов составило при поступлении $0,023 (0,006; 0,153) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,019 (0,006; 0,0128) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,023 (0,005; 0,150) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,056 (0,024; 0,184) \times 10^9/\text{л}$. На смену имевшему место снижению количества туберкулинсвязывающих моноцитов через два месяца лечения произошел их рост через три месяца лечения. В группе пациентов, у которых не наблюдалось клинико-рентгенологического, лабораторного улучшения, достоверных различий в количестве туберкулинсвязывающих моноцитов не выявлено ($p>0,05$). В этой группе количество туберкулинсвязывающих моноцитов составило при поступлении $0,07 (0,076; 0,294) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,076 (0,70; 0,317) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,12 (0,261; 0,232) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,11 (0,457; 0,306) \times 10^9/\text{л}$ (табл. 6).

Как показал анализ, у пациентов, получавших в комплексном лечении туберкулеза легких циклоферон, выявлено достоверное

Таблица 6 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с туберкулезом легких в зависимости от клинико-рентгенологической и лабораторной динамики в процессе лечения

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов ($10^9/\text{л}$)	С клинико-рентгенологическим, лабораторным улучшением, n=28	Отсутствие клинико-рентгенологического, лабораторного улучшения, n=19
При поступлении	0,023 (0,006; 0,15)	0,07 (0,056; 0,294)
Ч/з 1 месяц	0,019 (0,006; 0,0128)	0,076 (0,007; 0,317)
Ч/з 2 месяца	0,023 (0,005; 0,150)	0,12 (0,009; 0,232)
Ч/з 3 месяца	0,056 (0,024; 0,184)	0,11 (0,12; 0,306)

Таблица 7 – Количество туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения у пациентов, которые в комплексном лечении использовали и не использовали циклоферон

Количество туберкулинсвязывающих моноцитов ($10^9/\text{л}$)	Комплексная противотуберкулезная терапия с циклофероном, n=21	Стандартная противотуберкулезная терапия без циклоферона, n=32
При поступлении	0,021 (0,006; 0,0074)	0,102 (0,005; 0,210)
Ч/з 1 месяц	0,015 (0,007; 0,033)	0,076 (0,015; 0,244)
Ч/з 2 месяца	0,093 (0,084; 0,245)	0,009 (0,006; 0,146)
Ч/з 3 месяца	0,055 (0,006; 0,149)	0,095 (0,024; 0,306)

увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов в процессе лечения через два и три месяца терапии ($p=0,04$; $p=0,03$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у этих пациентов при поступлении составило $0,021 (0,006; 0,0074) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,015 (0,007; 0,033) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,093 (0,084; 0,245) \times 10^9/\text{л}$, через три месяца - $0,055 (0,006; 0,149) \times 10^9/\text{л}$. У пациентов, которые получали в комплексном лечении только противотуберкулезные препараты, достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов выявлено в более поздние сроки – к концу третьего месяца лечения ($p=0,04$). Количество туберкулинсвязывающих моноцитов у этих пациентов составило при поступлении $0,102(0,005; 0,210) \times 10^9/\text{л}$, через один месяц лечения - $0,076 (0,015; 0,244) \times 10^9/\text{л}$, через два месяца - $0,009 (0,006; 0,146) \times 10^9/\text{л}$ через три месяца - $0,095 (0,024; 0,306) \times 10^9/\text{л}$ (табл. 7).

Заключение

1. Положительная клинико-рентгенологическая и лабораторная динамика лечения туберкулеза легких сопровождается двукратным увеличением количества туберкулинсвязывающих моноцитов крови, что может свидетельствовать об эффективности и адекватности проводимой терапии.

2. У пациентов с наличием множественной лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза количество туберкулинсвязывающих моноцитов крови в процессе лечения достоверно не меняется.

3. В группе пациентов, которые в комплексной терапии получали лекарственное

средство циклоферон, выявлено достоверное увеличение количества туберкулинсвязывающих моноцитов в более ранние сроки, чем у пациентов, которые получали терапию без циклоферона, что может свидетельствовать об эффективности использования циклоферона в лечении туберкулеза легких.

Литература

1. Клинико-лабораторные сопоставления в оценке прогноза лечения больных инфильтративным туберкулезом легких / О. Т. Титаренко [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 5. – С. 31-34.
2. Эффективность лечения больных туберкулезом органов дыхания // М. В. Павлова [и др.] // Пермский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 39-44.
3. Диагностические возможности современных иммунологических тестов при определении активности туберкулезной инфекции у детей / А. А. Старшинова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 8. – С.40-43.
4. Функциональная активность нейтрофилов при туберкулезе легких / Т. Е. Кисина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 221.
5. Level IL 2, IL1b and IL8 in patients with respiratory tuberculosis / L. A. Skvortsova [et al.] // International Union against Tuberculosis and Lung Diseases (IUATLD) : 3-rd Congress of European Region ; 14-th National Congress on Lung Diseases. – М., 2004. – P. 107.
6. Контроль химиотерапии больных туберкулезом органов дыхания с помощью пробы, определяющей бактериостатическую активность крови / О. А. Маничева [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 5. – С. 14-17.

Поступила 27.06.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Серегина В.А. – старший преподаватель кафедры фтизиопульмонологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Будрицкий А.М. – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра фтизиопульмонологии. E-mail: valentina-seregina@mail.ru – Серегина Валентина Александровна.

СРЕДА ОБИТАНИЯ МЕЗОСТИГМАТИЧЕСКИХ КЛЕЩЕЙ СЕМЕЙСТВА LAELAPTIDAE (PARASITIFORMES, MESOSTIGMATA, GAMASINA) В БЕЛАРУСИ

ПРОШИНА Г.А.*, КОХАНСКАЯ С.В.***, БУРАК И.И.*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

**УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова», Республика Беларусь

Резюме.

Семейство Laelaptidae включает большое количество родов и видов. Образ жизни клещей данного семейства очень разнообразен. Паразитические представители семейства Laelaptidae относятся к родам Eulaelaps, Androlaelaps, Laelaps, Hyperlaelaps, Myonyssus.

Цель работы – изучить распределение мезостигматических клещей семейства Laelaptidae по средам обитания в условиях Беларуси. Сборы клещей и обработка материала проводились по общепринятым методикам.

Обследовано 5674 экз. мелких млекопитающих 14-ти видов (насекомоядные и грызуны), 265 гнезд 4-х видов грызунов, 806 экз. насекомых 10-ти видов (жесткокрылые и перепончатокрылые), 613 проб почвы и подстилки в различных биотопах. Собрано и определено 13440 клещей-лелаптид, отнесенных к 39-ти видам. Найденные лелаптиды представлены 10-ю родами, представители которых ведут как свободный (хищники, сапрофаги), так и паразитический (гематофаги) образ жизни. Для некоторых видов характерно смешанное питание.

Акароценозы мелких млекопитающих и их гнезд включают 29 видов клещей-лелаптид (23 – на зверьках, 22 – в гнездах; 16 видов являются общими для зверьков и их гнезд). На зверьках преобладают гематофаги (99,7% от общей численности), а в гнездах – свободноживущие виды лелаптид (55,4% от общей численности). Однако в гнездах грызунов, обитающих в открытых биотопах, процент паразитических клещей гораздо выше, чем в гнездах лесных грызунов.

С насекомыми связано 5 видов клещей-лелаптид, которые являются форезантами и комменсалами жуков-копрофагов и шмелей.

В почве и подстилке обитают 17 видов лелаптид. Вертикальное распределение клещей-лелаптид в почве весьма неравномерно. Наибольшее количество клещей обитает в подстилке (13 видов и 165 экз.). В почве 0-5 см. найдено 58 экз. клещей (12 видов), в почве 5-10 см. – 10 экз. (3 вида), в почве 10-20 см. – 1 экз. (1 вид).

Ключевые слова: мезостигматические клещи, семейство Laelaptidae, среда обитания.

Abstract.

Laelaptidae family includes a considerable quantity of genera and species. The life-style of ticks of this family is very diverse. Parasitic representatives of Laelaptidae family belong to Eulaelaps, Androlaelaps, Laelaps, Hyperlaelaps, Myonyssus genera.

The aim of this work was to investigate the distribution of mezostigmatic ticks of Laelaptidae family over the habitats in the conditions of Belarus. Collection of ticks and material processing were conducted by the standard methods.

5674 specimens of small mammals of 14 species (insectivores and rodents), 265 nests of 4 species of rodents, 806 specimens of insects of 10 species (coleopterous and hymenopterous), 613 samples of soil and litter in various biotopes were investigated.

13440 ticks of laptids referred to 39 species were collected and identified. Lelaptids found belong to 10 genera the representatives of which lead both free (predators, saprophagous), and parasitic (hematophagous) way of life. Mixed food is characteristic of some species.

Acarocenoses of small mammals and their nests include 29 species of laptid ticks (23 - on small animals, 22 - in

the nests; 16 species are common to animals and their nests). Hematophages prevail on small animals (99,7% of the total), and free-living species of Ixodidae – in the nests (55,4% of the total). However, in the nests of the rodents living in the open biotopes, the percentage of parasitic ticks is much higher, than in the nests of woodland rodents. 5 species of Ixodidae ticks are associated with insects which are foreants and commensals of coprophagic bugs and bumble-bees.

17 species of Ixodidae live in soil and litter. The vertical distribution of Ixodidae ticks in soil is highly uneven. The greatest number of ticks inhabit the litter (13 species and 165 specimens). 58 specimens of ticks (12 species) were found in the soil of 0-5 cm, 10 specimens (3 species) in the soil of 5-10 cm, 1 specimen (1 species) in the soil of 10-20 cm.

Key words: meostigmatic ticks, Laelaptidae family, habitat.

Гамазовые клещи – обширная группа, которая включает около 30 семейств свободноживущих и паразитических клещей. Свободноживущие клещи обитают в норах и гнездах зверей и птиц, некоторые виды клещей приспособились к жизни в жилище человека, в различных складских помещениях, на сеновалах, в конюшнях, в птичниках. Наряду со свободноживущими клещами могут обитать и паразитические клещи.

Образ жизни клещей семейства Laelaptidae очень разнообразен. Паразитические представители данного семейства относятся к родам Eulaelaps, Androlaelaps, Laelaps, Hyperlaelaps, Myonyssus, которые могут хранить и передавать возбудителей опасных заболеваний человека и животных: клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, лимфоцитарного хориоменингита, лихорадки Ку, туляремии, чумы [1, 2].

Цель работы – изучить распределение мезостигматических клещей семейства Laelaptidae по средам обитания в условиях Беларуси.

Методы

Материалом для настоящей работы послужили клещи-лелапиды, которые были собраны с мелких млекопитающих, из их гнезд, с насекомых, из почвы и подстилки. Сбор материала проводился в течение 30 лет в различных районах Витебской, Могилевской, Минской, Гродненской, Гомельской и Брестской областей Беларуси. Кроме собственных сборов авторов, был использован материал, любезно предоставленный нам сотрудниками лаборатории паразитологии и почвенной зоологии ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», за что авторы выражают им искреннюю благодарность.

Сборы клещей и обработка материала проводились по общепринятым методикам [1, 3, 4].

Для сравнения и характеристики зараженности животных использовались общепринятые количественные показатели: индекс обилия (ИО), индекс доминирования (ИД), индекс встречаемости (ИВ) [5].

Для почвенных клещей использовалась шкала доминирования, предложенная Энгельманом (1978) [6], согласно которой к эудоминантам (E) относятся клещи, ИД которых больше 10%, к доминантам (D) – ИД 5-10%, к субдоминантам (S) – ИД 2-5%, к рецедентам (R) – ИД 1-2%, к субрецедентам (SR) – ИД меньше 1%.

Клещи были собраны с мелких млекопитающих 14-ти видов, которые относятся к 2-м отрядам: насекомоядные и грызуны. Всего обследовано 5674 экз. зверьков, а также 265 гнезд 4-х видов грызунов (рыжей и обыкновенной полевки, желтогорлой и полевой мышей). Исследовано также 806 насекомых 10-ти видов (отряды жесткокрылые и перепончатокрылые). Обработано 613 проб почвы и подстилки.

Семейство Laelaptidae Berlese, 1922 принадлежит к отряду Parasitiformes, надкогорте Mesostigmata, когорте Gamasina.

Результаты и обсуждение

С мелких млекопитающих, из их гнезд, с насекомых, из почвы и подстилки нами было добыто, определено и изучено 13440 клещей-лелапид, которые представлены 10-ю родами (Laelaptidae gen. sp., Hypoaspis, Androlaelaps, Eulaelaps, Laelaps, Hyperlaelaps, Myonyssus, Ololaelaps, Laelapsis, Alloparasitus) и отнесены к 39-ти видам: Laelaptidae gen. sp., Hypoaspis sp., H.(Hypoaspis) krameri, H.(Geolaelaps) s.

str., Н.(G.) heselhausi, Н.(G.) helianthi, Н.(G.) aculeifer, Н.(G.) brevipilis, Н.(G.) lubrica, Н.(G.) kargi, Н.(G.) praesternalis, Н.(Cosmolaelaps) cuneifer, Н.(C.) vacua, Н.(C.) acuta, Н.(Pneumolaelaps) s. str., Н.(P.) bombicolens, Н.(P.) breviseta, Н.(P.) hyatti, Н.(Gymnolaelaps) austriacus, Н.(Euandrolaelaps) sardous, Н.(E.) karawaiewi, Androlaelaps glasgowi, A. casalis, Eulaelaps stabularis, Laelaps muris, L. multispinosus, L. algericus, L. clertionomydis, L. hilaris, L. agilis, L. pavlovskiyi, Hyperlaelaps arvalis, Нr. amphibiis, Myonyssus rossicus, Ololaelaps placentula, O. veneta, Laelapsis astronomicus, L. markewitschi, Alloparasitus oblongus. Представители этих родов ведут как свободный (хищники, сапрофаги), так и паразитический (гематофаги) образ жизни. Для некоторых видов характерно смешанное питание. Согласно результатам анализа наших материалов, клещи данного семейства составляют 41,9% от общего числа гамазин.

Анализ пищевой специализации найденных представителей семейства Laelaptidae показал, что кровососущие паразиты среди них представлены 13-ю видами, остальные 26 видов клещей являются свободноживущими. Паразитические лелапиды преобладают над свободноживущими (84,29% и 15,71% соответственно). По шкале Энгельмана к эвдоминантам относятся облигатный гематофаг *L. agilis* (ИД - 46,29%), факультативный гематофаг *A. glasgowi* (ИД - 12,96%). Доминируют 3 вида лелапид: *E. stabularis* (ИД - 9,72%), *H. heselhausi* (ИД - 7,31%), *L. pavlovskiyi* (ИД - 7,12%). К субдоминантам можно отнести *L. clertionomydis*, *Hr. arvalis*, *H. krameri* (ИД от 2,29% до 2,46%). Рецедентами являются *L. hilaris*, *Нуроаспис* sp., *H. aculeifer* (ИД от 1,83% до 1,45%). Остальные виды отнесены к субрецедентам (ИД меньше 1%).

На мелких млекопитающих нами собран и определен 10151 экз. клещей-лелапид, которые представлены 9-ю родами и относятся к 23 видам: *Laelaptidae* gen. sp. - 1 вид, *Нуроаспис* - 8 видов, *Androlaelaps* - 2 вида, *Eulaelaps* - 1 вид, *Laelaps* - 6 видов, *Hyperlaelaps* - 2 вида, *Myonyssus* - 1 вид, *Ololaelaps* - 1 вид, *Alloparasitus* - 1 вид. Общий ИО лелапид на зверьках - 1,79. *Laelaptidae* составляют 77,1% от общего количества гамазин на зверьках. Наиболее разнообразным в видовом отношении является род *Нуроаспис* (5 подродов). Эти

клещи по абсолютной численности составляют 0,27%. Род представлен хищными клещами, которые используют тело зверька в качестве транспортного средства (форезанты) или как место охоты за своей добычей. Подобные связи можно охарактеризовать как типичный комменсализм и форезию. В целом, свободноживущие лелапиды на зверьках представлены 11-ю видами (0,3% от общей численности). Помимо рода *Нуроаспис* к ним относятся клещи родов *Ololaelaps*, *Alloparasitus* и *Laelaptidae* gen. sp. Подавляющее большинство лелапид представлены кровососущими паразитами, как факультативными, так и облигатными. Они составляют 99,7% от общей численности *Laelaptidae* и представлены 12-ю видами. Среди паразитов наиболее разнообразный и многочисленный - род *Laelaps*. Численность клещей этого рода составляет 76,96%. Наиболее массово на зверьках представлен *L. agilis* (ИД 61,23%). ИВ и ИО у этого вида также высокие (11,63% и 1,0953 соответственно).

В гнездах мелких млекопитающих было обнаружено 22 вида клещей *Laelaptidae*. Количество их - 2714 экз., что составляет 21,5% от общей численности гамазин в гнездах. Общий ИО лелапид в гнездах - 10,24. Клещи представлены 9-ю родами: *Нуроаспис* - 11 видов, *Androlaelaps* - 2 вида, *Eulaelaps* - 1 вид, *Laelaps* - 3 вида, *Hyperlaelaps* - 1 вид, *Myonyssus* - 1 вид, *Ololaelaps* - 1 вид, *Laelapsis* - 1 вид, *Alloparasitus* - 1 вид. Наиболее разнообразным в видовом отношении и многочисленным является род *Нуроаспис* - 55,03%. Этот род в гнездах включает 5 подродов. Свободноживущие клещи в гнездах представлены 14-ю видами и составляют 55,4% от общей численности лелапид. Паразитами являются 8 видов, в количественном отношении они составляют 44,6%.

Анализ данных об акарофауне гнезд отдельных видов грызунов показал, что наблюдается явная закономерность: в гнездах грызунов, обитающих в открытых биотопах, процент паразитических клещей гораздо выше (80,87% у обыкновенной полевки, 85,46% у полевой мыши). У грызунов, обитающих в лесных биотопах, акароценоз гнезда включает гораздо меньшее количество паразитических клещей (14,38% у рыжей полевки, 20,51% у желтогорлой мыши).

Следует также отметить, что 16 видов клещей встречается как на зверьках, так и в

гнездах. В большинстве своем это хищники и виды со смешанным питанием. К последним относятся *A. glasgowi*, *A. casalis*, *E. stabularis*, которые могут питаться кровью хозяина, но их нормальное развитие и размножение возможно только при питании другими членистоногими. Облигатные же гематофаги в гнездах если и встречаются, то в единичных экземплярах.

Между гамазовыми клещами и насекомыми существуют такие формы паразитических связей, как комменсализм, паразитизм, форезия. Чаще всего форезия сочетается либо с комменсализмом, либо с паразитизмом. На насекомых нами обнаружено 5 видов клещей-лелаптит, которые являются форезантами и комменсалами своих хозяев. На лесных навозниках найдено 2 вида лелаптит, на жуках-носорогах – 1 вид, на шмелях – 3 вида лелаптит. Лелаптиты составляют 12,1% от общей численности гамазин, найденных нами на насекомых.

Из проб почвы и подстилки из различных районов Беларуси нами было извлечено и изучено 234 экз. клещей семейства Laelaptidae. Эти клещи относятся к 5-ти родам и принадлежат 17-ти видам (*Hypoaspis* – 11 видов, *Androlaelaps* – 1 вид, *Ololaelaps* – 2 вида, *Laelapsis* – 2 вида, *Alloparasitus* – 1 вид). Наибольшим видовым разнообразием отличается род *Hypoaspis*, который включает 3 подрода. По абсолютной численности клещи этого рода составляют 85,03%. Остальные роды лелаптит представлены 1-2 видами и в количественном отношении составляют: *Ololaelaps* – 8,99%, *Laelapsis* – 3,42%, *Alloparasitus* – 2,14%, *Androlaelaps* – 0,43%.

Согласно шкале Энгельмана к эудоминантам в почвах Беларуси относятся *H. aculeifer* (ИД 58,55%). К доминантам принадлежат 2 вида - *H. vacua* (ИД 7,69%) и *O. placentula* (ИД 5,56%). В сумме эти виды составляют 13,25%. Субдоминантами являются *Hypoaspis* sp., *H. praesternalis*, *O. veneta*, *H. heselhausi*, *L. astronomicus*, *A. oblongus* (ИД от 4,79% до 2,14%). В сумме эти виды составляют 21,37% от общей численности. К рецедентам можно отнести *Geolaelaps* s. str., *H. cuneifer* (ИД 1,71% и 1,28% соответственно), которые в сумме составляют 2,99%. Остальные 6 видов имеют ИД меньше 1% и являются субрецедентами, их доля составляет 3,84% от общей численности.

Вертикальное распределение клещей-лелаптит в почве весьма неравномерно. Наибольшее количество клещей (165 экз.) обитает в подстилке (13 видов). В почве 0-5 см найдено 58 экз. клещей (12 видов), в почве 5-10 см – 3 вида клещей (10 экз.), в почве 10-20 см – 1 вид (1 экз.).

Заключение

В Республике Беларусь на мелких млекопитающих, в их гнездах, на насекомых, в почве и подстилке обитают 39 видов клещей, относящихся к 10-ти родам семейства Laelaptidae Berlese, 1982.

С мелкими млекопитающими связаны 23 вида лелаптит, которые представлены 9-ю родами: Laelaptidae gen. sp. – 1 вид, *Hypoaspis* – 8 видов, *Androlaelaps* – 2 вида, *Eulaelaps* – 1 вид, *Laelaps* – 6 видов, *Hyperlaelaps* – 2 вида, *Myonyssus* – 1 вид, *Ololaelaps* – 1 вид, *Alloparasitus* – 1 вид. Клещи родов *Androlaelaps*, *Eulaelaps*, *Laelaps*, *Hyperlaelaps* и *Myonyssus* (12 видов) – паразиты и составляют 99,7% от общей численности (из 10151 экз. клещей 10117 экз. клещей являются паразитами).

В гнездах зверьков найдено 22 вида клещей, которые относятся к 9-и родам: *Hypoaspis* – 11 видов, *Androlaelaps* – 2 вида, *Eulaelaps* – 1 вид, *Laelaps* – 3 вида, *Hyperlaelaps* – 1 вид, *Myonyssus* – 1 вид, *Ololaelaps* – 1 вид, *Laelapsis* – 1 вид, *Alloparasitus* – 1 вид. К паразитам относятся 8 видов клещей (род *Androlaelaps*, *Eulaelaps*, *Laelaps*, *Hyperlaelaps*, *Myonyssus*), которые составляют 44,6% от общей численности (всего клещей в гнездах было обнаружено 2714 экз., среди которых 1211 экз. клещей являются паразитами).

В гнездах грызунов, обитающих в открытых биотопах, процент паразитических клещей гораздо выше (80,87% у обыкновенной полевки, 85,46% у полевой мыши). У грызунов, обитающих в лесных биотопах, акароценоз гнезда включает гораздо меньшее количество паразитических клещей (14,38% у рыжей полевки, 20,51% у желтогорлой мыши).

На насекомых обнаружено 15 видов клещей-лелаптит, которые являются форезантами и комменсалами жуков-копрофагов и шмелей.

В почве и подстилке было найдено и изучено 17 видов клещей-лелаптит. Клещи семейства Laelaptidae в почвах относительно редки

и немногочисленны (в подстилке обнаружено 165 экз. клещей, в почве 0-5 см - 58 экз. клещей, в почве 5-10 см – 10 экз. клещей, в почве 10-20 см – 1 экз.). Предпочитают лелаптиды подстилку и верхний слой почвы (0-5 см).

Литература

1. Брегетова, Н. Г. Гамазовые клещи (Gamasoidea) : крат. определитель / Н. Г. Брегетова. – М.; Л. : Изд-во АН СССР, 1956. – 247 с.
2. Земская, А. А. Паразитические гамазовые клещи и их медицинское значение / А. А. Земская. – М. : Медицина, 1973. – 167 с.
3. Жмаева, С. М. Кровососущие клещи: общие вопросы сбора и обработки материалов / С. М. Жмаева, А. А. Земская, Е. Г. Шлугер // Методы изучения природных очагов болезней человека. – М. : Медицина, 1964. – С. 54-68.
4. Высоцкая, С. О. Методы сбора обитателей гнезд грызунов / С. О. Высоцкая. – М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1953. – 48 с.
5. Беклемишев, В. Н. Термины и понятия, необходимые при количественном изучении популяции эктопаразитов и нидиколов / В. Н. Беклемишев // Зоологический журнал. – 1961. – Т. 40, вып. 2. – С. 149-158.
6. Engelmann, H.-D. Zur Dominanzklassifizierung von Bodenartropoden / H.-D. Engelmann // Pedobiologia. – 1978. – Vol. 18, N 5/6. – P. 378-380.

Поступила 29.05.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Прошина Г.А. - ассистент кафедры общей, физической и коллоидной химии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Коханская С.П. - старший преподаватель кафедры зоологии УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»;

Бурак И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра общей, физической и коллоидной химии. Тел. моб.: +375 (29) 710-18-06, e-mail: proshina.galina@mail.ru – Прошина Галина Александровна.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «АНОЛИТ НЕЙТРАЛЬНЫЙ»

БУРАК И.И., МИКЛИС Н.И., ШИРЯКОВА Т.А., ГРИГОРЬЕВА С.В.,
ЧЕРКАСОВА О.А., ЮРКЕВИЧ А.Б.,

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

В статье приводится гигиеническая оценка анолита нейтрального, полученного на отечественной электрохимической установке типа «Аквамед», для дезинфекции поверхностей помещений, производственного и санитарно-технического оборудования, посуды, предметов ухода, уборочного инвентаря в больницах, аптеках, а также обеззараживания воды в бассейнах и воды сточной на локальных и городских очистных сооружениях. Результаты исследования позволяют заключить, что анолит нейтральный обладает достаточным уровнем бактерицидной активности. Так, фактор редукции в количественном суспензионном тесте в отношении стандартных культур микроорганизмов был 5,2-7,08 lg, в отношении *M. terrae* - 6,17-6,64 lg. Средство показало высокую эффективность при дезинфекции санитарно-гигиенической одежды с I степенью загрязнения на фоне низкой деструктивной активности. По выраженности местно-раздражающих свойств на кожу, раздражающего действия на слизистые оболочки анолит нейтральный обладает слабой аллергенной активностью и не обладает токсическими свойствами при ингаляционном воздействии в насыщающей концентрации паров. Применение анолита нейтрального для обеззараживания сточных вод обусловило снижение общего микробного числа, лактозоположительных кишечных палочек и коли-индекса по сравнению с необеззараженными сточными водами, что является свидетельством эффективной дезинфекции. Оценка токсичности с использованием теста на бактериях, дафниях и водорослях выявила, что анолит нейтральный с содержанием остаточного свободного хлора 1,7 мг/дм³ обладал допустимой степенью токсичности, а сточные воды, обработанные им, не проявили острого токсического действия. Антимикробная и вирулицидная эффективность обработанной анолитом воды сохраняется при содержании свободного остаточного хлора в пределах 0,1 - 0,3 мг/дм³, что расширяет возможность его использования при дезинфекции воды плавательных бассейнов для детей. Применение данного средства для проведения санитарно-гигиенических мероприятий обусловило сокращение денежных расходов в 5-17,5 раз по сравнению с традиционными средствами.

Ключевые слова: анолит, дезинфекция, качество, безопасность, эффективность.

Abstract.

The hygienic assesment of neutral anolyte received on the domestic electrochemical installation «Aquamed», for the disinfection of the surfaces of premises, industrial and sanitary-technical equipment, utensils, cleaning stock in hospitals, drugstores, and also water disinfection in the swimming-pools and sewage at local and city treatment facilities is presented in this article. The results of the research allow to conclude, that neutral anolyte possesses the sufficient level of bactericidal activity, since in the quantitative suspension test concerning standard cultures of microorganisms the reduction factor was 5,2-7,08 lg, concerning *M. Terrae* – 6,17-6,64 lg. The solution demonstrated high efficiency on disinfection of sanitary-hygienic clothes with the first degree of contamination against the background of low destructive activity. The expressiveness of local-irritating properties on the skin, irritating action on mucous membranes testify to the fact that neutral anolyte has weak allergenic activity and does not possess any toxic properties on inhalation influence in the saturating concentration of steams. The application of neutral anolyte for the disinfection of sewage has caused the decrease in the total microbial count, lactose positive *E. Coli* and coli-index in comparison with nontreated sewage which is the evidence of effective disinfection. The estimation of toxicity with the use of the test on bacteria, daphnias and seaweeds has revealed, that neutral anolyte with residual free chlorine content of 1,7 mg/dm³ possessed the admissible degree of toxicity, and the sewage treated with it did not show any acute toxic action. The antimicrobial and virucide efficiency of the water

treated with neutral anolyte remains on free residual chlorine content within the limits of 0,1–0,3 mg/dm³ which expands the possibility of its use while disinfecting water of the swimming-pools for children. The application of the given solution for sanitary and hygienic actions brought about 5-17,5 times reduction of expenses in comparison with the traditional disinfectants.

Key words: anolyte, disinfection, quality, safety, efficiency.

Несмотря на широкий ассортимент химических дезинфицирующих средств, в отечественной практике традиционно препаратами выбора являются дезинфектанты органической и неорганической природы, основным действующим началом которых является хлор. Хлор достаточно полно изучен в токсикологическом отношении, обладает дезинфицирующими, отбеливающими и моющими свойствами. При проведении дезинфекционных мероприятий в организациях здравоохранения относительно возбудителей кишечных и капельных инфекций, гнойно-септических осложнений используются дезинфектанты с концентрацией активного хлора 0,25-0,31%, в отношении энтеровирусных инфекций, вирусного гепатита, оспы – 0,75-0,93%, туберкулеза, микозов, для генеральной уборки в операционных, перевязочных, процедурных – 1,25-1,58% активного хлора.

В отношении многих бактерий и вирусов минутное воздействие хлора с содержанием 1 мг/дм³ оказывает губительное действие. В больших концентрациях хлор оказывает раздражающее, прижигающее действие, может вызвать некроз тканей, а затем первичное токсико-химическое воспаление, поражает слизистую верхних дыхательных путей и бронхов, а при длительном воздействии воспаление распространяется на глубокие отделы дыхательных путей. При отравлении хлором могут возникать рефлекторные изменения в деятельности сердца, дыхательного и сосудодвигательного центров [1].

В настоящее время разработаны электрохимически активированные растворы, содержащие активные формы хлора и кислорода, в частности, натрия гипохлорит, анолит и другие. Анолиты при значениях рН, близких к нейтральным, содержат комплекс оксидантов, включающих кислоту хлорноватистую, гипохлорит-ион, озон, пероксид водорода и другие метастабильные соединения пероксидного типа. Концентрация активного хлора в

нейтральных анолитах составляет сотые доли процента, благодаря чему существенно уменьшается вероятность образования токсичных галогеносодержащих соединений. Анолиты типа АНК с концентрацией активного хлора 0,02-0,09%, полученные на установках «СТЭЛ», относятся к IV классу токсичности. Их действующие вещества являются зубиотиками, схожими с вырабатываемыми в организме при реакциях фагоцитоза. Анолит АНК хорошо совместим с тканями организма, может применяться для аппликационного лечения гнойных ран [2, 3, 4, 5]. Разработаны модификации анолита АНК, не обладающие коррозионным действием на металлические изделия при холодной стерилизации. Сообщений о наличии микрофлоры, резистентной к анолиту АНК, нет [6].

Электрохимически активированные растворы в настоящее время широко используются в организациях здравоохранения, на предприятиях торговли, общественного питания, коммунального хозяйства. В Республике Беларусь для дезинфекции применяются анолиты, полученные путем электрохимической обработки воды с добавлением 1-5 г/дм³ натрия хлорида на отечественных электрохимических установках типа «Аквamed».

Анолит нейтральный, полученный на разработанной нами электрохимической установке, перспективен для дезинфекции поверхностей помещений, производственного и санитарно-технического оборудования, посуды, предметов ухода, уборочного инвентаря в больницах, роддомах, диспансерах, поликлиниках, амбулаториях, аптеках, контрольно-аналитических лабораториях, предприятиях фармацевтической промышленности, детских садах, школах, колледжах, университетах, банях, парикмахерских, бассейнах, гостиницах, общежитиях, а также обеззараживания воды на водозаборных станциях, в бассейнах и воды сточной на локальных и городских очистных сооружениях. Однако качество, безопасность

и эффективность электрохимически активированного дезинфицирующего раствора «Анолит нейтральный» изучена недостаточно.

Целью настоящей работы является оценка электрохимически активированного дезинфицирующего раствора «Анолит нейтральный» по химико-аналитическим показателям качества, антимикробной активности, токсикологическим показателям безопасности и экономической эффективности.

Методы

Электрохимически активированный раствор анолита нейтрального (далее - АН) получали на установке «Аквamed» производства ЧНПУП «Акваприбор» (г. Гомель, Республика Беларусь) из исходного 0,3% водный раствор натрия хлорида с водородным показателем (рН) 6,7–7,2, содержанием активного хлора ($C_{ак}$) 200 - 400 мг/дм³.

Выполнено 6 серий опытов. В первой серии определяли антимикробную, в т.ч. туберкулоцидную и вирулицидную активность АН в качественном и количественном суспензионных тестах с использованием тест-культур *E.coli* ATCC 11229, *S.aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 15442, *C.albicans* ATCC 10231, *Mycobacterim terrae* ATCC 15755, вируса ЕСНО 6, стандартизированных до 109 КОЕ/см³ [7, 8].

Качество химической дезинфекции определяли в качественном эксперименте на тест-носителях. Для изготовления тест-носителей использовали хлопчатобумажную ткань, промытую в очищенной воде, разрезанную на образцы по 1 см², стерилизованную в автоклаве и высушенную. Стерильные образцы помещали в бактериальную суспензию, дважды переворачивали и оставляли на 15 мин. Зараженные в тест-культурах *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *P.mirabilis* ATCC 14153, *C.albicans* ATCC 10231 образцы помещали в чашки Петри и заливали на 30, 45, 60, 120 и 180 мин 10 см³ раствором АН. Воздушные пузырьки удаляли несколькими переворачиваниями тест-носителей. По окончании дезинфекционной фазы тест-носители извлекали из дезинфицирующих растворов и однократно промывали в 10 см³ 0,5% водного раствора натрия тиосульфата, после чего переносили в 10 см³ жидкой среды для контроля стерильности.

Инкубировали в течение 48 ч при температуре +37°C. В качестве контрольной проверки тест-носители заливали водой очищенной и высевали после наибольшей экспозиции.

Во второй серии опытов изучали токсиколого-гигиенические показатели безопасности АН. Токсичность, опасность, кожно-раздражающее, сенсibiliзирующее действие, раздражающее действие на конъюнктиву глаз, исследовали на лабораторных животных [9, 10].

В третьей серии изучалась эффективность обеззараживания сточных вод АН. В необеззараженных и обеззараженных сточных водах городских очистных сооружений изучали общее микробное число (ОМЧ) КОЕ/см³, коли-индекс (Кл./л) и количество лактозоположительных кишечных палочек (ЛКП) в 1 дм³ по общепринятым методикам [11]. В контроле для обеззараживания сточных вод использовали газообразный хлор по стандартной технологии.

Для оценки токсичности АН использовался люминесцентный бактериальный тест, тест на ракообразных (дафниях) и водорослях. Эксперимент проводился с применением батареи чувствительных биотестов из тест-объектов, представляющих основные трофические уровни гидробионтов (ракообразные – дафнии *Dafnia magna* и водоросли хлорелла *Chlorella vulgaris*), а также на бактериях. Исходным материалом для проведения исследований являлись лабораторные генетически однородные культуры гидробионтов из рабочей коллекции РУП «Научно-практический центр гигиены». Для исследований готовили водные рабочие растворы препаратов таким образом, чтобы содержание остаточного свободного хлора составляла 1,7 мг/дм³.

Проводилась оценка токсичности сточных вод, обработанных АН в тестах на ракообразных (дафниях) и водорослях. Для исследований в сточные воды вносили рабочие растворы с таким расчетом, чтобы содержание остаточного свободного хлора в сточных водах составляла 1,7 мг/дм³. Во всех исследованиях приготовление исследуемых субстратов осуществляли непосредственно перед биотестированием. Исследования по определению токсичности с использованием люминесцентного бактериального теста, теста на дафниях и водорослях проводили по стандартным методикам [12, 13, 14, 15].

В четвертой серии обосновывали дозу остаточного хлора в воде плавательных бассейнов различных видов при обеззараживании растворами АН в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.2.10-39-2002 [16].

Эффективность применения анолитов для проведения санитарно-гигиенических мероприятий оценивали в пятой серии опытов в больницах и аптеках г. Витебска, плавательных бассейнах г. Витебска, Гомеля и Новополоцка, прачечной ОАО «Объединение «Лотос». Определяли экономическую эффективность по снижению материальных затрат на получение и применение АН по сравнению с традиционными дезинфицирующими средствами.

Результаты

Результаты исследования показали, что дезинфицирующее средство «Анолит нейтральный» представляет собой прозрачную бесцветную жидкость со слабым запахом хлора, рН 6,2-7,2. Основными действующими компонентами средства являются высокоактивные кислородные соединения хлора, определяемые как активный хлор. АН применяется в нативном виде для дезинфекции поверхностей помещений, производственного и санитарно-технического оборудования, посуды, белья, предметов ухода, уборочного инвентаря в больницах, роддомах, диспансерах, поликлиниках, амбулаториях, аптеках, контрольно-аналитических лабораториях, предприятиях фармацевтической промышленности, детских садах, школах, колледжах, университетах, банях, парикмахерских, бассейнах, гостиницах, общежитиях, а также обеззараживания воды на водозаборных станциях, в бассейнах и воды сточной на локальных и городских очистных сооружениях. Дезинфекцию проводят способами протирания, замачивания, погружения и орошения. Средство не агрессивно в отношении обрабатываемых объектов из стекла, резины, пластмассы, металла и других материалов, ограничений для применения не имеет. Срок годности средства после изготовления - 14 суток. Хранение в проветриваемом помещении, обеспечивающем защиту от прямых солнечных лучей, в герметично укупоренной упаковке, вдали от источников тепла, при температуре от 0 до +25°C. Средство используют

однократно без разведения, повторное использование не допускается.

Поверхности помещений, производственное и санитарно-техническое оборудование равномерно смачивают анолитом 2 раза путем протирания ветошью или путем орошения с интервалом 15 мин. Расход средства составляет 100 см³/м² поверхности при протирании, 150-300 см³/м² поверхности - при орошении. После дезинфекции обработанные объекты промывают водопроводной водой. Изделия и части производственного оборудования, посуду, резиновые коврики полностью погружают в емкость со средством. Слой дезинфицирующего раствора над ними должен быть не менее 1 см. По окончании дезинфекции изделия промывают водопроводной водой. Загрязненное бельё, спецодежду персонала, а также уборочные материалы замачивают в ёмкости со средством из расчёта 4-5 дм³/кг сухого материала. Предметы ухода за больными полностью погружают в средство. После дезинфекции их промывают водопроводной водой. Обеззараживание воды водопроводной, воды бассейна и сточных вод средством базируется на предварительном определении хлорпоглощаемости, расчете рабочей дозы средства, вносимого в воду, и определении концентрации остаточного хлора в воде.

Результаты первой серии опытов показали, что АН с C_{ax} 200 мг/дм³ при экспозиции 60 мин обладал высокой антимикробной активностью в отношении стандартных тест-культур *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, *C.albicans* без белковой нагрузки и с добавлением 20% лошадиной сыворотки в качественном суспензионном тесте. Фактор редуции (RF) в количественном суспензионном тесте с белковой нагрузкой и без нее в отношении стандартных культур микроорганизмов был 5,2-7,08 lg. В отношении *M. terrae* RF средства с C_{ax} 300 мг/дм³ составил 6,17-6,64 lg при экспозиции 90 мин.

Во всех рекомендованных режимах АН с C_{ax} 200 мг/дм³ проявлял высокий уровень вирулицидного действия в отношении вируса ЕСНО-6. Снижение инфекционного титра вируса в сравнении с контролем превышает величину 4,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Дезинфекция тест-носителей раствором АН с C_{ax} 200 мг/дм³ вызвала полную гибель *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*,

S. albicans в течение 240 мин. Химическая дезинфекция санитарно-гигиенической одежды I степени загрязнения раствором АН с C_{ax} 200 мг/дм³ приводила к полному подавлению роста микрофлоры. При обработке санитарно-гигиенической одежды II степени загрязнения рост микрофлоры был выявлен на 14% посевов образцов, III, IV, IVa степени загрязнения – на 42%, 86% и 97% соответственно. Следует отметить, что при 32-кратной обработке ткани бязи неаппретированной АН ее физические свойства (воздухопроницаемость, пылеемкость, гигроскопичность, влагоотдача) практически не изменялись. Обработка образцов санитарно-гигиенической одежды 2 раза в неделю в течение 4 месяцев АН незначительно снижала показатели прочности (разрывная нагрузка, разрывное удлинение, истираемость) ткани.

Результаты второй серии экспериментов показали, что при исследовании острой внутрижелудочной токсичности при внутрижелудочном введении АН в нативном виде в дозах 5500, 3500, 1500 мг/кг изменений в поведении и гибели лабораторных животных (крысы) не наблюдалось в течение всего 14-суточного периода наблюдений. По результатам исследований установить среднюю смертельную дозу не представилось возможным, $DL_{50 \text{ per os}} > 5000$ мг/кг.

При определении острой дермальной токсичности однократные аппликации АН в дозах 2500, 500, 100 мг/кг на выстриженные участки спины белых нелинейных крыс (площадь аппликации 16 см²) не вызывали признаков интоксикации, в т.ч. гибели животных, при резорбции средства через неповрежденные кожные покровы в течение 14-суточного периода наблюдения после нанесения.

Однократные аппликации АН на выстриженные участки спины белых нелинейных крыс (экспозиция 4 часа, площадь аппликации – 16 см², доза 20 мкл/см²) вызывали признаки слабого раздражающего действия кожных покровов, (среднегрупповой суммарный балл выраженности эритемы кожи после удаления остатков пробы составил – 0,5 балла).

Инстилляцией по 25 мм³ средства в нижний конъюнктивальный свод правого глаза морских свинок обусловили признаки слабого раздражающего действия на слизистые оболочки, среднегрупповой суммарный балл выраженности раздражения слизистой составил 1 балл.

При исследовании сенсибилизирующего действия среднегрупповые показатели ТОУ и аллергологической реакции (РСЛЛ) в опытной группе животных статистически недостоверны, однако частота положительной реакции РСЛЛ и ТОЛМ в опытной и контрольной группах животных составляла менее 50%.

При ингаляционной статической затравке белых крыс АН в затравочной камере КЗ-200/2011 в течение 4 ч в насыщающей концентрации у опытных животных по сравнению с контрольными в течение периода экспозиции изменений поведенческих реакций и гибели животных не установлено.

В третьей серии опытов установлено, что в необеззараженных сточных водах ОМЧ составило 780208 ± 61265 КОЕ/см³, ЛКП – 14125 ± 1513 /дм³ и коли-индекс 230750 ± 25647 Кл./л. В результате обеззараживания сточных вод газообразным хлором ОМЧ составило 209 ± 42 КОЕ/см³, ЛКП – 9994 ± 2293 в 1 дм³ и коли-индекс – 2367 ± 208 Кл./л. При обеззараживании сточных вод АН с содержанием активного хлора 146 ± 10 мг/дм³ ОМЧ составило 1154 ± 121 КОЕ/см³, ЛКП – 2266 ± 175 в 1 дм³ и коли-индекс – 634 ± 94 Кл./л.

У АН с содержанием остаточного свободного хлора 1,7 мг/дм³ в бактериальном люминесцентном тесте индекс токсичности (T_{cp}) был равен 7. Сточные воды, обработанные АН с содержанием остаточного свободного хлора 1,7 мг/дм³ в тестах на ракообразных (дафниях) и водорослях, не проявили острого токсического действия.

Результатами четвертой серии исследования установлено, что при использовании АН для обеззараживания 1 дм³ воды плавательных бассейнов для детей 1 - 6 лет необходимым C_{ax} является 1, для бассейна спортивного вида – 1,2, для бассейна оздоровительного вида – 1,35 мг/дм³. Установлено повышение содержания остаточного хлора ($p < 0,001$) и снижение хлорпоглощаемости воды ($p < 0,01$) после дезинфекции воды АН по сравнению с раствором натрия гипохлорита.

Результаты пятой серии опытов показали, что применение АН для проведения санитарно-гигиенических мероприятий в учреждениях системы здравоохранения и коммунальных объектах г. Витебска, обусловило сокращение денежных расходов до 17,5 раз по сравнению с традиционными средствами.

Обсуждение

Результаты исследования позволяют заключить, что АН обладает достаточным уровнем бактерицидной, в т.ч. туберкулоцидной, а также вирулицидной и фунгицидной активности. Бактерицидное действие в отношении микобактерий туберкулеза отмечено при экспозиции 90 мин и C_{ax} 300 мг/дм³, в отношении других бактерий, вирусов и грибов – при экспозиции 60 мин C_{ax} 200 мг/дм³.

АН показал высокую эффективность при дезинфекции санитарно-гигиенической одежды с I степенью загрязнения на фоне низкой деструктивной активности, что позволяет рекомендовать его для дезинфекции санитарно-гигиенической одежды персонала и других текстильных изделий организаций здравоохранения.

По параметру острой внутрижелудочной и дермальной токсичности средство относится к веществам IV класса опасности (малоопасные вещества по ГОСТ 12.1.007-76). По выраженности местно-раздражающих свойств на кожу, раздражающего действия на слизистые оболочки АН относится к 4 классу веществ (согласно Классификации опасности по выраженности действия), обладает слабой аллергенной активностью и не обладает токсическими свойствами при ингаляционном воздействии в насыщающей концентрации паров (относится к 4 классу малоопасных веществ по Классификации химических веществ по степени летучести).

Применение АН для обеззараживания сточных вод обусловило снижение ОМЧ в 676 раз, ЛКП – 6,2 раза и коли-индекса – в 363 раза по сравнению с необеззараженными сточными водами, что является свидетельством эффективной дезинфекции и альтернативой хлорированию, требующему экономических затрат и соблюдения особых мер безопасности. При этом содержание остаточного свободного хлора в воде после дезинфекции АН составило 1,7 мг/дм³, что соответствует требованиям СанПиН «Требования к системам водоотведения населенных пунктов» [17].

Оценка токсичности с использованием люминесцентного бактериального теста и тестов на дафниях и водорослях выявила, что раствор электрохимически активированного анолита с содержанием остаточного активного хлора 1,7 мг/дм³ обладал допустимой степе-

ню токсичности, а сточные воды, обработанные АН, не проявили острого токсического действия.

Антимикробная и вирулицидная эффективность обработанной АН воды сохраняется при содержании свободного остаточного хлора в пределах 0,1-0,3 мг/дм³, что расширяет возможность его использования при дезинфекции воды плавательных бассейнов для детей.

Применение АН для проведения санитарно-гигиенических мероприятий в учреждениях системы здравоохранения и коммунальных объектах г.Витебска обусловило сокращение денежных расходов в 5-17,5 раз по сравнению с традиционными средствами.

Заключение

Дезинфицирующее средство «Анолит нейтральный» по химико-аналитическим показателям качества, токсикологическим показателям безопасности и антимикробной активности соответствует требованиям СанПиН 21-112-99, что позволяет рекомендовать его для санитарной обработки в организациях здравоохранения и коммунальных объектах.

Применение анолита нейтрального для санитарной обработки позволяет сократить денежные расходы на приобретение традиционных дезинфицирующих средств.

Литература

1. Disinfectants and disinfectant by-products / G. Amy [et al.]. – Geneva : WHO, 2000. – 499 p.
2. Ровинская, В. Б. Опыт применения электрохимически активированных растворов в многопрофильном стационаре / В. Б. Ровинская, О. И. Сухова // Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности : тез. докл. и краткие сообщ. Первого Международ. симп. – Москва, 1997. – С. 70-72.
3. Некоторые аспекты получения и применения электрохимически активированного анолита АНК / В. М. Бахир [и др.] // Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности : тез. докл. и краткие сообщ. Третьего Междунар. симп. – Москва, 2001. – С. 3-25.
4. Эффективность и безопасность химических средств для дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации / В. М. Бахир [и др.] // Дезинфекционное дело. – 2003. – № 1. – С.

- 29-36.
5. Lee, S. H. Antibacterial effect of electrolyzed water on oral bacteria / S. H. Lee, B. K. Choi // J. Microbiol. – 2006 Aug. – Vol. 44, N 4. – P. 417-422.
 6. Экономические предпосылки применения в лечебно-профилактических учреждениях электрохимических установок “Стэл” для синтеза моющих, дезинфицирующих и стерилизующих растворов / В. М. Бахир [и др.] // Медицинский алфавит. – 2003. – № 11. – С. 24-25 ; 2004. – № 1. – С. 25-27.
 7. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств : врем. инструкция 4718 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 1998. – 8 с.
 8. Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств : инструкция 11-20-204-2003 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2003. – 41 с.
 9. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : инструкция 1.1.11-12-35-2004 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2004. – 43 с.
 10. Требования к постановке исследований по гигиенической оценке средств бытовой химии : инструкция 1.1.10-14-93-2005/ М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2005. – 17 с.
 11. СанПиН 2.1.2.12-33-2005. Гигиенические требования к охране поверхностных вод от загрязнения : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 28.11.2005 № 198. – Минск, 2005. – 40 с.
 12. Инструкция 2.1.4.10-12-6-2006. Гигиеническая оценка полимерных материалов, реагентов, оборудования, применяемых в системах питьевого водоснабжения : утв. постановлением № 20 от 20.02.2006 // Сборник официальных документов по коммунальной гигиене. – 2006. – Ч. 4. – С. 97-115.
 13. Застенская, И. А. Определение острой токсичности химических веществ, их смесей, природных и сточных вод методом биотестирования с применением ракообразных в качестве тест-объектов (*Dafnia magna* и *Chlorellavulgaris*) : инструкция по применению / И. А. Застенская, Е. В. Дроздова. – Минск : МЗ РБ, 2008. – 35 с.
 14. Оценка интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования : инструкция по применению / Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск : МЗ РБ, 2012. – 27 с.
 15. Определение токсичности химических соединений, полимеров, материалов, изделий и объектов окружающей среды с помощью люминесцентного бактериального теста : инструкция по применению / И. А. Застенская [и др.]. – Минск : МЗ РБ, 2010. – 24 с.
 16. СанПиН 2.1.2.10-39-2002. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды плавательных бассейнов : утв. постановлением Глав. гос. сан. врача Респ. Беларусь от 31.12.2002 № 167. – Минск, 2003. – 11 с.
 17. СанПиН 2.1.5.12-43-2005. Требования к системам водоотведения населенных пунктов : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 15.05.2012 № 48. – Минск, 2012. – 62 с.

Поступила 06.10.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Бурак И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Миклис Н.И. – к.м.н., доцент кафедры общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Ширякова Т.А. – старший преподаватель кафедры общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Григорьева С.В. – старший преподаватель кафедры общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Черкасова О.А. – к.б.н., доцент кафедры общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Юркевич А.Б. – к.ф.н., доцент, заведующая кафедрой аптечной технологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра общей гигиены и экологии. Тел. моб.: +375 (29) 718-03-24, e-mail: miklisnatalia@gmail.com – Миклис Наталья Ивановна.

ПСИХОТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ С УЧЕТОМ ТИПА ИХ ЛИЧНОСТИ И ПРОЯВЛЕНИЙ АУТОАГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ

ШУСТОВ Д.И., НОВИКОВ С.А., ШУСТОВ А.Д.

ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Резюме.

В статье приводятся результаты клинического исследования, проведенного на 190 мужчинах в возрасте от 21 до 64-х лет (средний возраст $37\pm 9,4$). Обнаружены корреляции между алкогольной зависимостью, аутоагрессией и особенностями личности пациента. Выявлена корреляционная связь между эмоционально-неустойчивым типом личности и суицидальной аутоагрессией; диссоциальным типом личности и аутоагрессией в виде антисоциального, а также рискованного поведения; нарциссическим типом личности и аутоагрессией в профессиональных отношениях; параноидным типом личности и аутоагрессией в семейных отношениях. Обоснована необходимость включения в психотерапевтическое лечение алкогольной зависимости методик, направленных на дезактуализацию патологического влечения к алкоголю, коррекцию аутоагрессивных поведенческих паттернов, а также проведения работы, адресованной к личности больного. Продемонстрировано, что наилучшие результаты терапии с использованием предлагаемого подхода были достигнуты у больных с тревожным (избегающим), ананкастным, шизоидным и истерическим типом личности, у них более чем в 60% случаев возобновление злоупотребления алкоголем наблюдалось в течение 2-го года от начала лечения, а у 25% из них была достигнута ремиссия более 2-х лет. Показано, что наибольшие сложности наблюдаются во время психотерапевтической работы с пациентами, имеющими черты эмоционально-неустойчивого, диссоциального, нарциссического и параноидного типов личности, что связано с трудностями в формировании психотерапевтического альянса между пациентом и врачом. В статье приведены терапевтические рекомендации по проведению психотерапии алкогольной зависимости с учетом типа личности пациента и проявлений аутоагрессивного поведения. Анализируются результаты предлагаемого авторами психотерапевтического подхода.

Ключевые слова: психотерапия, алкогольная зависимость, личность, аутоагрессивное поведение.

Abstract.

The article presents the findings of a clinical trial conducted on 190 male adults aged from 21 to 64 years (the mean age made up $37\pm 9,4$). The correlations between the patient's alcohol dependence, self-destructive behaviour and personality traits have been found. Correlations between the emotionally unstable personality type and suicidal autoaggression, the dissocial personality type and autoaggression in the form of antisocial as well as risky behaviours; the narcissistic personality type and autoaggression in professional relationships; paranoid personality type and autoaggression in family relations have been identified. The rationale for the use of methods to neutralize the craving for alcohol, to change autoaggressive behaviour patterns and to address patient's personality type in the psychotherapeutic treatment of alcohol dependence has been substantiated. The authors show that the best therapeutic outcomes with the use of the approach proposed have been achieved in patients with anxious (avoiding), anankastic, schizoid and histrionic personality types. More than 60% of these patients resumed alcohol abuse within the second year of treatment, 25% of them achieved a remission for more than 2 years. It has been demonstrated that most challenges occurred in psychotherapy with patients of the emotionally unstable, dissocial, narcissistic and paranoid personality types due to the difficulties related to a therapeutic alliance establishment between a patient and a therapist. The article provides recommendations concerning the psychotherapeutic treatment of alcohol dependence with a patient's personality type and his/her autoaggression taken into account. The outcomes of the psychotherapeutic approach proposed by the authors have been analyzed.

Key words: psychotherapy, alcohol dependence, personality, autoaggressive behaviour.

Распространенность алкогольной зависимости (АЗ) в Российской Федерации из года в год продолжает оставаться на стабильно высоком уровне. Так, в 2012 году только на официальном учете состояло более 2,5 млн. человек, численность неучтенных больных превышает указанные цифры в разы. Стабильно высокими остаются и показатели смертности от причин, прямо или косвенно связанных со злоупотреблением алкоголем. Так, по данным официальной статистики, около 12% всех смертей в нашей стране связано с употреблением алкоголя [1]. В то же время результаты профилактической и лечебной работы с пациентами, страдающими АЗ, не всегда являются удовлетворительными. В связи с этим проведение научных исследований, направленных на изучение особенностей этиологии и патогенеза АЗ у разных категорий пациентов, а также на разработку терапевтических подходов к данной нозологической единице, продолжает оставаться актуальным.

Злоупотребление алкоголем вообще может рассматриваться как одно из проявлений несуицидального аутоагрессивного поведения [2]. В свою очередь аутоагрессия у пациентов, страдающих АЗ, встречается чаще, чем у людей, не имеющих зависимости [3]. У зависимых от алкоголя лиц саморазрушение принимает как классические суицидальные (суициды, парасуициды, самоповреждения, суицидальные мысли и тенденции), так и несуицидальные формы (саморазрушение в семейных отношениях, профессиональной сфере, соматическая аутоагрессия, рискованное и антисоциальное поведение) [2]. Вместе с тем и АЗ, и аутоагрессия находятся в тесной взаимосвязи с особенностями личности пациентов. В результате обнаруживается цепочка, состоящая из АЗ, аутоагрессивного поведения и особенностей личности. При этом каждое из звеньев цепи оказывает влияние и обуславливает особенности 2-х других. В связи с вышеотмеченным, нами было проведено клинико-инструментальное исследование личностной патологии и особенностей аутоагрессивного поведения у зависимых от алкоголя лиц с целью усовершенствования психотерапевтической помощи.

Методы

Для достижения поставленной цели в период 2009 - 2012 гг. было проведено клини-

ческое обследование 190 мужчин в возрасте от 21 до 64-х лет (средний возраст $37 \pm 9,4$). Критерием включения в исследование являлось обнаружение синдрома зависимости от алкоголя (F10.2). У 48 (25,3%), пациентов были выявлены признаки начальной (I) стадии алкогольной зависимости, у 142 (74,7%) - средней (II) стадии по классификации А.А. Портнова и И.Н.Пятницкой [4]. Для достижения однородности изучаемого материала женщины в исследование не включались в связи с тем, что у них риск аутоагрессивного поведения в 10 раз ниже, чем у мужчин [5]. Также в исследование не включались пациенты с III стадией алкогольной зависимости, органической патологией головного мозга, сопутствующими психическими расстройствами психотического регистра (шизофрения, биполярное аффективное расстройство и др.), хроническими соматическими заболеваниями в фазе обострения. Все пациенты самостоятельно обращались за амбулаторной анонимной наркологической помощью по поводу лечения от АЗ, то есть были достаточно мотивированы. Все пациенты подписали бланк информированного согласия на обследование.

Для диагностики АЗ мы использовали критерии МКБ-Х. Аутоагрессивные проявления исследовались с использованием опросника, разработанного Д.И.Шустовым, где аутоагрессивное поведение зависимых от алкоголя разделяется на две большие группы: классическое суицидальное и несуицидальное [2]. Для изучения особенностей личности использовался клинико-диагностический опросник PDQ-IV (Personality Diagnostic Questionnaire for DSM-IV) в модификации В.П.Дворщенко [6], позволяющий выявлять ведущий личностный радикал, а также степень выраженности особенностей личности, которая может колебаться от скрытой акцентуации характера [7] до личностного расстройства. Также для диагностики расстройств личности использовались критерии МКБ-Х, а так как в данной классификации отсутствуют диагностические критерии нарциссического личностного расстройства, то для его диагностики мы пользовались критериями DSM-IV.

Психотерапевтическая помощь осуществлялась в несколько этапов:

1. Психотерапевтическое интервью. На данном этапе осуществлялся сбор анамнеза

с использованием опросников в технике полуструктурированного интервью. Одной из целей первого этапа являлось формирование доверительных отношений между врачом и пациентом, а также подведение пациента к осознанию антивитальности его поведения.

2. Заключение терапевтических контрактов. На этом этапе заключались разнообразные терапевтические контракты, содержание которых определялось диагностическими находками предыдущего этапа. Терапевтические контракты заключались на бумаге в 2-х экземплярах (один оставался у пациента, другой у врача).

3. Этап предметно-опосредованного эмоционально-стрессового воздействия проводился по стандартной схеме и не различался у пациентов с разными типами личностной патологии.

4. Этап поддерживающей психотерапии осуществлялся в течение длительного времени с периодичностью от 3-х до 12-ти индивидуальных поддерживающих терапевтических сессий в год. Содержание и процесс психотерапии определялись особенностями личности пациента и особенностями его аутоагрессивного поведения.

Результаты психотерапии АЗ оценивались, исходя из катamnестических сведений о длительности терапевтической ремиссии.

Для статистической обработки материала использовались количественные и качественные показатели, рассчитывалась достоверность результатов исследования по методу Стьюдента. Достоверным считалось достижение уровня значимости $p < 0,05$. Проводился факторный, а также корреляционный анализ с использованием метода четырехпольных таблиц. Статистический анализ данных осуществлялся с применением программы Microsoft Excel 2010 и статистического пакета SPSS 17.0.

Результаты и обсуждение

По результатам диагностики степени выраженности личностных особенностей все пациенты были разделены на три группы. В первую группу (1 гр) вошли 63 пациента (33,1%) с признаками личностных расстройств, во вторую (2 гр) - 94 пациента (49,5%) с признаками характерными для акцентуаций характера, в третью (3 гр) – 33 человека (17,4%), у которых

не было выявлено признаков патологии личности и акцентуаций характера, то есть они имели признаки скрытых акцентуаций характера (САХ) [7]. Говоря о типологии личности без учета степени выраженности особенностей личности, необходимо заметить, что наиболее часто у пациентов в исследуемой нами выборке выявлялись признаки эмоционально-неустойчивого (22,1%), диссоциального (16,8%) и параноидного (10,6%) типов личности, несколько реже – нарциссического (7,9%), избегающего (7,3%), обсессивно-компульсивного (6,3%), шизоидного (5,8%) и истерического (4,5%) типов. В связи с тем, что мы проводили диагностическую работу только с пациентами, получавшими помощь в амбулаторных условиях негосударственного лечебно-профилактического учреждения, полученные нами результаты, по-видимому, нельзя экстраполировать на всю популяцию пациентов с АЗ. Существуют сведения, что у стационарных больных уровень коморбидности с расстройствами личности выше и может достигать 60% [8].

В таблице 1 приведены данные корреляционного анализа между типами личности и разновидностями аутоагрессивного поведения. Так как минимально достаточное количество наблюдений, необходимых для проведения достоверного корреляционного анализа равно 10, а в нашей выборке их оказалось меньше, то пациенты с истерическим, зависимым и пассивно-агрессивным типами личности не анализировались.

Как видно из таблицы 1, для пациентов с эмоционально-неустойчивым типом личности наиболее характерна классическая суицидальная аутоагрессия. Для диссоциальных пациентов выявлена положительная корреляционная связь с аутоагрессией в виде антисоциального поведения и приближающаяся к статистически значимой корреляция с аутоагрессией в виде рискованного поведения. Нарциссический тип личности положительно коррелировал с аутоагрессией в профессиональной сфере, а параноидный – с аутоагрессией в семейной жизни.

Эти данные использовались нами для построения алгоритмов психотерапевтической работы с пациентами отмеченных групп на этапе заключения контрактов и поддерживающего лечения.

Так, пациенты с эмоционально-неустойчивым типом личности достаточно часто

Таблица 1 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязей между типами личности и разновидностями аутоагрессивного поведения

	СAX, n=33	Эмоцио- нально- неустой- чивый тип, n=42	Диссоци- альный тип, n=32	Нарцис- сичес- кий тип, n=15	Шизо- идный тип, n=11	Парано- идный тип, n=20	Тревож- ный (избегаю- щий) тип, n=14	Анан- кастный тип, n=12	
Тип аутоагрессивного поведения	Класси- ческая ауто- агрессия	-0,205	0,223*	0,044	-0,103	0,038	-0,051	-0,146*	-0,028
	Семейная ауто- агрессия	-0,139	0,079	0,016	-0,015	-0,044	0,102*	0,126	-0,104
	Сомати- ческая ауто- агрессия	0,104	-0,057	-0,06	-0,103	0,073	0,075	0,101	0,025
	Ауто- агрессия в виде риско- ванного поведения	0,007	0,089	0,107	0,004	-0,173*	-0,019	-0,11	0,142
	Ауто- агрессия в виде антисоци- ального поведения	-0,161*	0,008	0,347*	-0,052	-0,054	-0,06	-0,041	-0,017
	Ауто- агрессия в профес- сиональной сфере	0,018	-0,137	-0,109	0,215*	0,027	0,019	0,04	0,015

Примечание: * – помечены статистически значимые корреляции.

демонстрируют классическое суицидальное поведение. В связи с высокой частотой суицидальных мыслей и попыток, как можно более раннее заключение антисуицидального контракта является необходимым условием для продолжения эффективной психотерапии. В качестве метода, проясняющего антивитаальную направленность поведения, а соответственно и повышающего мотивацию, использовалось психотерапевтическое интервью, проводимое в эмпатической, протективной манере. Подчеркивались границы ответственности пациентов: заключались контракты на точное соблюдение времени встреч, оговаривалась конфиденциальная информация, которую врач не мог бы сообщить созависимым родственникам ни при каких условиях, создавалось, тем самым, исключительное психоте-

рапевтическое пространство, принадлежащее только врачу и пациенту. В ходе поддерживающих сеансов прорабатывалась личностная травматическая проблематика, лежащая в основе совершения аутоагрессивных актов. Эмоционально-неустойчивые пациенты продемонстрировали хороший ответ на предметно-опосредованную эмоционально-стрессовую психотерапию, у 52,6% из них была достигнута стойкая ремиссия (12-24 месяцев) АЗ, а у 31,6% - ремиссия составила более 2-х лет.

С диссоциальными личностными чертами достоверно коррелировала аутоагрессия в виде антисоциального и рискованного поведения. На всех этапах лечения приветствовалось заключение контрактов, ограничивающих антисоциальную деятельность (на-

пример, контракт на запрет физического насилия или криминальных действий) и риск (например, договор на соблюдение предписываемой правилами скорости вождения автомобиля и др.). При этом необходимо поощрять пациента обдумывать свои поступки, искать не-рискованные и не-антисоциальные решения. Для диссоциальных пациентов весьма характерно манипулирование окружающими. Оказываясь в наркологическом кабинете, они продолжают манипулировать и обманывать врача, выискивая собственную выгоду в психотерапевтических отношениях. Поэтому несомненную пользу приносит уверенная, но уважительная конфронтация («железная рука в бархатной перчатке») манипулятивных стратегий, когда пациент понимает, что его манипуляции «рассекречены», а терапевт «знает», как дальше поведет себя пациент. В процессе психотерапии необходимо развитие доверительных отношений с принятием пациента таким, какой он есть, несмотря на манипуляции и ложь. В связи с тем, что диссоциальная личность часто формируется у пациентов, воспитывавшихся в неполных семьях или совсем в отсутствие родителей (условия заброшенности), такие пациенты испытывают трудности как в выражении своих чувств, так и в понимании чувств других людей. Поэтому в ходе поддерживающей терапии, параллельно с проверкой ранее заключенных контрактов, необходимо обращаться к «похороненным» травматическим событиям детства, стимулируя в работе траура оплакивание и принятие несправедливых потерь.

Аутоагрессия пациентов с нарциссическим типом личности проявляется в профессиональной сфере. Например, отсутствие работы они объясняют тем, что не могут найти «достойного» их личности варианта. Поэтому с нарциссическими пациентами заключаются контракты, поощряющие их устройство на работу и продолжение деятельности, даже если пациент чувствует свою недооцененность. Подчеркивая значимость и уникальность нарциссических пациентов, возможно формирование хорошего терапевтического альянса с последующим приглашением к длительной, ориентированной на личностные изменения, психотерапевтической работе.

Отсутствие доверия, подозрительность и патологическая ревность способствуют де-

струкции семейных отношений у параноидных личностей. Во время работы с такими больными, специалист призван обеспечивать атмосферу принятия и безопасности, а также предоставлять пациенту достаточно времени для формирования доверия. Врачу стоит избегать фраз, содержащих критику, а также предложений с возможным двойным толкованием. Необходимо убеждать пациента перепроверять свои предположения, например, подвергать сомнению факт измен мужа/жены. Также, поощряя параноидных к выражению чувств, приглашая их к долговременной терапии с акцентом на семейной проблематике, возможно добиться изменения их поведения в семье.

О результатах психотерапевтической работы, которая проводилась с использованием вышеописанного подхода, мы могли судить по имеющимся катамнестическим сведениям о 106 больных (84 пациента отказались от терапии после прохождения одного из её этапов – их катамнез неизвестен). Средняя длительность терапевтической ремиссии алкогольной зависимости в изучаемой выборке составила $13,88 \pm 6,94$ мес. При этом длительность ремиссии у пациентов с расстройствами личности (1 гр) была статистически значимо ($p < 0,05$) ниже ($11,78 \pm 6,29$ мес.), чем у пациентов из двух других групп (2 и 3 гр), что подтверждает данные полученные ранее [9]. Во всех трёх группах наибольшее количество срывов терапевтической ремиссии приходилось на срок 12-24 месяцев после начала терапии. В то же время, у пациентов с личностной патологией срыв ремиссии АЗ статистически достоверно ($p < 0,05$) чаще происходил в течение первых 6-ти месяцев терапии.

Наилучшие результаты терапии были достигнуты у больных с тревожным (избегающим), ананкастным, шизоидным и истерическим типом личности, у них более чем в 60% случаев возобновление злоупотребления алкоголем наблюдалось в течение 2-го года от начала лечения, а у 25% из них была достигнута ремиссия более 2-х лет. При работе с диссоциальными и нарциссическими пациентами получалось достичь значительно менее длительных ремиссий – у 62,5% возобновление алкоголизации происходило в течение первого года терапии, причем у нарциссических пациентов чаще в течение первого полугодия лечения, а у диссоциальных – второго.

Среди пациентов, отказавшихся от психотерапевтической помощи на одном из его этапов, наиболее часто оказывались больные с эмоционально-неустойчивым, диссоциальным, нарциссическим и параноидным типами личности, особенно при функционировании личности на уровне расстройства. Нам представляется, что наибольшая сложность при работе с такими пациентами связана с трудностями в формировании психотерапевтического альянса между пациентом и врачом.

Заключение

В настоящем исследовании обнаружена тесная взаимосвязь между алкогольной зависимостью, аутоагрессивным поведением и особенностями личности пациента. Наличие такого рода взаимосвязи обуславливает необходимость включения в психотерапевтическое лечение алкогольной зависимости методик, направленных на дезактуализацию патологического влечения к алкоголю, коррекцию аутоагрессивных поведенческих паттернов, а также проведения работы, адресованной к личности больного. При этом наибольшие сложности наблюдаются во время психотерапевтической работы с пациентами, имеющими черты эмоционально-неустойчивого, диссоциального, нарциссического и параноидного типов личности, особенно при её функционировании на уровне личностного расстройства. Основные усилия во время психотерапии таких пациентов необходимо направлять на

становление терапевтического альянса с формированием длительных доверительных отношений между врачом и пациентом.

Литература

1. Кошкина, Е. А. Анализ алкогольной политики в странах Партнерства «Северное Измерение» и рекомендации по повышению ее эффективности / Е. А. Кошкина, Н. И. Павловская // Вопросы наркологии. – 2012. – № 5. – С. 62-77.
2. Шустов, Д. И. Аутоагрессия, суицид и алкоголизм / Д. И. Шустов. – М. : Когито-Центр, 2005. – 214 с.
3. Suicidal Behavior and Alcohol Abuse / M. Pompili [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2010 Apr. – Vol. 7, N 4. – P. 1392-1431.
4. Портнов, А. А. Клиника алкоголизма / А. А. Портнов, И. Н. Пятницкая. – Л. : Медицина, 1971. – 367 с.
5. Sex as suicidal risk factor / S. Kocić [et al.] // Med. Pregl. – 2012 Sep-Oct. – Vol. 65, N 9/10. – P. 415-420.
6. Дворщенко, В. П. Диагностический тест личностных расстройств / В. П. Дворщенко. – М. : Речь, 2008. – 112 с.
7. Личко, А. Е. Психопатии и акцентуации характера у подростков / А. Е. Личко. – Л. : Медицина, 1983. – 208 с.
8. Personality disorders in alcohol-dependent individuals: relationship with alcohol dependence severity / U. W. Preuss [et al.] // Eur. Addict. Res. – 2009. – Vol. 15, N 4. – P. 188-195.
9. Personality disorders and treatment outcome in methadone maintenance patients / J. Cacciola [et al.] // J. Nerv. Ment. Dis. – 1996 Apr. – Vol. 184, N 4. – P. 234-239.

Поступила 06.10.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Шустов Д.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой психиатрии ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова», Российская Федерация;

Новиков С.А. – очный аспирант кафедры психиатрии ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова», Российская Федерация;

Шустов А.Д. – студент 6 курса лечебного факультета ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова», Российская Федерация.

Адрес для корреспонденции: Российская Федерация, 390028, г.Рязань, ул. Сельских строителей, д. 4«Г», кв. 261. Тел.раб.: (4912) 99-72-94, e-mail: novikovsa@inbox.ru – Новиков Сергей Андреевич.

© ЕРЕМЕНКО Р.Ф., МАЛОШТАН Л.Н., 2014

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (MEDICAGO SATIVA L.) НА УРОВЕНЬ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ У КРЫС-САМОК

ЕРЕМЕНКО Р.Ф., МАЛОШТАН Л.Н.

Национальный фармацевтический университет, Украина

Резюме.

В эксперименте изучено влияние 4 – недельного введения половозрелым самкам фитоэстрогенсодержащих препаратов ЭТЛП и референсного климадинона на уровень половых гормонов. Установлено, что ЭТЛП и климадинон не оказывали существенного влияния на трофические процессы и на общее состояние яичников крыс самок по сравнению с животными группы интактного контроля. Не установлено влияние ЭТЛП и препарата сравнения «Климадинон» на длительность цикла и функциональное состояние яичников. Но климадинон достоверно по отношению к группе интактного контроля в 1,2 раза, а по отношению к группе ЭТЛП – в 1,15 раза увеличивает значение массового коэффициента яичников, что говорит о том, что в отличие от ЭТЛП фитоэстрогены климадинона возможно могут усиливать пролиферацию яичников. Показано, что длительное поступление в организм фитоэстрогенов приводит к сдвигам в содержании половых гормонов эстрадиола и тестостерона в сыворотке крови опытных крыс-самок. ЭТЛП достоверно относительно группы интактного контроля на 10% а группы климадинона – на 7% повышает уровень эстрадиола. ЭТЛП и препарат сравнения «Климадинон» достоверно относительно группы интактного контроля снижают на 10% уровень тестостерона у здоровых крыс-самок. Учитывая то, что опыты проводились на здоровых животных, которые обладают хорошей резистентностью, такой эффект ЭТЛП можно объяснить тем, что он может стимулировать процесс образования эстрадиола из тестостерона за счет фитоэстрогенного действия имеющихся в нем изофлавоноидов: генистеина, дайдзеина и куместрола.

Ключевые слова: фитоэстрогены, экстракт люцерны посевной, климадинон, эстральный цикл, половые гормоны.

Abstract.

The influence of four - week introduction of extract of alfalfa (*Medicago sativa* L.) grass (EGMS) to the sexually mature female rats on the sex hormones level was studied in the experiment. It has been shown that the prolonged intake of phytoestrogens leads to the insignificant shifts in the content of sex hormones. Females have leveled the differences between estradiol content in the estrus-diestrus cycles. It has been found out that EGMS and «Klimadynon» hadn't exerted any significant influence on the trophic processes and the general condition of the ovaries of the female rats in comparison with the animals of the intact control group. The influence of EGMS and «Klimadynon» on the content of estradiol and testosterone in the blood serum of the experimental female rats has been established. EGMS in contrast to «Klimadynon» increases the level of estradiol by 10% tendenciously with regard to the intact control group. EGMS as well as a comparison drug «Klimadynon» reliably decrease the level of testosterone in healthy female rats by 10% with regard to the intact control group. Taking into account that the experiments were carried out on the healthy animals with good resistance, such effect of EGMS may be explained by the fact that it can stimulate the formation of estradiol from testosterone at the expense of phytoestrogen action of the existing in it isoflavonoids: genistein, daidzein and coumestrol.

Key words: phytoestrogens, alfalfa (*Medicago sativa* L.) extract, «Klimadynon», estrous cycle, sex hormones.

В настоящее время особый интерес вызывают некоторые представители класса биофлавоноидов, проявляющие гормоноподобные, а именно – эстрогеноподобные свойства

и названные поэтому фитоэстрогенами [1]. Известна высокая биологическая активность лекарственных средств из растений, применяемых для коррекции расстройств полового

цикла и репродуктивной функции. В организме животных и людей фитоэстрогены впервые обнаружены в конце 60-х годов [1, 2]. Биохимический анализ показал, что фитоэстрогены по структуре обладают определенным сходством с эндогенными эстрогенами животных и имеют близкую с ними молекулярную массу. Фитоэстрогены могут выступать в качестве антиэстрогенных агентов. Следовательно, фитоэстрогены обладают потенциальной способностью модифицировать механизмы, регулирующие половой цикл и репродуктивный процесс у человека и животных.

Как выяснилось, биологическая активность фитоэстрогенов в сотни и тысячи раз ниже активности эндогенных эстрогенов, однако постоянное потребление человеком растительной пищи, а также таких продуктов, как молоко и мясо травоядных животных, может приводить к значительной концентрации фитоэстрогенов в организме [3]. Хотя влияние фитоэстрогенов оказывается, как правило, минимальным, при определенных условиях оно может вызывать нарушения полового цикла и репродуктивной функции [4, 5].

Экстракт из травы люцерны посевной (ЭТЛП) является объектом наших исследований как корректор белкового обмена, что обусловлено содержанием в нем большого количества белка, аминокислот, в том числе незаменимых, ферментов, витаминов, макро- и микроэлементов. Предварительно проведенные фармакологические доклинические исследования экстракта люцерны посевной выявили для него свойства корректора белкового обмена [4,5].

Технология получения экстракта из травы люцерны посевной была разработана и стандартизирована на базе НФаУ доцентом кафедры нутрициологии и фармацевтической броматологии д.ф.н. Ковалевым С.В. [6, 7]. Последним установлено, что экстракт из трав люцерны посевной (ЭТЛП) представляет собой порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета с приятным специфическим запахом, горьким вкусом, хорошо растворим в воде, водных растворах спирта, плохо растворим в этаноле, не растворим в органических растворителях эфире, хлороформе, бензоле. Хроматографические и химические исследования экстракта из травы люцерны посевной позволили Ковалеву С.В. устано-

вить наличие в нем таких групп фенольных соединений, как гидроксикоричные кислоты, кумарины, эуфлавоноиды, изофлавоноиды и дубильные вещества конденсированной природы. При разделении продуктов кислотного гидролиза фенольного комплекса на колонке полиамидного сорбента с использованием в качестве растворителя хлороформа и его смеси со спиртом были выделены такие вещества фенольной природы, как гидроксикоричные кислоты: п-кумаровая, феруловая, хлорогеновая, неохлорогеновая; эуфлавоноиды: кемпферол, кверцетин, апигенин, лютеолин, хризозеиол; изофлавоноиды: даидзеин, формонетин, генистеин и биоханин А [6]. Суммарное содержание фенольных соединений в траве люцерны посевной составляет 3,49%, из них гидроксикоричных кислот – $1,37 \pm 0,03\%$, флавоноидов – $0,71 \pm 0,03\%$ и полифенолов - $1,41 \pm 0,05\%$. Содержание фенольных соединений в сухом экстракте (ЭТЛП) составляет $10,41 \pm 0,43\%$ [6, 7].

Экстракт из травы люцерны посевной, будучи донором белковых молекул и их составляющих – аминокислот, способен пополнять запасы эндогенных протеинов, и способствует повышению уровня белка в организме и таким образом восстановлению его пластических, структурных, энергетических и других функций, что позволит при его использовании предотвратить развитие или вылечить нарушения белкового обмена [6, 7].

Известно, что в регуляции белкового обмена в организме принимают непосредственное участие также половые гормоны. Так, эстрогены способствуют увеличению общего количества белка в организме за счет смещения азотистого баланса в положительную сторону вследствие роста половых органов, костей, мышц и некоторых мягких тканей организма. Тестостерон вызывает задержку белка в организме и стимулирует его синтез, то есть оказывает анаболическое действие, способствует увеличению мышечной массы, ускорению образования белковой матрицы кости, процессов роста и физического развития. Мужские и женские гормоны синтезируются как семенниками, так и яичниками, но у мужчин значительно преобладают андрогены, а у женщин соответственно - эстрогены, обеспечивая эмбриональную дифференцировку и в дальнейшем развитие половых органов, вторичных половых признаков и полового пове-

дения. К эстрогенам относятся эстриол, эстрон и эстрадиол, но наибольшей физиологической активностью из них обладает эстрадиол, который и обеспечивает формирование организма и психофизиологию по женскому типу. Для проявления эффектов эстрадиола существенным является его соотношение с тестостероном, потому что эстрадиол образуется из тестостерона у женщин - в коре надпочечников, фолликулах яичников и плаценте, а у мужчин - в семенных пузырьках, коре надпочечников и тканях организма.

Экстракт из трав люцерны посевной содержит фитоэстрогены изофлавоноиды генистеин, дайдзеин, куместрол, которые, воздействуя на уровень эндогенных половых гормонов, могут вмешиваться в протекание процессов белкового обмена в организме [1-5].

Исходя из вышеизложенного целью работы стало изучение влияния экстракта из травы люцерны посевной в сравнении с фитоэстрогенсодержащим препаратом «Климадинон» на уровень половых гормонов эстрадиола и тестостерона в организме половозрелых здоровых крыс-самок.

Методы

Для достижения цели было проведено сравнительное исследование влияния введения в течение 1 месяца экстракта из травы люцерны посевной и препарата сравнения «Климадинон» на функциональное состояние репродуктивной функции крыс-самок с помощью оценки трофических процессов в организме, эстрального цикла, макроскопического состояния яичников и уровня половых гормонов.

Выбор климадинона в качестве препарата сравнения обусловлен тем, что действующее вещество – экстракт корневищ цимицифуги является аналогом экстракта из травы люцерны посевной по составу, так как содержит фитоэстрогены, фитостерин, органические кислоты, крахмал, танины, дубильные вещества, алкалоиды, тритерпеновые гликозиды, фенольные соединения, камедь, ароматические кислоты, сапонины, флавоноиды, немного эфирного масла. Экстракт корневищ цимицифуги оказывает эстрогеноподобный эффект путем связывания с рецепторами эстрогенов. Кроме того, отмечают уменьшение выделения лютеинизирующего гормона передней доли

гипофиза, что может быть связано с влиянием на эстрогеночувствительные клетки гипоталамуса и регуляцией высвобождения им соответствующего рилизинг-гормона. Эстрогеноподобное влияние на организм и уменьшение выделения лютеинизирующего гормона — основной механизм действия препарата.

В исследовании использовали 30 белых крыс-самок массой 200-240 г, которые были распределены по группам следующим образом:

1 – интактный контроль, группа крыс-самок, не подвергавшихся какому-либо воздействию;

2 – группа крыс-самок, которым внутрижелудочно вводили экстракт из травы люцерны посевной в дозе 25 мг/кг;

3 – группа крыс-самок, которым внутрижелудочно вводили климадинон в дозе 30 мг/кг.

Значение дозы препарата сравнения растительного фитоэстрогенсодержащего «климадинон» 30 мг/кг, соответствующей суточной дозе для человека, было получено с помощью коэффициента пересчета по площади тела [8].

На первом этапе крысам-самкам экспериментальных групп внутрижелудочно вводили экстракт из травы люцерны посевной в дозе 25 мг/кг и препарат сравнения «Климадинон» в дозе 30 мг/кг в течение двух недель. Затем в течение следующих двух недель исследовали эстральный цикл самок с помощью вагинальных смывов, которые изучали ежедневно утром. Исследуемые препараты не прекращали вводить в течение данного периода, таким образом, общий период введения составил 1 месяц. После этого животных выводили из исследования. Все животные при этом находились в стадии покоя (диэструс). У крыс-самок период эстрального цикла в норме составляет 4-6 суток, включает стадию диэструс (2 суток), проэструс (12:00 - 1 сутки), эструс (1 сутки) и метаэструс (1 сутки). По окончании эксперимента животных под эфирным наркозом выводили из опыта, собирали кровь для получения сыворотки и определяли массу яичников (МК). В сыворотке крови самок определяли уровень половых гормонов эстрадиол и тестостерон с помощью тест-наборов для иммуноферментного анализа: «Гранум», Украина [8].

Исследование проведено с соблюдением требований комиссии по биоэтике НФаУ и «Общих этических принципов эксперимен-

тов на животных» (Киев, 2001), которые согласовываются с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986) [8].

Полученные экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью стандартного пакета статистических программ «Statistica 6,0». Результаты исследования представлены в виде средней и ее стандартного отклонения. Нормальность распределения была подтверждена с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Однородность дисперсий подтверждена с помощью критерия Левена. Так как выборки анализируемых параметров характеризовались нормальным распределением и однородной дисперсией, для получения статистических данных проведен дисперсионный анализ, для множественных сравнений применяли критерии Шеффе, Стьюдента с поправкой Бонферони и Ньюмена-Кейлса с уровнем значимости $p < 0,05$ [9]. Результаты исследования предоставлены в таблицах 1 и 2.

Результаты и обсуждение

В результате исследования было установлено, что ЭТЛП и климадион не оказывали влияния на трофические процессы и на общее состояние яичников крыс самок по сравнению с животными группы интактного контроля (табл. 1).

Анализируя массовые коэффициенты (МК) яичников, приведенные в таблице

1, можно заключить, что ЭТЛП не влияет на МК яичников, а климадион достоверно по отношению к группе интактного контроля в 1,2 раза увеличивает значение данного показателя. Проведение множественных сравнений показателей групп ЭТЛП и климадинона показывают, что МК яичников в группе климадинона достоверно на 15% выше, чем в группе ЭТЛП, что говорит о том, что в отличие от ЭТЛП фитоэстрогены Климадинона возможно могут усиливать пролиферацию яичников. Оценка показателей таблицы 1, характеризующих длительность течения цикла у крыс-самок, показала отсутствие влияния ЭТЛП и препарата сравнения «Климадион» на длительность цикла и соответственно на функциональное состояние яичников.

Анализ уровня эстрадиола и тестостерона в сыворотке крови опытных крыс самок позволил сделать вывод о том, что ЭТЛП и климадион влияют на содержание этих половых гормонов (табл. 2).

Так, установлено, что ЭТЛП, в отличие от климадинона, достоверно относительно группы интактного контроля на 10 %, а относительно группы климадинона – на 7%, повышает уровень эстрадиола. Экстракт из травы люцерны посевной, как и препарат сравнения «Климадион», достоверно относительно группы интактного контроля снижают на 10 % уровень тестостерона у здоровых крыс - самок. Эти данные говорят о том, что только под влиянием ЭТЛП происходит усиление процесса образования эстрадиола из тестостерона. В то же время препарат сравнения «Климадион»

Таблица 1 – Показатели состояния репродуктивной функции крыс-самок, получавших ЭТЛП в дозе 25 мг/кг и климадион в дозе 30 мг/кг в течение 1 месяца

Условия опыта Показатели	Интактный контроль	ЭТЛП, 25 мг/кг	Климадион, 30 мг/кг
МК яичников, г/100г	0,044±0,009	0,046±0,06**	0,053±0,006*/* ($p <$
Длительность цикла до введения	5 (4,5; 5,5)	6 (5,0; 6,0)	5 (5,0; 6,0)
Длительность цикла после введения	5 (4,5; 5,0)	4,5 (5,0; 5,5)	5 (4,5; 5,0)

Примечание: * - отклонение показателя достоверно по отношению к группе интактного контроля, $p < 0,05$ (Множественные сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса); & - отклонение показателя достоверно по отношению к группе интактного контроля, $p < 0,05$ (Множественные сравнения по критерию Стьюдента с поправкой Бонферони); ** - отклонение показателя достоверно по отношению к группе препарата сравнения «Климадион», $p < 0,05$ (Множественные сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса).

Таблица 2 – Уровень половых гормонов в сыворотке крови крыс-самок, получавших ЭТЛП и климадион

Условия опыта \ Показатели	Эстрадиол, нмоль/л	Тестостерон, нмоль/л	Тестостерон/эстрадиол
Интактный контроль	1,71±0,13	4,93±0,47	2,88
ЭТЛП, 25 мг/кг	1,89±0,13*#/** (p< 0,05)	4,40±0,54*#/& (p< 0,05)	2,32#/& (p< 0,05)
Климадион, 30 мг/кг	1,76±0,16	4,21±0,51*#/& (p<0,05)	2,39#/& (p<0,05)

Примечание: * - отклонение показателя достоверно по отношению к группе интактного контроля, $p<0,05$ (Множественные сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса); # - отклонение показателя достоверно по отношению к группе интактного контроля, $p<0,05$ (Множественные сравнения по критерию Шеффе); & - отклонение показателя достоверно по отношению к группе интактного контроля, $p<0,05$ (Множественные сравнения по критерию Стьюдента с поправкой Бонферони); ** - отклонение показателя достоверно по отношению к группе препарата сравнения «Климадион», $p<0,05$ (Множественные сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса).

снижает уровень тестостерона за счет других механизмов, а именно за счет способности фитоэстрогенов стимулировать образование в печени глобулинов, связывающих половые стероиды, и таким путем модулировать биологическую активность эндогенных половых гормонов [2].

Учитывая то, что опыты проводились на здоровых животных, которые обладают хорошей резистентностью, и вызвать у них изменения, особенно гормонального фона, очень трудно, такой эффект ЭТЛП можно объяснить тем, что он может стимулировать процесс образования эстрадиола из тестостерона за счет фитоэстрогенного действия имеющихся в нем изофлавоноидов генистеина, дайдзеина и куместрола.

Заключение

Установлено, что введение крысам-самкам в течение 4-х недель экстракта из травы люцерны посевной (ЭТЛП) (*Medicago sativa* L.) в дозе 25 мг/кг и препарата сравнения «Климадион» в дозе 30 мг/кг не оказывало влияния на трофические процессы и на общее функциональное состояние яичников крыс-самок по сравнению с животными группы интактного контроля. Не установлено влияние ЭТЛП и препарата сравнения «Климадион» на длительность цикла и функциональное состояние яичников. Но климадион достоверно по отношению к группе интактного контроля

в 1,2 раза, а по отношению к группе ЭТЛП – в 1,15 раза увеличивает значение массового коэффициента яичников, что говорит о том, что в отличие от ЭТЛП фитоэстрогены климадинона, возможно, могут усиливать пролиферацию яичников. ЭТЛП достоверно относительно группы интактного контроля на 10 %, а группы климадинона – на 7% повышает уровень эстрадиола. Экстракт из травы люцерны посевной, как и препарат сравнения «Климадион», достоверно относительно группы интактного контроля снижают на 10 % уровень тестостерона у здоровых крыс - самок.

Только под влиянием ЭТЛП происходит усиление процесса образования эстрадиола из тестостерона. А препарат сравнения «Климадион» снижает уровень тестостерона за счет других механизмов, а именно, возможно, за счет способности фитоэстрогенов стимулировать образование в печени глобулинов, связывающих половые стероиды.

Эффект влияния ЭТЛП на уровень половых гормонов также можно объяснить тем, что данный экстракт может стимулировать процесс образования эстрадиола из тестостерона за счет фитоэстрогенного действия имеющихся в нем изофлавоноидов – генистеина, дайдзеина и куместрола.

Литература

1. Никитин, А. И. Фитоэстрогены : (лекция) [Электронный ресурс] / А. И. Никитин // Проблемы

- репродукции. – 2000. – № 3. – Режим доступа: http://www.rusmedserv.com/problreprod/2000g/3/article_698.html.
2. Влияние фитоэстрогенов на уровень половых гормонов и фертильность крыс / Е. В. Сомова [и др.] // Проблемы эндокринной патологии. – 2010. – № 1. – С. 82-89.
 3. Endocrine disrupting effects in rats perinatally exposed to a dietary relevant mixture of phytoestrogens / J. Boberg [et al.] // *Reprod Toxicol*. – 2013 Sep. – Vol. 40. – P. 41-51.
 4. Barlas, N. The estrogenic effects of apigenin, phloretin and myricetin based on uterotrophic assay in immature Wistar albin rats / N. Barlas, S. Ozer, G. Karabulut // *Toxicol. Lett.* – 2014 Apr. – Vol. 226, N 1. – P. 35-42.
 5. The effects of dietary treatment with S-equol on learning and memory processes in middle-aged ovariectomized rats / S. L. Neese [et al.] // *Neurotoxicol Teratol.* – 2014 Jan-Feb. – Vol. 41. – P. 80-88.
 6. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С. В. Ковальов [та ін.] // *Фармацевтичний часопис*. – 2008. – № 2. – С. 27–30.
 7. Ковальов, С. В. Кількісне визначення фенольних сполук у траві люцерни посівної / С. В. Ковальов, Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан // *Фармаком*. – 2008. – № 4. – С. 35–38.
 8. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
 9. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

Поступила 19.06.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Еременко Римма Фуатовна – к.б.н., доцент кафедры физиологии и анатомии человека Национального фармацевтического университета, докторант, Украина;
 Малоштан Л.Н. – д.б.н, профессор, заведующая кафедрой физиологии и анатомии человека Национального фармацевтического университета, Украина.

Адрес для корреспонденции: Украина, 61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12, Национальный фармацевтический университет, кафедра физиологии и анатомии человека. Тел./факс: (057) 706-30-73, (067) 788-53-19, e-mail: fuatovna@rambler.ru – Еременко Римма Фуатовна.

ЦВЕТОНЕЙТРАЛИЗУЮЩАЯ ТЕХНИКА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕВИТАЛЬНЫХ ЗУБОВ

БАЙТУС Н.А.

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Республика Беларусь

Резюме.

Современная стоматология обладает широким спектром возможностей эстетического восстановления депульпированных зубов - реставрация, микропротезирование, протезирование. Все эти технологии имеют показания и противопоказания. Выбор зависит от степени сохранности зубов. Гарантировать надежный результат можно только при полном соблюдении технологии. Только после осмотра врачом-стоматологом пациента можно будет уже точно говорить о вариантах восстановления девитальных зубов. Достижения реставрационных технологий в стоматологии дают возможность получить безупречную улыбку и эстетику, ведь в настоящее время стоматологическое лечение направлено не только на восстановление жевательной функции пациента, но и на улучшение его общего состояния и качества жизни. Современное состояние научных разработок в области стоматологии позволяет достаточно оптимистично рассматривать проблему коррекции цвета депульпированного зуба. В зависимости от причин, вызвавших изменение цвета зуба, для его коррекции могут использоваться разнообразные методы, начиная с гигиенического ухода за зубами (профессиональная гигиена полости рта), либо применяя комбинированное интенсивное отбеливание (офисное или домашнее) с последующими реставрационными работами. Высокие эстетические качества современных стоматологических материалов и методов их применения обеспечили доступность для широких слоев населения качественного реставрирования зубов. Стало возможным не просто моделирование конструкций, сходных по внешнему виду с зубами, но и воспроизведение индивидуальных цветовых оттенков, присущих эмали и дентину.

В статье приведены различные варианты использования цветонейтрализующей техники при лечении девитальных зубов (ранее леченых эндодонтически) с помощью фотополимерных материалов.

Ключевые слова: цветонейтрализующая техника, девитальные зубы, композиты, реставрационные материалы.

Abstract.

Modern dentistry has a wide range of possibilities of aesthetic restoration of pulpless teeth - restoration, microprosthetics, prosthesis. All these technologies have indications and contraindications. The choice depends on the degree of teeth preservation. It is possible to ensure reliable results only when the technology is observed to the full extent. Only after the patient's examination by a dentist it'll be possible to talk definitely about the restoration options of devitalized teeth. The achievements of restoration technologies in dentistry give the opportunity to get a perfect smile and aesthetics, because at the present time dental treatment is aimed not only at restoring the chewing function of a patient, but also at the improvement of his/her general condition and quality of life. Current state of scientific developments in the field of dentistry enables us to enough optimistically consider the problem of color correction of a pulpless tooth. Depending on the reasons that caused the color change of a tooth, for its correction it is possible to use a variety of methods starting either with the hygienic care for the teeth (professional hygiene of the oral cavity), or using a combination of intensive whitening (office or home) with subsequent restoration works. High aesthetic quality of modern dental materials and the techniques of their application provided the access for the general population to the qualitative restoration of teeth. Not only the structural modelling, similar in appearance to the teeth became possible, but also reproduction of individual color shades inherent to the enamel and dentin.

The article describes different ways to use color neutralizing techniques in the treatment of devitalized teeth (previously treated endodontically) with the use of photopolymer materials.

Key words: color neutralizing, technique, devitalized teeth, composites, restorative materials.

С каждым годом пациенты предъявляют к стоматологии все более высокие требования. Особое внимание уделяется эстетическим свойствам пломбировочных материалов, поэтому актуальность таких реставраций приобретает все большее значение.

В настоящее время стоматологическое лечение направлено не только на восстановление жевательной функции челюстно-лицевого аппарата пациента, но и на улучшение его общего состояния и качества жизни, в частности, благодаря достижению высокого эстетического результата реставраций. Современное состояние научных разработок в стоматологии позволяет достаточно оптимистично рассматривать проблему коррекции цвета депульпированного зуба. С этой целью все чаще используют цветонейтрализующую технику – метод цветокоррекции при изготовлении реставраций твердых тканей зуба с использованием отбеливающих средств и/или красителей (колоров).

В зависимости от причин, вызвавших изменение цвета зуба, для его коррекции используются многочисленные методы, начиная с простейших мероприятий, таких как гигиенический уход за зубами (при наличии белого налета, придающего эмали матовый оттенок), до комбинированных методик с использованием интенсивного отбеливания (офисного или домашнего) с последующими реставрационными работами (при сочетании пигментации эмали с дефектами ее поверхности или при глубоком прокрашивании твердых тканей зуба). Именно поэтому выявление причины, вызвавшей изменение цвета, а также определение глубины прокрашивания, степени распространенности процесса, наличия дефектов твердых тканей являются важными моментами в выполнении эстетической работы [1].

Высокие эстетические качества современных стоматологических материалов и методов их применения обеспечили доступность для широких слоев населения не только в странах зарубежья, но и в Республике Беларусь качественного реставрирования зубов. Стало возможным не просто моделирование конструкций, сходных по внешнему виду с зубами, но и воспроизведение индивидуальных цветовых оттенков, присущих эмали и дентину. Для придания естественного вида зубу в ряде случаев требуется устранение приобретенных

цветовых оттенков или восстановление отличительных цветовых особенностей зуба [2].

Цель исследования – обоснование мер по повышению качества изготовления реставраций при лечении девитальных зубов.

Методы

Проанализировав отечественные литературные источники в период с 2007 по 2014 года, установили возможные последовательность и варианты использования цветонейтрализующей техники при лечении девитальных зубов.

Результаты и обсуждение

Изменение цвета депульпированного зуба, прошедшего эндодонтическое лечение – это проблема, перед которой в настоящее время часто оказываются стоматологи, так как все большее число пациентов предъявляют высокие требования к эстетике результата лечения. Методом коррекции в таких случаях может служить метод маскирующего (опакowego) перекрытия интенсивно окрашенных тканей зуба. Для этого проводят препарирование измененного в цвете участка твердых тканей, а затем адгезивную подготовку. После этого на пигментированную область накладывают первый опакующий слой композита, который нейтрализует отраженный от окрашенного участка зуба свет. Затем осуществляют послойное наложение композита в соответствии с заполненным цветовым формуляром и рекомендациями инструкции производителя композиционного материала. Объем утраченного зубом дентина восполняют опакующими тонами, восстанавливая основную геометрическую форму, мамелоны, моделируя признаки принадлежности зуба. Эмалевые тона используют аналогично типу прозрачности интактных зубов, формируя элементы макро- и микрорельефа поверхности, в том числе валики, борозды, площадки, придесневой контур, режущий край. Проводится обработка и полировка поверхности до естественного блеска [3].

Особенностью пломбирования интактного девитального зуба после трепанации при отсутствии кариозной полости и повреждения эмали является заполнение пульповой камеры

и образовавшегося дефекта преимущественно опакowymi цветами. Первый слой - изолирующая прокладка, покрывающая содержимое корневого канала (гуттаперчу и силер). Следующий слой – опак более темных оттенков в пришеечной области. Затем опакoвый слой светлее – заполняет основной объем полости. Трепанационное отверстие закрывают эмалевым цветом. Правила послойного нанесения и отверждения галогеновой лампой остаются в силе, как и требование к обработке поверхности пломбы и покрытие зуба фтористым лаком.

Выраженная пигментация тканей дна и стенок полости требует тщательного подбора опакoвых оттенков композита. Однако не всегда удается «замаскировать» цвет, отличающийся от нормального дентина, обычным наложением композита. В таком случае следует прибегнуть к другим цветонейтрализующим методам. Одни из них предполагают сочетание отбеливания с последующим пломбированием. При других используется перекрытие пигментированных участков красителями с дальнейшим реставрированием зуба.

Техника сочетанного отбеливания и пломбирования зубов применяется при осветлении витальных и девитальных зубов, с наличием полостей III, IV, V классов и их сочетании с депульпированием и пломбированием каналов, цветокоррекции «тетрациклиновых» зубов, а также при других нарушениях цвета зуба.

Клинические этапы работы включают обязательное выявление и устранение причин возникновения пигментации, заполнение амбулаторной карты с внесением подробных сведений в раздел «Отбеливание зубов», обучение пациента рациональной индивидуальной гигиене полости рта, согласование с ним ожидаемого конечного результата сочетанного метода отбеливания и пломбирования зуба [4-6].

Лечение начинается с удаления пломбы, иссечения некротизированных тканей и очищения полости зуба, отпрепарированную полость после отбеливания предварительно закрывают стеклоиономерным цементом.

Если после устранения пломбы и кариозных эмали и дентина остается пигментация тканей, необходимо провести отбеливание с использованием специальных средств и мето-

дов (офисного, домашнего, микроабразии или их сочетания).

В домашних условиях можно использовать отбеливающий гель, содержащий 10% или 17% перекиси карбамида для отбеливания живых и депульпированных зубов неинвазивным методом. В основе отбеливающего эффекта лежат окислительные процессы в органических субстанциях эмали и дентина. Активные ингредиенты геля обеспечивают осветляющий эффект.

При использовании отбеливания пломбирование композиционным материалом осуществляется через 12-14 дней во избежание краевого просачивания. Сошлифовывание эмали в периферических отделах полости или использование современных адгезивных систем в ряде случаев позволяет проводить пломбирование сразу после завершения отбеливания. После удаления временной пломбы и отсутствии пигментации приступают к эстетическому пломбированию.

Очищение зуба от налета является общим этапом для всех материалов и осуществляется механически щеточкой с использованием средств, не содержащих фтор.

Подбор нужного оттенка пломбировочного материала проводится при естественном освещении с использованием эталонов, соответствующих избранному фотополимеру.

Непрозрачными дентинными цветами заполняется основной объем дефекта, соответствующий утраченной дентину, с тем чтобы избежать прозрачности создаваемой конструкции. Их выбор осуществляется в соответствии с цветом дентина данного зуба. Эмалевые оттенки применяются для создания естественного вида, блеска и прозрачности поверхности. При этом эталоны должны сравниваться с различными участками зуба для точного воспроизведения индивидуальных особенностей.

Эффективным методом цветонейтрализующей техники в эстетической стоматологии может служить сочетание отбеливания зубов с последующим покрытием винирами. Точное исполнение технологии позволяет достичь высокой результативности лечения.

Есть несколько возможностей замаскировать окрашенные ткани зубов винирными покрытиями: использовать опакoвые цвета композита в процессе изготовления реставрации; использовать красители в составе ком-

позитов; увеличить глубину препарирования зуба, чтобы затем изготовить винир большей толщины; осуществлять предварительно офисное и/или домашнее отбеливание.

Чтобы избежать непрозрачности винира, можно применять опакующие цвета в глубоких слоях конструкции, покрывая их прозрачными оттенками, с последующей полировкой для придания блеска.

С целью снижения уровня интенсивности пигментированных тканей последние можно покрывать опакующим композиционным материалом с подбором оттенков дентина для пришеечной области и центральной части. Такие оттеняющие опакующие позволяют создать достаточно естественную, сходную с дентином, поверхность, которая не будет контрастировать при последующем наложении и укреплении винира.

Хорошие опакующие и модификаторы цвета способны перекрывать пигментированные ткани даже при наложении их самым тонким слоем.

Цветокорректирующие виниры чаще всего используют при лечении изменивших цвет темных депульпированных зубов, находящихся в зоне улыбки. Методы цветокоррекции могут отличаться в зависимости от интенсивности пигментации зуба. При низкой степени окрашивания зуба возможно перекрытие исходного оттенка винирным покрытием [7-11].

Положительный эффект также может быть достигнут применением внутри и внекоронкового отбеливания. Для внутреннего воздействия используется к примеру «Endoperox paste» (Septodont, Франция) – классическая паста для внутриканального отбеливания девитальных зубов. Форма выпуска - 1 флакон - 5 г, состоящая из водорастворимого наполнителя и перекиси карбамидного водорода. Перекись водорода в присутствии физиологических жидкостей выделяет кислород. Этот процесс происходит в практически нейтральной среде, а основные свойства определяются окисляющим действием выделяемого кислорода, который является:

- а) обесцвечивающим средством;
- б) бактерицидным средством;
- в) механическим очищающим средством путем выделения газов.

Способ применения прост. Перед отбеливанием убедиться в том, что каналы безуко-

ризованно запломбированы твердой пастой. Прочистить пульповую камеру. Тщательно покрыть дно и стенки полости зуба «Endoperox paste». Закрывать ватным тампоном и запломбировать полость зуба цементом. Через 4-5 дней осмотреть пациента, если достигнуто удовлетворительное обесцвечивание, запломбировать, если нет, то можно повторить процедуру. Для того, чтобы не превысить нужной степени отбеливания и получить значительное обесцвечивание, желательно проводить процедуру отбеливания в несколько посещений. ««Endoperox paste»» показана для отбеливания депульпированных зубов, окрашенных, например, гемоглобином.

Еще одним препаратом для внутреннего отбеливания депульпированных зубов является «Opalescence Endo» (Ultradent, США), который представляет собой 35% раствор перекиси водорода. Комплектация набора – 2 шприца по 1,2 мл. При отбеливании девитальных зубов очень важно не размещать материал ниже альвеолярного гребня и изготовить изоляционный слой из стеклоиономерного цемента в устьевой части зуба для защиты корневого канала. Перед началом процедуры следует убедиться в герметичности и качестве obturации корневого канала зуба с помощью рентген-контроля, объяснив пациенту все существующие эстетические ограничения. Чтобы отбеливающий материал мог контактировать с внутренней структурой зуба для достижения оптимальных результатов удаляются все реставрационные материалы, временные и/или эндодонтические пломбировочные материалы. Помещая с помощью специальной насадки необходимое количество отбеливающего материала «Opalescence Endo» в созданную полость в коронке зуба, следует избегать контакта с мягкими тканями полости рта. После размещения безэвгенольного временного пломбировочного материала либо цемента поверх «Opalescence Endo» следует проверить окклюзионные контакты при выступающем и боковом выступающем движении. Неправильно сформированные окклюзионные контакты могут привести к разрушению временной реставрации и, как следствие, к подтеканию и выходу отбеливающего агента наружу.

Для того чтобы не превысить нужной степени отбеливания и при этом получить

достаточный эффект, желательно проводить процедуру отбеливания в несколько посещений, начиная восстановление зуба через 8-10 дней после последнего посещения. В этом случае полученный оттенок зуба сможет надежно стабилизироваться. После достижения желаемого эффекта зуб пломбируют с соблюдением техники использования бондинговых систем и композиционных материалов.

При некоторых видах окраски, вызванных металлическими сернистыми соединениями, применением резорцинформалиновой пасты, цвет зуба может приобретать насыщенный оттенок, который изменить отбеливанием или изготовлением простого винира не удастся. В таких случаях можно использовать технику «белого листа», при которой после одонтометрии (измерения высоты, ширины, толщины коронки) планируются будущие размеры, цвет, прозрачность и форма реставрации. Затем осуществляется снятие налета и определение цвета и прозрачности, а также удаление прежнего пломбирочного материала. Препарирование твердых тканей зуба проводится до истончения вестибулярной поверхности на толщину винира. После адгезивной обработки твердых тканей оттенком фотополимера, имеющим повышенную степень опакости, перекрывают всю пигментированную вестибулярную поверхность реставрируемого зуба. Опак, сильно рассеивающий свет, препятствуя отражению от неё света и создавая так называемый эффект «белого листа». Затем наносят опакующий слой композита сначала в придесневую область. Следующий, более светлый слой накладывают на предыдущий и распределяют в экваторной области в разных направлениях с помощью широкой гладилки или шпателя, покрывая белый opak. Процесс создания новых оттенков заканчивается в области режущего края. Необходимое количество слоев материала определяется индивидуально в зависимости от объема убыли твердых тканей. Смоделированную opakующую основу, восполняющую по форме и объему утраченный дентин зуба, покрывают эмалевыми оттенками материала в соответствии с выбранными ранее эталонами расцветки. Формируют придесневую область, а именно зубодесневой контур и пришеечную выпуклость, угол наклона вестибулярной площадки в области ре-

жущего края, эмалевые валики. При отделке реставрации воспроизводят макрорельеф поверхности и индивидуальную форму режущего края.

Для нейтрализации цвета пигментированных тканей зуба могут также использоваться специальные краски («Tetric Color», Ivoclar Vivadent; Charisma creactive CF 5, Kulzer; «Color Plus», Kerr). После выбора в соответствии с общими правилами opakовых и эмалевых шприцев композита подбирают необходимый краситель: белый и желтоватый для перекрытия темного дентина или желтоватокоричневый для маскировки белого слоя на дне полости. До этапа препарирования определяют толщину винира, которая зависит от положения зуба в дуге. После снятия налета осуществляется препарирование твердых тканей зуба, адгезивная подготовка в соответствии с выбранной бондинговой системой. Затем при помощи специального инструмента или кисточки на пигментированный дентин тонким слоем наносится краситель, который равномерно распределяют, покрывая все пигментированные участки, и полимеризуют светом галогеновой лампы. При необходимости наносят дополнительный слой. Затем осуществляют послойное наложение композита. Объем утраченного зубом дентина восполняют opakовыми цветами с восстановлением основной геометрической формы, мамелонов, моделированием признаков принадлежности зуба. Полупрозрачные оттенки фотополимера накладывают на резцовую область зуба, после чего моделируют режущий край.

Эмалевые тона используют аналогично типу прозрачности интактных зубов, формируя элементы макро- и микрорельефа поверхности, в том числе валики, борозды, площадки, придесневой контур, режущий край. Проводится обработка и полировка поверхности до естественного блеска [12, 13].

Заключение

Методы цветонейтрализующей техники широко применяются в терапевтической стоматологии для воссоздания или коррекции естественных оттенков цвета, прозрачности и оптических свойств депульпированных зубов. Знание и использование методик цветонейтра-

лизующей техники позволит существенно повысить эстетические свойства изготавливаемых конструкций с сохранением или цветовой коррекцией естественного вида зубного ряда.

Литература

1. Луцкая, И. К. Коррекция цвета депульпированных зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Терапевтическая стоматология. - 2013. - № 6. - С. 22-26.
2. Луцкая, И. К. Цветонейтрализующая техника в эстетической стоматологии / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Современная стоматология. - 2007. - № 4. - С. 20-24.
3. Луцкая, И. К. Воспроизведение светопрозрачности эмали при эстетическом реставрировании зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Стоматолог. - 2014. - № 2. - С. 46-51.
4. Луцкая, И. К. Методы клинического отбеливания зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Современная стоматология. - 2007. - № 2. - С. 4-9.
5. Луцкая, И. К. Имитация цвета и формы центральных резцов в реставрации / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Дентал Юг. - 2009. - № 12. - С. 28-29.
6. Удод, А. А. Комплексная клиническая система оценки качества реставрационных работ в стоматологии / А. А. Удод // Вісник стоматології. - 2007. - № 5. - С. 18-22.
7. Луцкая, И. К. Методы цветовой имитации зуба в эстетической стоматологии / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Dental Magazine. - 2013. - № 10. - С. 106-111.
8. Луцкая, И. К. Предупреждение возникновения дефектов цвета реставраций / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Стоматологический журнал. - 2007. - № 1. - С. 17-21.
9. Луцкая, И. К. Моделирование реставрации на основе зрительных иллюзий восприятия формы и объема / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Стоматологический журнал. - 2010. - № 3. - С. 236-238.
10. Луцкая, И. К. Параметры оценки эстетических реставраций / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Стоматологический журнал. - 2009. - № 3. - С. 217-222.
11. Луцкая, И. К. Этапы реставрации полостей III–IV класса по Блэку / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Стоматологический журнал. - 2008. - № 4. - С. 337-340.
12. Луцкая, И. К. Изготовление виниров, улучшающих цветовые характеристики постоянных зубов человека / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Новое в стоматологии. - 2008. - № 4. - С. 46-55.
13. Луцкая, И. К. Обоснование алгоритма моделирования эстетических реставраций / И. К. Луцкая // Современная стоматология. - 2013. - № 2. - С. 24-28.

Поступила 05.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Байтус Н.А. – аспирант кафедры терапевтической стоматологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г.Витебск, ул.Правды, д.66, к.1, кв.143. Тел. моб.: +375 (29) 714-29-72, e-mail: nina.belarus@mail.ru – Байтус Нина Александровна.

© МОИСЕЕВ Д.В., 2014

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, СОДЕРЖАЩЕГО ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА УПАКОВКИ И ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ ХРАНЕНИЯ

МОИСЕЕВ Д.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Проведено сравнение антимикробной активности девяти видов растительного сырья, содержащего фенольные соединения. Оценка проводилась методом диффузии в агар с использованием следующих штаммов микроорганизмов: *Escherichia coli* (ATCC 16404), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), а также дрожжевых грибов *Candida albicans* (ATCC 10231). В качестве референтных препаратов использовали растворы антимикробных лекарственных средств: гентамицин, ципрофлоксацин, цефотаксим и цефтриаксон в концентрациях от 0,5 до 32 мкг/мл. Установлена активность для четырех видов сырья (цветки лабазника вязолистного, листья бадана толстолистного, брусники обыкновенной и ольхи черной). Для сырья наблюдался четкий дозозависимый эффект. При длительном хранении в естественных условиях снижение антимикробной активности практически не наблюдается как для сырья в герметичной, так и в негерметичной упаковке. Увеличение влажности хранящегося сырья приводит к снижению антимикробной активности.

Ключевые слова: антимикробная активность, лабазник вязолистный, бадан толстолистный, брусника обыкновенная, ольха черная.

Abstract.

Antimicrobial activity of nine kinds of the herbal substances, containing phenolic compounds have been compared. The estimation has been made by the diffusion method to an agar with the use of the following microorganisms strains: *Escherichia coli* (ATCC 16404), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), and also yeast fungi *Candida albicans* (ATCC 10231). As reference preparations the solutions of antimicrobial medicinal remedies have been used, such as: gentamycin, ciprofloxacin, cefotaxime, and ceftriaxone in the concentrations from 0,5 to 32 mkg/ml. The activity for four kinds of medicinal plants (flowers of European meadowsweet, leaves of leather bergenia, leaves of cow-berry and leaves of black alder) has been determined. For herbal substances distinct dose dependent effect is observed. On long-term storage in natural conditions the decrease of antimicrobial activity is practically not observed, both for herbal substances in hermetic, and in non-hermetic package. The increase in humidity of the stored herbal substances leads to the decrease of antimicrobial activity.

Key words: antimicrobial activity, European meadowsweet, leather bergenia, cow-berry, black alder.

Любое лекарственное средство разрабатывается с учетом требований по эффективности, безопасности и качеству. В течение заявленного срока годности лекарственное средство должно удовлетворять всем требованиям регистрационного досье, в том числе и по показателям эффективности.

От синтетических лекарственных средств растительное сырье отличается тем, что в зависимости от упаковки деструкция биологиче-

ски активных веществ, по которым проводится стандартизация, в течение срока годности может достигать 50%. Для оценки влияния внешних факторов на стабильность синтетических фармацевтических субстанций и выработки решений по упаковке, в максимальной степени обеспечивающей сохранность, в настоящее время широко используются стресс-тесты (кислотный и щелочной гидролиз, нагревание, окисление, действие катионов железа и меди,

а также облучения). Для оценки стабильности лекарственных средств при хранении используются ускоренные испытания. Для стран Европейского региона они проводятся при температуре $40 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $70 \pm 5\%$ в течение периода не менее 6 месяцев [1]. Методология проведения подобных испытаний и результаты оценки деструкции активных веществ для нескольких видов лекарственного растительного сырья были подробно рассмотрены в наших публикациях [2, 3]. В исследовании часть серии растительного сырья измельчали до размера крупного порошка (2000 мкм), другую часть оставляли целой. Сырье помещали в контейнеры как допускающие газообмен с внешней средой, так и герметично закупоренные. При этом в герметично закупоренных контейнерах создавали искусственную влажность (потерю в массе при высушивании) для сырья около 8-10% (кратковременно подсушивали сырье при температуре 85°C), около 11-13% (естественная влажность при воздушно-теновой сушке) и 25% (к навеске сырья с установленной влажностью добавляли рассчитанный объем воды до влажности 25%, перемешивали на вортекс-шейкере и сразу закупоривали). Хранение с периодическим переконтролем осуществляли в естественных условиях ($25 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение трех лет) и в термостатах при 40°C (274 дня) и 60°C (68 дней).

При определении сроков годности растительного сырья допускается снижение содержания активных веществ не более чем на 5% от исходного, а маркерных компонентов растительного сырья до 10% за весь период хранения [4, 5]. В герметичной упаковке относительное содержание фенольных соединений, по которым проводится стандартизация, за два года хранения (срок годности) в естественных условиях при пониженной влажности (около 9%) уменьшается на 5 – 10%, естественной (около 13%) на 10 – 30%, при повышенной влажности (около 25%) деструктируется до 70% веществ, в зависимости от вида сырья. В негерметичной упаковке за два года хранения исходное содержание БАВ снижается до 10% от исходного уровня для изучаемого сырья.

Данные о стабильности активных веществ в ЛРС, полученные в ходе ускоренных испытаний (40° и 60°C), коррелированы с данными, полученными при хранении ЛРС в естественных условиях. Скорость химических

реакций увеличивается в 2-3 раза при повышении температуры на каждые 10°C . Увеличение влажности сырья приводит к ускорению реакций деструкции активных компонентов. Установлено, что изменения содержания действующих веществ подчиняются общим закономерностям для каждого из изученных видов растительного сырья и кривые деструкции активных компонентов при 40°C находятся между кривыми деструкции для температур 25°C и 60°C . Поэтому было принято решение о сравнении антимикробной активности для граничных значений (растительное сырье, хранящееся в негерметичной упаковке и влажностью 9, 13 и 25% при 25°C в течение трех лет, в негерметичной упаковке и при влажности 25% при 60°C в течение 68 дней, в сравнении со свежепереработанным).

Целью настоящего исследования являлось сравнение антимикробной активности в растительном сырье при долгосрочных и ускоренных испытаниях для обоснования выбора первичной упаковки.

Методы

В исследованиях использовали растительное сырье, содержащее фенольные соединения: листья бадана толстолистного, листья брусники обыкновенной, трава зверобоя продырявленного, корневище горца татарского, цветки лабазника вязолистного, цветки девясилы высокого, цветки рудбекии шершавой, листья ольхи серой, листья ольхи черной. Растительное сырье заготавливалось в соответствии с рекомендациями ГАСР (Надлежащая практика сельскохозяйственного производства лекарственного растительного сырья) и отечественными рекомендациями [6]. Растительное сырье измельчали до размера крупного порошка (2000 мкм) и помещали в стеклянные контейнеры как допускающие газообмен с внешней средой, так и герметично закупоренные. При этом в герметично закупоренных контейнерах искусственно создавали влажность для сырья около 9%, 13% и 25%. Закладку на хранение осуществляли при температуре $25 \pm 5^\circ\text{C}$ и в термостате при 60°C . Экстракцию из растительного сырья проводили теми же растворителями, что и для количественного определения. Соотношение сырья и экстрагента составляло 1 к 50. Полученные экстракты

упаривали досуха и суспендировали полученные сухие остатки в таком же объеме воды для инъекций, как и для экстракции при помощи ультразвука.

Антимикробную активность суммы БАВ для трех видов растительного сырья до и после хранения в различных условиях исследовали на четырех видах микроорганизмов: грамотрицательные палочки факультативные анаэробы *Escherichia coli* (АТСС 16404) и аэробные *Pseudomonas aeruginosa* (АТСС 9027), аэробные грамположительные спорообразующие палочки *Bacillus subtilis* (АТСС 6633) и факультативно-анаэробные грамположительные кокки *Staphylococcus aureus* (АТСС 6538), а также дрожжевых грибов *Candida albicans* (АТСС 10231) производитель «Microbiologics» (США). Антибактериальную активность определяли с использованием метода диффузии в агар [7]. Для исследования применяли чистые культуры микроорганизмов, которые предварительно выращивали при температуре 37°C в течение 24 часов на скошенном мясопептонном агаре (МПА). Стандартную бактериальную суспензию готовили на стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида. Для этого бактериологической петлей вносили исследуемую культуру в стерильный флакон со стерильным физраствором и доводили концентрацию микроорганизмов до значения 0,5 единиц стандарта мутности по McFarland. Расплавленный и остуженный до 56°C МПА разливали в чашки Петри. На застывший агар с помощью автоматической пипетки в стерильных условиях в чашки Петри вносили по 1,0 мл соответствующей взвеси микроорганизмов. После равномерного распределения микроорганизмов по всей поверхности агара чашки инкубировали при комнатной температуре в течение 15-20 минут. Затем на чашке с микроорганизмами делали семь лунок диаметром 6,0 мм. Далее с помощью автоматической микропипетки в шесть лунок вносили по 20 μ л извлечений из растительного сырья в трех дозах, в одну лунку в качестве контроля вносили воду для инъекций, которую использовали для разведения проб. Пробы инкубировали при температуре при 37°C в течение 16 часов (микроорганизмы) и при 30°C для *Candida albicans* и оценивали рост микроорганизмов. Учет результатов проводили по наличию или отсутствию роста бактерий вокруг лунок с извлечением путем

измерения диаметра зоны вокруг лунки в миллиметрах.

Для сравнительной оценки антимикробной активности растительных экстрактов использовали водные растворы четырех антибиотиков: гентамицин сульфат, цефотаксим, цефтриаксон и ципрофлоксацин. Для приготовления использовали антибиотики следующих производителей: гентамицина сульфата 4% раствор (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», серия 170213), цефотаксим лиофилизированный порошок для инъекций 1,0 г (ОАО «БЗМП», серия 380512), цефтриаксон лиофилизированный порошок для инъекций 1,0 г (ОАО «БЗМП», серия 860812) и ципрофлоксацин капсулы 250 мг №20 (РУП «Белмедпрепараты», серия 111013). Из перечисленных антибиотиков готовили водные растворы концентрации 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 и 32 мкг/мл методом последовательного разведения исходных растворов. Гентамицин – аминогликозид широкого спектра действия с высокой активностью против стафилококков, некоторых штаммов стрептококка, многих грамотрицательных микроорганизмов; ципрофлоксацин – фторхинолон с высокой активностью против большинства грамотрицательных микроорганизмов, стафилококка, микроорганизмов, продуцирующих бета-лактамазу. Цефотаксим и цефтриаксон – цефалоспорины III-го поколения, высокоактивны в отношении грамотрицательных микроорганизмов, цефтриаксон активен еще и в отношении грамположительных микроорганизмов [8].

Результаты и обсуждение

Экспериментально установлено, что растворы гентамицина и ципрофлоксацина проявляют высокую активность в отношении *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и среднюю активность в отношении изученного штамма *Pseudomonas aeruginosa*. Растворы цефтриаксона и цефотаксима активны в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, неактивны в отношении *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aeruginosa* (табл. 1).

Полученные экспериментальные данные по ингибированию роста микроорганизмов представлены в таблицах 2-6. При интерпретации результатов условно приняли, что диаметр задержки роста микроорганизма свыше

Таблица 1 – Диаметр зон ингибирования роста различными антимикробными средствами (n=3)

С, мкг/мл	гентамицин				ципрофлоксацин				цефтриаксон				цефотаксим			
	B/s	E/c	P/a	S/a	B/s	E/c	P/a	S/a	B/s	E/c	P/a	S/a	B/s	E/c	P/a	S/a
32	18,5	16,5	12,5	17,5	28	24	24	30	11	24	-	21	-	26	-	27
16	17	15	9	15,5	27	21	21	27	6,5	21	-	21	-	24	-	25
8	15	12	6	14	23	18	16	26	-	20	-	18	-	21	-	23
4	13	11	-	12	18	13	13	24	-	17	-	17	-	19	-	21
2	8	7,5	-	8,5	16	10	12	21	-	17	-	16	-	18	-	18
1	6,1	6	-	6	13	6	7	18	-	16	-	12	-	17	-	14
0,5	6	-	-	-	7	-	-	14	-	14	-	8	-	14	-	11

Примечание: « - » – отсутствие активности.

Таблица 2 – Влияние растительных экстрактов на ингибирование роста *Bacillus subtilis* (n=3)

		Свеже- перера- ботанное	60°C открытое	60°C 25%	20°C открытое	20°C мин. влаж.	20°C сред. влаж.	20°C макс. влаж.
Бадан	Макс. доза	13,8	13,5	10	13,5	13,5	13,5	13
	Сред. доза	11	10,5	6,8	10,5	11	11	10
	Мин. доза	8	7,5	6,2	8	8	8	7,7
Брусника	Макс. доза	6,5	6,3	нет	6,4	6,5	6,5	нет
	Сред. доза	нет						
	Мин. доза	нет						
Лабазник	Макс. доза	14	13,5	10	13	13	13	10
	Сред. доза	11	11	7	11	11	11	7,5
	Мин. доза	9	8,5	6,5	8	8	8	7
Ольха черная	Макс. доза	9,5	9	7,3	6,8	6,8	6,8	6,4
	Сред. доза	7,5	7	6,5	6,5	6,2	6,2	6,1
	Мин. доза	6,5	6,3	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1

15 мм – высокая активность, 10-15 мм средняя активность, 6-10 мм низкая активность.

Как видно из таблицы 2, наиболее высокую антимикробную активность по отношению к *Bacillus subtilis* проявляют высокие и средние дозы цветков лабазника вязолистного и листьев бадана толстолистного (сопоставима с концентрациями гентамицина 2-16 мкг/мл и ципрофлоксацина 1-8 мкг/мл) для всех доз свежезаготовленного сырья. Снижение активности достоверно при хранении сырья с высокой влажностью (25%) как при 20°C, так и при 60°C. Листья ольхи черной проявляют низкую активность (в пересчете на гентамицин 0,5-2 мкг/мл и ципрофлоксацин 0,5 мкг/мл). Четко заметен дозозависимый эффект. Экстракты из листьев брусники обыкновенной, листьев ольхи серой, травы зверобоя продырявленного,

корневище горца татарского, цветков девясилы высокого, цветков рудбекии шершавой и корневище горца татарского не обладают активностью против *Bacillus subtilis* (табл. 3).

По отношению к штамму *Escherichia coli* средней активностью обладают экстракты из цветков лабазника в высоких и средних дозах и из листьев ольхи черной в высокой дозе, причем хранение при повышенной влажности достоверно снижает антимикробный эффект. Антимикробный эффект свежепереработанных цветков лабазника вязолистного сопоставим с действием гентамицина и ципрофлоксацина в концентрации от 1 до 8 мкг/мл, а листьев ольхи черной с концентрациями этих антимикробных средств в концентрациях до 2 мкг/мл. Остальные растительные экстракты активности против *Escherichia coli* не проявляли (табл. 4).

Таблица 3 – Влияние растительных экстрактов на замедление роста *Escherichia coli* (n=3)

		Свежепере- работанное	60°C открытое	60°C 25%	20°C открытое	20°C мин. влаж.	20°C сред. влаж.	20°C макс. влаж.
Лабазник	Макс. доза	13	12,8	9,3	13	13	13	9,3
	Сред. доза	11,5	11	7	11	11	11	8
	Мин. доза	9	8,5	7	9	9	9	7
Ольха черная	Макс. доза	9,3	9,3	8,2	7,4	7,3	7,3	7
	Сред. доза	8,5	8,5	7	6,3	6,3	6,3	6,1
	Мин. доза	6,2	6,2	нет	нет	нет	нет	нет

Таблица 4 – Влияние растительных экстрактов на замедление роста *Pseudomonas aeruginosa* (n=3)

		Свежепере- работанное	60°C открытое	60°C 25%	20°C открытое	20°C мин. влаж.	20°C сред. влаж.	20°C макс. влаж.
Бадан	Макс. доза	14,5	13,8	8	14	14	14	12,5
	Сред. доза	10	10	6,5	10	10	10	9,5
	Мин. доза	8	8	6,2	7,5	7,5	8	7
Брусника	Макс. доза	11	11	нет	10	10	10	9
	Сред. доза	10	10	нет	9	9	9	6,5
	Мин. доза	нет						
Лабазник	Макс. доза	19	18	13,5	18	18	18	13
	Сред. доза	14	13	11	13	13	13	11
	Мин. доза	10	10	9	10	10	10	9
Ольха черная	Макс. доза	9,3	9,3	7	7	7,5	7,5	6,2
	Сред. доза	7	6,8	6,5	6,2	6,1	6,1	6,1
	Мин. доза	6,2	6,2	нет	нет	6,1	нет	нет

Против *Pseudomonas aeruginosa* активны экстракты четырех растений (бадан, брусника, лабазник, ольха черная). Высокие дозы экстрактов из цветков лабазника высокоактивны против *Pseudomonas aeruginosa*, среднюю активность проявляют высокие дозы экстрактов из листьев бадана и брусники, а также средняя доза цветков лабазника. Повышение влажности сырья до 25% достоверно приводит к снижению антимикробной активности. Для всех растений наблюдается дозозависимый эффект (табл. 5).

Наиболее активны против *Staphylococcus aureus* экстракты из цветков лабазника и листьев бадана в высоких дозах. Листья ольхи черной и брусники проявляют низкую активность. Экстракты из остальных растений неактивны в отношении *Staphylococcus aureus* в изучаемых дозах (табл. 6).

Цветки лабазника, листья ольхи черной и бадана даже в высоких дозах практически не проявляют активности против *Candida albicans*.

Заключение

Антимикробную активность против изученных штаммов микроорганизмов проявляли экстракты из четырех растений (цветки лабазника вязолистного, листья бадана толстолистно, брусники обыкновенной и ольхи черной). Для сырья наблюдался четкий дозозависимый антимикробный эффект. Доказано, что при длительном хранении в естественных условиях снижение антимикробной активности практически не наблюдается как для сырья в герметичной, так и в негерметичной упаковке. Снижение антимикробной актив-

Таблица 5 – Влияние растительных экстрактов на замедление роста *Staphylococcus aureus* (n=3)

		Свежепере- работанное	60°C открытое	60°C 25%	20°C открытое	20°C мин. влаж.	20°C сред. влаж.	20°C макс. влаж.
Бадан	Макс. доза	13	13	8,5	13	13	13	13
	Сред. доза	11	11	7	11	11	11	10
	Мин. доза	10	9,5	6,5	9	9	9	8,5
Брусника	Макс. доза	6,5	6,5	нет	6,5	6,5	6,5	6,2
	Сред. доза	6,2	6,2	нет	6,2	6,2	6,2	нет
	мин доза	нет						
Лабазник	Макс. доза	13,8	13	8,3	13	13	13	9
	Сред. доза	11	11	7	10,5	11	11	7,5
	Мин. доза	9	9	6,5	7,5	8	8	7
Ольха черная	Макс. доза	9,8	9,5	8,3	7,3	8	7,8	6,9
	Сред. доза	7	7	6,3	6,1	6,2	6,2	нет
	Мин. доза	6,5	6,4	нет				

Таблица 6 – Влияние растительных экстрактов на замедление роста *Candida albicans*

		свежее	60°C открытое	60°C 25%	20°C открытое	20°C мин. влаж.	20°C сред. влаж.	20°C макс. влаж.
Бадан	Макс. доза	10	11	6,5	11,5	10,5	10,5	10
	Сред. доза	8	8	6,2	10	8	8	8
	Мин. доза	6,3	6,3	6,1	6,3	6,3	6,3	6,2
Лабазник	Макс. доза	10	11	6,1	7	7	8	6,2
	Сред. доза	7	6,5	нет	6,5	7	6,3	нет
	Мин. доза	6,3	6,5	нет	6,2	нет	6,2	нет
Ольха черная	Макс. доза	6,2	6,1	6	6,2	6,1	6,1	нет
	Сред. доза	6,1	6,1	нет	нет	нет	нет	нет
	Мин. доза	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет

ности возможно происходит из-за снижения количества фенольных соединений, которые гидролизуются при хранении растительного сырья при повышенной влажности. Поэтому при промышленном производстве с целью максимальной защиты действующих веществ от деструкции и сохранения антимикробной активности при первичной переработке необходима сушка сырья до влажности около 10% и применение герметичной упаковки.

Для остального сырья – травы зверобоя продырявленного, корневища горца татарского, цветков девясила высокого, цветков рудбекии шершавой, листьев ольхи серой – активность против изучаемых штаммов для всех изученных доз не установлена.

Автор выражает благодарность всем сотрудникам кафедры клинической микробиологии УО «ВГМУ» за оказанную поддержку при проведении исследований.

Литература

1. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products [Electronic resource] // WHO Technical Report Series. – 2009. – N 953. – Mode of access: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19133en/s19133en.pdf>.
2. Моисеев, Д. В. Новый метод определения сроков годности лекарственного растительного сырья (листья *Rhaponticum Carthamoides*) на основе стресс-теста «ускоренное старение» / Д.

- В. Моисеев // Рецепт. – 2012. – № 2. – С. 47–54.
3. Моисеев, Д. В. Кинетика реакции деструкции арбутина в листьях брусники обыкновенной при хранении в естественных и стрессовых условиях / Д. В. Моисеев // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2013. – № 2. – С. 106–111.
 4. ТКП 451-2012 (02041), ВУ. Производство лекарственных средств. Требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения = Вытворчасць лекавых сродкаў. Патрабаванні да якасці лекавых сродкаў расліннага паходжання. – Введ. 01.03.13. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности, [2013]. – 19 с.
 5. ТКП 454-2012 (02041), ВУ. Производство лекарственных средств. Спецификации: методы испытаний и критерии приемлемости для лекарственного растительного сырья, продуктов из лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения = Вытворчасць лекавых сродкаў. Спецыфікацыі: метады выпрабаванняў і крытэрыі прыёмальнасці для лекавай расліннай сыравіны, прадуктаў з лекавай расліннай сыравіны і лекавых сродкаў расліннага паходжання. – Введ. 01.03.13. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности, [2013]. – 17 с.
 6. ТКП 450-2012 (02041), ВУ. Производство лекарственных средств. Надлежащая практика выращивания, сбора, хранения лекарственного растительного сырья = Вытворчасць лекавых сродкаў. Належная практыка вырошчвання, збору, захоўвання лекавай расліннай сыравіны. – Введ. 01.03.13. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности, [2013]. – 14 с.
 7. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытания в здравоохранении ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно : Победа, 2012. – 1220 с.
 8. Реестр лекарственных средств Республики Беларусь [Электронный ресурс] // Реестры УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» : [сайт]. – Режим доступа: www.rceth.by/Refbank/reestr_lekarstvennih_sredstv/. – Дата доступа: 29.09.2014.

Поступила 30.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Моисеев Д.В. – к.ф.н., доцент, заведующий кафедрой стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК. Тел.моб.: +375 (29) 710-24-38, e-mail: www.ussr80@yandex.ru – Моисеев Дмитрий Владимирович.

ТУБЕРОЗНЫЙ СКЛЕРОЗ: СЛУЧАИ ПОЗДНЕГО ДИАГНОЗА

КОЗИН В.М.*, АЗАД АЛЬ-ХАЛИЛ**, КОЗИНА Ю.В.*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

**Клиника кожных болезней, Германия

Резюме.

Целью исследования явилось изучение особенностей клинических проявлений, течения туберозного склероза на примере случаев из нашей практики, выявленных у двух пациенток в возрасте 32 и 38 лет.

Туберозный склероз (болезнь Прингла-Бурневилля) – редкое генетическое заболевание с характерными проявлениями на коже, поражением нервной системы, внутренних органов, органа зрения, костной и нейроэндокринной системы. Представлены 2 пациентки 32 и 38 лет, наблюдавшиеся у дерматологов по поводу розацеа и папилломатоза ногтевых валиков. Нами у этих пациенток выявлены множественные ангиофибромы лица и области дистальных фаланг пальцев, у одной из них также и единичные ангиофибромы на туловище и волосистой части головы. Гипопигментированных пятен, «шагреновых» бляшек на кожном покрове не обнаружено. Обе пациентки страдают эпилепсией, а пациентка Г., 32 лет и поведенческими психическими расстройствами. У пациентки С., 38 лет по поводу гамартром удалена правая почка, а в левой почке выявлены множественные ангиомиолипомы. Приведенные 2 случая поздней диагностики туберозного склероза во многом связаны с недооценкой дерматологами, косметологами и врачами других специальностей синдромальных проявлений, наблюдающихся при туберозном склерозе.

Ключевые слова: туберозный склероз, диагностика, клинические случаи.

Abstract.

The aim of this study was to investigate the characteristic features of clinical manifestations, course of tuberous sclerosis using as an example cases from our own practice revealed in two female patients (aged 32 and 38 years). Tuberous sclerosis (Bourneville's-Pringle's disease) is a rare genetic condition characterized by skin, nervous system, internal organs, organs of vision, bone and neuroendocrine system lesions.

Two patients at the age of 32 and 38 years, respectively, who were observed by dermatologists because of rosacea and papillomatosis of nail walls have been presented.

Multiple facial and distal phalanges angiofibromas have been revealed in these patients, one of them has also single angiofibromas on the trunk and the scalp.

No hypopigmented spots, «shagreen» plaques on the integument have been found.

Both female patients suffer from epilepsy, and the patient G. (32 years old) from behavioral mental disorders as well.

The right kidney of the patient S. (38 years old) has been removed due to hamartomas and multiple angiomyolipomas have been revealed in her left kidney.

The presented 2 cases of late diagnosis of tuberous sclerosis are in many respects associated with the underestimation of the syndromic manifestations observed in tuberous sclerosis by dermatologists, cosmetologists and physicians of other specialities.

Key words: tuberous sclerosis, diagnosis, clinical cases.

Туберозный склероз (син.: sclerosis tuberosa, эпилоя, болезнь Бурневилля, аденома сальных желез Прингла) – редкое генетическое заболевание с характерными проявлениями на коже и поражением нервной системы, внутрен-

них органов, органа зрения, костной и нейроэндокринной системы. Популяционная частота – 1:10000. Спонтанные мутации возникают у 2/3 пациентов, у остальных заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу [1, 2].

В 1862 г. немецкий врач Friedrich Daniel von Recklinghausen впервые доложил на собрании патолого-анатомического общества случай смерти младенца, у которого обнаружены несколько опухолей в сердце и множественные очаги склероза в мозге. В 1880 г. французский невропатолог Magloire Bourneville подробно описал изменения, возникающие в головном мозге при этом заболевании. В 1890 г. английский дерматолог John James Pringle выделил его в самостоятельную нозологическую форму.

Проявления на коже. Ангиофибромы – папулы или узлы (аденомы сальных желез), красные или не отличающиеся по цвету от нормальной кожи, выявляются более чем у 70% больных. Локализуются на лице, ногтевых валиках рук и ног, на других участках кожного покрова.

Опухоль Кенена (околоногтевая фиброма) – папула или узел ногтевого валика, появляется в позднем детском возрасте. Гистологически представляет собой ангиофиброму.

Гипопигментные пятна – обычно более трех, белые с желтоватым или сероватым оттенком, выявляются у 80% пациентов и более. Локализуются на туловище, ногах, руках, голове и шее.

«Шагреновые бляшки» (соединительнотканый невус) – слегка приподнятые над поверхностью кожи мягкие бляшки с бугристой поверхностью, напоминающей кожуру апельсина, обнаруживаются у 40% больных. Локализуются на спине и ягодицах.

Изменения со стороны других органов. ЦНС – судорожные приступы, эпилепсия, умственная отсталость, нарушения поведения, изменения в цикле сон-бодрствование. Наиболее типичными нарушениями в головном мозге являются корковые туберсы и субэпендимные узлы, иногда выявляются астроцитомы [2]. Почки: ангиомиолипомы и кисты, редко – карциномы; нарушения со стороны почек, как правило, появляются на 2-м – 3-м десятилетии жизни. Сердечно-сосудистая система: рабдомиомы сердца, которые могут локализоваться в любой полости сердца, но преимущественно – в желудочках. Орган зрения: доброкачественные опухоли сетчатки и зрительного нерва (часто множественные). Желудочно-кишечный тракт: в полости рта – узловые опухоли, фибромы или папилломы, дефекты эмали зубов; печень – одиночные и

множественные гамартомы и ангиомиолипомы, прямая кишка – ректальные полипы. Органы дыхания: лимфангиомиоматоз легких, которые вовлекаются в патологический процесс после 30 лет. Щитовидная железа: гамартомы.

Туберозный склероз (ТБ) следует заподозрить, если на коже ребенка или взрослого пациента обнаруживается пять и более гипопигментированных пятен и, особенно, пятен в виде рассыпанных конфетти [1].

При подозрении на туберозный склероз пациенту кроме дерматолога необходимы заключения невропатолога, психиатра, терапевта, эндокринолога, уролога, проктолога и специальные исследования: КТ головного мозга и/или МРТ, электроэнцефалография, УЗИ внутренних органов, почек, надпочечников, эхокардиография, электрокардиография, УЗИ щитовидной железы, рентгенограммы костей и легких, анализы крови и мочи.

Проводят физикальное, инструментальное, генетическое обследования как пациента так и его родственников.

Лечение ТБ симптоматическое, при наличии судорожного синдрома назначают противосудорожные препараты, проводят нейропсихологическую реабилитацию. На ангиофибромы лица воздействуют лазером, прижиганием, показана дермабразия. При опухолях внутренних органов, ЦНС – хирургическая тактика

Целью исследования явилось изучение особенностей клинических проявлений, течения туберозного склероза на примере случаев из нашей практики, выявленных у двух пациентов в возрасте 32 и 38 лет.

Объектом исследования послужили две пациентки Витебского областного клинического кожно-венерологического диспансера, направленные на консультацию кафедры.

Результаты и обсуждение

Первый случай: больная С., 1971 г.р., жительница города Орши, работает медсестрой в одной из её поликлиник. Была направлена из ГКВД 20.04.2010г. на консультацию кафедры с диагнозом: «Розацеа, папуло-пустулезная форма». Пациентка предъявляла жалобы на высыпания на коже лица, которые беспокоили её на протяжении 5 лет, обращалась к врачам-

дерматологам и лечилась по поводу розацеа без особого эффекта.

Отмечает эпилептические припадки с 13-летнего возраста. При обращении в Витебский областной диагностический центр 26.08.2009 г. пациентке была проведена электроэнцефалография: выявлены диффузные изменения биоэлектрической активности нейронов головного мозга, умеренное снижение их функциональной активности. Фокальные изменения. Очаговое преобладание в диапазоне тета-ритма в височной доле слева. Компьютерная томография головного мозга: киста прозрачной перегородки.

На основании жалоб пациентки, анамнеза, объективного осмотра, дополнительных методов исследования врач-невролог установил клинический диагноз: криптогенная эпилепсия, локализованная форма, вторичные генерализованные тоникоклонические припадки, сложные парциальные припадки с псевдоабсансами.

В апреле 2008 г. больной была проведена операция по удалению не функционирующей правой почки (врожденные пороки – гамартомы); были также обнаружены: киста латеральной ножки правого надпочечника и лимфоаденопатия ретрокавальной области. В левой почке выявлены множественные ангиомиолипомы.

Пациентка психически адекватна, без вредных привычек, с выраженной эмоциональной реакцией. Замужем, имеет одного ребенка, беременность и роды протекали нормально.

При дерматологическом осмотре на носу и прилегающих участках щек множественные ангиофибromы в виде папул и небольших узлов красно-розового цвета. На пятом пальце левой стопы, в области живота и на волосистой части головы видны ангиофибromы красно-розового цвета милиарно-лентикулярного характера (рис. 1).

На основании жалоб пациентки, анамнеза, нашего объективного осмотра, заключений



Рисунок 1 – На носу и прилегающих участках – множественные ангиофибromы узелково-узловатого характера; на пятом пальце правой стопы, в области живота и на волосистой части головы видны единичные ангиофибromы красно-розового цвета.

невролога и уролога был установлен диагноз «Туберозный склероз: ангиофибромы лица, туловища, волосистой части головы, V пальца левой стопы. Криптогенная эпилепсия. Ангиомиолипомы левой почки. Эктомия правой почки по поводу гамартом».

Пациентке рекомендовано: наблюдение дерматолога, онколога, психиатра, невропатолога, терапевта, поэтапная лазерная деструкция ангиофибром на лице (онколог, косметолог).

Второй случай: больная Г., 1978 г.р., жительница г.Витебска, работает уборщицей. Была направлена 20.04.2010 г. на консультацию кафедры с диагнозом «Плоскоклеточный папилломатоз кожи валиков пальцев стоп с гиперкератозом». Пациентка жалуется на поражение кожи лица, пальцев рук и ног. С детства больна эпилепсией, которой страдает и в настоящее время. Пациентка психически не совсем адекватна, не замужем.

При осмотре: на коже носа и прилегающих участках щек видны множественные ангиофибромы в виде папул красно-розового цве-

та (рис. 2). На всех пальцах стоп и на третьем пальце правой кисти выявлены ангиофибромы красно-розового цвета. На части ногтевых фаланг стоп ангиофиброматозные разрастания вызвали разрушение ногтевых пластинок. Гипопигментированных пятен, «шагреневых» бляшек и ангиофибром на других участках тела и волосистой части головы не обнаружено.

На основании жалоб пациентки, анамнеза, объективного осмотра установлен диагноз «Туберозный склероз: ангиофибромы лица, опухоли Кенена пальцев стоп и кистей. Эпилепсия».

Пациентке рекомендовано дообследование по системам, лечение опухолей Кенена – у онколога, а ангиофибром на лице (аденом сальных желез) – косметологическая тактика. Например, воздействие на элементы CO₂-лазером.

Заключение

Пациенты с ангиофибромами лица наблюдаются у дерматолога под диагнозом «Ро-



Рисунок 2 – Туберозный склероз: ангиофиброматозные поражения лица и ногтевых фаланг пальцев стоп и кистей красно-розового цвета.

зацеа», лечение приносит им временное улучшение, хотя в мировой литературе описаны случаи сочетания туберозного склероза с розацеа или периоральным дерматитом.

Ангиофиброммы на пальцах рук и ног принимаются за папилломы, пациенты самостоятельно или по направлению врача обращаются к косметологу для их удаления.

Дерматологам и косметологам, кроме поражений у пациентов лица типа «Розацеа», следует учитывать возможность наличия у них ангиофибром на лице, в области пальцев стоп и рук (опухолей Кенена), ангиофибром на туловище и волосистой части головы, гипопигментированных пятен, «шагреновых бляшек», эпилепсии и психических расстройств, поражений других органов (почки, надпочечники, головной мозг, сердце, орган зрения).

У представленных пациенток 32 и 38 лет гипопигментированные пятна и «шагреновые бляшки» на кожном покрове не обнаружены. Обе пациентки страдают эпилепсией, а пациентка Г., 32 лет, и поведенческими психическими расстройствами. У пациентки С., 38 лет,

удалена правая не функционирующая почка в результате ее врожденных пороков (гамартомы), а в левой выявлены множественные ангиомиолипомы.

Приведенные 2 случая поздней диагностики туберозного склероза во многом связаны с недооценкой дерматологами, косметологами и врачами других специальностей синдромальных проявлений заболевания: красно-розовые узелки на лице, опухоли Кенена, эпилепсия, поражение внутренних органов. Пациентам с подозрением на туберозный склероз требуются полисистемное обследование и проведение адекватных лечебных мероприятий.

Литература

1. Дерматология : атлас-справочник : пер. с англ. / Т. Фицпатрик [и др.]. – М. : Практика, 1999. – С. 460-465.
2. Хебиф, Т. П. Кожные болезни. Диагностика и лечение : пер. с англ. / Т. П. Хебиф ; под общ. ред. А. А. Кубановой. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – С. 570-573.

Поступила 19.11.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Козин В.М. – д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Азад Аль-Халил – врач-ординатор Клиники кожных болезней, г. Люнебург, Германия;

Козина Ю.В. – к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра дерматовенерологии. Тел. моб.: +375 (029) 891-84-10 – Козин Владимир Михайлович.

ЧРЕЗМЕРНАЯ ГИПОКОАГУЛЯЦИЯ СВЯЗАНА С ПОВЫШЕННЫМ РИСКОМ ДЕМЕНЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

На ежегодном собрании американской кардиологической ассоциации (АНА, Чикаго - 19 ноября 2014 г.) д-р Джаред Банч (Jared Bunch, MD, Intermountain Health System, Salt Lake City, Utah) сообщил, что у 240 из 1031 пациента с фибрилляцией предсердий, которые получали антикоагулянтную терапию варфарином и также антитромбоцитарную терапию аспирином, обнаружено увеличение риска развития деменции до 5,8% в течение 4 лет, если они более 25% времени были с МНО (международное нормализованное отношение) выше 3,4. Эти данные подтверждают воз-

можность хронической церебральной травмы в результате чрезмерной гипокоагуляции с развитием микрокровоизлияний как механизма, который лежит в основе ассоциации фибрилляции предсердий и деменции.

Источник: Bunch, J. Percent Time With a Supratherapeutic INR in Atrial Fibrillation Patients Using an Antiplatelet Agent Is Associated With Long-Term Risk of Dementia / J. Bunch // 2014 Annual Meeting of the American Heart Association (AHA). Abstract 13426. <http://dgnews.docguide.com> (on-line публикация).

ВОЗДЕЙСТВИЕ КОФЕ НА БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

В систематическом обзоре о влиянии кофе на лабораторные тесты печени продемонстрировано, что регулярное потребление кофе связано со снижением в сыворотке крови уровня аминотрансфераз у лиц с заболеваниями печени. При регулярном употреблении кофе снижается риск развития цирроза печени, а у пациентов с циррозом печени отмечается снижение смертности и шансов развития гепатоцеллюлярной карциномы. У пациентов с хроническим гепатитом С регулярный при-

ем кофе ассоциировался с улучшением ответа на противовирусную терапию. Потребление кофе связано со снижением тяжести стеатогепатита у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени. Авторы рекомендуют поощрять ежедневное потребление кофе пациентам с хроническими заболеваниями печени.

Источник: Impact of Coffee on Liver Diseases: A Systematic Review / S. Saab, D. Mallam, G.A. Cox II, M.J. Tong // Liver International. - 2014. - Vol. 34 (4). - P.495-504.

ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ, СВЯЗАННЫЕ С ПРИЕМОМ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК

Проспективное многоцентровое исследование, проведенное в США с 2004 по 2013 гг., выявило на протяжении 10 лет рост с 7% до 20% поражений печени, связанных с неконтролируемым приемом растительных и пищевых добавок (HDS, herbal and dietary supplements) для наращивания мускулатуры или для похудения. Среди 45 случаев поражения печени, связанных с приемом неспортивных HDS, летальный исход или необходимость трансплантации печени отмечены у 13 (29%) пациентов, все женщины. HDS, связанные со смертью пациента или необходимостью трансплантации

печени, включали «энергетические ускорители», «травяную Виагру», китайские травяные смеси, аюрведические составы, и различные средства для «очистки организма». Токсические поражения печени, связанные с приемом спортивных добавок (чаще всего, поливитамины, рыбий жир) наблюдались, прежде всего, у молодых мужчин, без каких-либо неблагоприятных исходов.

Источник: Liver injury from herbals and dietary supplements in the U.S. Drug-Induced Liver Injury Network /Victor J. Navarro [et al.] / Hepatology. - 2014. - Vol. 60 (4). - P. 1399-1408.

БОЛЕЗНЬ КРОНА СВЯЗАНА С ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

В результате многоцентрового исследования было установлено, что для пациентов с начальной стадией болезни Крона характерно значительное превалирование в составе кишечной микрофлоры патогенных бактерий семейств Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Veillonellaceae и Fusobacteriaceae над условно «полезными» бактериями семейств Erysipelotrichales, Bacteroidales и Clostridiales, причем выраженность дисбиоза коррелирует с клинической активностью заболевания. Эти изменения были выявлены, в основном, не в фекалиях, а в биоптатах слизистой тон-

кого кишечника и прямой кишки, что означает, как полагают авторы, открывает возможность проводить раннюю диагностику болезни Крона по ректальному мазку. Еще одним важным результатом исследования стало подтверждение того факта, что антибиотикотерапия усиливает микробный дисбиоз и, таким образом, ухудшает состояние пациентов.

Источник: Gevers, D. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease / D. Gevers [et al.] // Cell Host Microbe. – 2014. – Vol. 15, №3. – P. 382-92.

Подготовил профессор Л.М. Немцов

ТОРЖЕСТВЕННЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ 80-ЛЕТНЕГО ЮБИЛЕЯ ВГМУ

3 ноября актовый зал наполнили преподаватели, сотрудники, ветераны, студенты. Ректор университета профессор В.П. Дейкало кратко рассказал об истории вуза, о его достижениях за последние пять лет и поздравил коллектив с 80-летним юбилеем университета. Затем на сцену приглашали преподавателей и сотрудников, чей добросовестный труд был отмечен грамотами и благодарностями.

Студентов благодарили за отличную учебу и активное участие в жизни университета. К юбилею вуза основательно изменился и актовый зал университета: хорошо оформленная сцена, профессиональный свет и звук. Все продумано до мелочей: новые сценические костюмы у артистов, да и сами исполнители были на высоте. Их сильные красивые голоса уверенно звучали под сводами актового зала, и хотелось крикнуть «Браво!». Торжественный вечер прошел по семейному празднично и сердечно.



признательность вузу за подготовку высококвалифицированных врачей и провизоров. В торжественном собрании университета приняли участие руководители и представители Министерств, областных служб, сфер здравоохранения, образования, общественных организаций. После открытия торжественного собрания на сцену пригласили Председателя Витебского областного исполнительного комитета А.Н. Косинца, который зачитал приветственный адрес Президента Республики Беларусь Александра Григорьевича Лукашенко.

5 ноября университет встречал гостей. Приехали представители многих медицинских вузов страны, коллеги из российских медицинских университетов: Кировского, Смоленского, Самарского, Ярославского, Литовского университета наук здоровья, Познаньского медицинского университета им. К. Марцинковского (Польша). В числе гостей были архиепископ Витебский и Оршанский Дмитрий, апостольский нунций в Республике Беларусь Клаудио Гуджеротти, чтобы поздравить коллектив университета и выразить



А.Н. Косинец, доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки Республики Беларусь, возглавлявший в 1997-2005 г. ВГМУ, поздравил коллектив вуза от областного исполнительного комитета и от себя лично. Было отмечено, что юбилей – это повод подвести итоги и поблагодарить людей, причастных к созданию истории вуза.

Руководитель области пожелал всем здоровья, благополучия, мира и завершил свою речь приветствием на латинском языке: *Vivant professores, Vivat universitas, Vivant studiosi!*

От имени областного исполнительного комитета А.Н. Косинец вручил подарок – сертификат на компьютерный класс и интерактивную доску.

Ректор вуза профессор Валерий Петрович Дейкало высказал слова бесконечной благодарности Президенту страны А.Г. Лукашенко за помощь в укреплении материально-технической базы вуза и поблагодарил А.Н. Косинца за постоянную поддержку и помощь в решении важных вопросов.



спублики Национального собрания Республики Беларусь А.Н. Рубинов.

В этот торжественный вечер на сцену с поздравлениями поднимались гости и преподаватели, которые все эти годы преданно служили и служат одной цели – подготовке хороших специалистов. Звучало еще много добрых слов и пожеланий.

Поздравительные адреса прислали Премьер-министр Республики Беларусь М.В. Мясникович, Министр здравоохранения В.И. Жарко, Министр образования С.А. Маскевич, Председатель Палаты представителей Национального собрания Республики Беларусь 4-го созыва В.П. Андрейченко, Председатель Совета Ре-



МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ОБРАЗОВАНИЕ XXI ВЕКА»

4 ноября 2014 года в Витебском государственном ордена Дружбы народов медицинском университете прошла Международная научно-практическая конференция «Образование XXI века».

На конференции обсуждались проблемы и перспективы развития высшего непрерывного медицинского и фармацевтического образования, в том числе: реализация компетентного подхода в образовательном процессе медицинских вузов; практическая направленность обучения в медицинском вузе; использование инновационных педагогических технологий в процессе преподавания; использование дистанционных форм обучения в медицинских университетах; дополнительное медицинское и фармацевтическое образование: опыт и перспективы; стратегия развития экспорта образовательных услуг в сфере высшего образования и другие частные вопросы.

Резолюция

Международной научно-практической конференции «Образование XXI века»

Образовательный процесс в высшем учебном заведении строится на основе принципов государственной политики Республики Беларусь в сфере высшего образования и призван обеспечить наиболее полное развитие способностей, интеллектуально и творческого потенциала личности, возможность ее свободного и конструктивного участия в развитии общества в целях удовлетворения потребностей государства в специалистах высокой квалификации.

Основными направлениями развития образования в XXI веке являются:

- переориентация на междисциплинарность и полипрофессиональность, в том числе на основе компетентного подхода;
- ориентация на практическое знание;
- гуманизация;
- виртуализация;
- индивидуализация;
- инновационный характер.

Динамика изменений современного мира требует от молодого специалиста способности находиться в тесной связи с практическими потребностями профессиональной среды, навыков самостоятельного определения содержания и форм повышения своей квалификации, пополнения профессиональных знаний. На наших глазах происходит переход от традиционного – поддерживающего к альтернативному – инновационному образованию. Основными параметрами образования такого типа являются: междисциплинарная организация содержания образования; формирование у выпускников вузов культуры системного профессионального мышления; возрастание духовности и моральных качеств в структуре личностных характеристик будущих специалистов; инновационный характер содержания и методов обучения; способность выпускников вузов создавать принципиально новые знания и технологии, а не только усваивать их в процессе обучения.

Учреждения высшего медицинского образования должны сформировать у выпускников систему профессиональных компетенций, дать выпускникам систему интегрированных теоретических и клинических знаний, умений и навыков; помочь освоить новейшие медицинские технологии мирового уровня; сформировать у них знания и навыки в области предметов, способствующих социальной адаптации врача и провизора (экономика, право, менеджмент).

Классическая система клинического медицинского образования не способна в полной мере решить проблему качественной практической подготовки врача в современных условиях. Главными препятствиями к этому являются невозможность практической иллюстрации всего многообразия клинических ситуаций, а также морально-этические и законодательные ограничения в общении обучаемых с пациентом.

Ключевой задачей современного медицинского образования является создание условий для развития у обучающихся широкого спектра компетенций и прочно закрепленных практических навыков без риска нанесения вреда пациенту. Сюда относится развитие способности быстрого принятия решений и безупречного выполнения ряда манипуляций или вмешательств, особенно при не-

отложенных состояниях. Добиться данных результатов возможно с использованием симуляционного обучения.

Участники Международной научно-практической конференции «Образование XXI века» считают, что вузами стран СНГ (постсоветского пространства) сделаны значительные шаги по пути инновационного развития, интернационализации образования и совершенствования форм и методов подготовки. В то же время имеется ряд вопросов, решение которых способно улучшить качество высшего образования, в том числе подготовки медицинских кадров, как для своих стран, так и для зарубежных. Таким образом, участники Международной конференции «Образование XXI века» постановили:

1. Развивать систему непрерывного образования в виде интеграции среднего и высшего медицинского образования, а также дополнительного образования взрослых при строгом соблюдении периодичности этапов.

2. Обеспечить реализацию стратегии кадровой политики в здравоохранении и гарантии занятости выпускников учреждений высшего медицинского образования на основе долгосрочного прогноза потребности в специалистах с высшим медицинским и фармацевтическим образованием.

3. Факультетам профориентации и довузовской подготовки продолжить работу по реализации «Концепции развития профессиональной ориентации молодежи в Республике Беларусь».

4. Развивать и совершенствовать научно-исследовательскую деятельность талантливой молодежи через систему подготовки дипломных работ, магистратуру и аспирантуру.

5. Создать модель интеграции очного и дистанционного обучения, установив соотношение объема занятий в очной и дистанционных формах.

6. Разработать нормативные правовые акты, регламентирующие дистанционное обучение слушателей ФПК, студентов дневной и заочной формы получения образования.

7. Выбрать единую для Республики Беларусь LMS (Learning Management System) - систему управления обучением, которая будет основой системы управления дистанционной учебной деятельностью в стране и будет использоваться для разработки, управления и распространения учебных онлайн-материалов с обеспечением совместного доступа.

8. Активизировать интеграцию симуляционного обучения в действующую систему медицинского образования на всех уровнях.

9. Развивать материально-техническую и научно-методическую базу практической подготовки студентов (в том числе симуляционного обучения) обеспечив принципам эталонности обучения и объективности контроля не зависимо от уровня и места получения образования.

10. Активизировать учебно-познавательную деятельность в системе профессиональной подготовки преподавателя высшей школы на основе совокупности современных технологий обучения (методов, форм и средств, в том числе дистанционных), наиболее адекватно отражающих специфику профессиональной деятельности профессорско-преподавательского состава.

11. Шире внедрять инновационные образовательные технологии, позволяющие сделать образовательный процесс более доказательным, способствующие развитию культуры системного профессионального мышления и направленные на формирование профессиональных компетенций будущих специалистов.

12. Продолжить совместную работу по разработке стратегии функционирования и устойчивого развития учреждений и структур дополнительного образования взрослых как гаранта сохранения ценного опыта, традиций, тенденций совершенствования профессиональной подготовки врачей и провизоров.

13. Изучить эффективность различных видов повышения квалификации в системе дополнительного образования взрослых. Обеспечить интеграцию идей совершенствования профессионализма преподавания медицинских и фармацевтических дисциплин в практику непрерывного образования медицинских работников.

Реформирование медицинского образования позволит повысить авторитет и престиж белорусской высшей школы за рубежом и увеличить приток иностранных студентов для обучения в вузах Беларуси; расширить доступ к международным программам академического и научного сотрудничества.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Цель журнала «Вестник ВГМУ» состоит в том, чтобы представить аудитории оригинальные работы ученых ВГМУ, Беларуси, СНГ и других стран, имеющие значение для медицины, нормальной жизнедеятельности и совершенствования преподавания в медицинском вузе. В журнале могут печататься статьи иностранных авторов на английском языке.

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь по медицинской, фармацевтической и биологической отраслям науки. Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания, а также статьи подписчиков журнала.

Журнал печатает:

- **ПОЛНОРАЗМЕРНЫЕ ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ.** Такие статьи содержат результаты оригинальных исследований.

- **ОБЗОРЫ.** Цель обзоров состоит в изложении существа проблемы и ее важности. Изложение материала должно быть доступно специалистам смежных областей. Основное внимание обзоров следует сконцентрировать на результатах современных исследований.

- **КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ.** Раздел предназначен для публикации результатов наиболее актуальных научных исследований, представляющих особую важность. Желательно, чтобы краткое сообщение не превышало 3-х страниц машинописного текста и содержало не более 2-х иллюстраций. Сообщения должны быть исчерпывающими по своему содержанию и начинаться с небольшого вводного абзаца, убеждающего читателя в необходимости прочтения всего сообщения.

- **ПИСЬМА В РЕДАКЦИЮ.** Этот раздел журнала содержит материалы переписки с редакцией, касающиеся критических замечаний по поводу опубликованных в журнале работ, или информацию, требующую безотлагательного обсуждения.

- **НОВОСТИ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** В этом разделе освещаются вопросы, связанные с научным прогрессом в Республике Беларусь. Публикуются также материалы по результатам прикладных разработок, рекламируется продукция биотехнологической и фармацевтической промышленности и др.

- **ИНФОРМАЦИЯ О ПРЕДСТОЯЩИХ НАУЧНЫХ ФОРУМАХ.** Этот раздел предназначен для публикации предварительных сообщений о планируемых научных форумах, представляющих интерес для международной научной общественности.

Направление в редакцию ранее опубликованных или принятых к печати в других изданиях работ не допускается.

Требования к рукописи

Рукопись статьи представляется на русском языке (для иностранных авторов возможно изложение материала на английском языке). Объем полноразмерной оригинальной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие), что соответствует 8-и страницам текста, напечатанного через 2 интервала между строками. Краткие сообщения — 3 страницы, обзор литературы — 15 страниц.

Рукопись статьи должна включать следующие элементы: титульный лист; аннотацию (резюме); фамилию и инициалы автора (авторов), название; введение; основную часть, выводы (заключение); список использованной литературы.

В основной части полноразмерной оригинальной статьи должны быть выделены разделы: «Материал и методы», «Результаты», «Обсуждение». Структура основной части других видов статей определяется авторами. Рекомендуется в объемных работах использовать подзаголовки для того, чтобы выделить содержание отдельных частей.

Титульная страница должна содержать: полное название статьи; сокращенный вариант названия статьи (не более 40-45 знаков); ключевые слова (не более 6), официальное название уч-

реждений, в которых выполнялась работа; сведения об авторах; информацию об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов; декларацию об отсутствии конфликтов интересов; сведения о количестве страниц, рисунков и таблиц; адрес для корреспонденции.

Название статьи должно быть максимально кратким, информативным и точно определять содержание статьи. Ключевые слова для составления указателя приводятся в соответствии со списком Medical Subject Heading (Медицинские предметные рубрики), принятые в Index Medicus. В сведениях для авторов указываются фамилии, имена, отчества авторов, ученые степени и звания, должности, место работы (название учреждения, кафедры, отдела). В адресе для корреспонденции приводятся рабочий почтовый индекс и адрес, место работы, телефоны, электронный адрес того автора, с кем следует вести редакционную переписку. Адрес для корреспонденции публикуется вместе со статьей.

Структурированная аннотация (резюме) оригинальной научной статьи, включающая разделы «Цель», «Материал и методы», «Результаты», «Заключение», на русском и английском языках (200-250 слов) должна ясно излагать содержание статьи и быть пригодной для опубликования отдельно от статьи, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью. Аннотации других видов статей (краткие сообщения, обзоры, случаи из практики) не структурируются, объем их должен составлять не менее 100-150 слов. В аннотации на английском языке обязательно указываются фамилии и инициалы авторов на английском языке. Аннотации статей, ключевые слова на русском и английском языках, информация об авторах, а также пристатейные библиографические списки размещаются на сайте журнала и отсылаются редакцией в электронные информационные базы для индексации.

В разделе «Введение» оригинальной статьи должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

Раздел «Материал и методы» должен содержать детальную характеристику объектов исследований, описание использованных методов, оборудования, диагностических и лечебных технологий. На методики исследований должны быть представлены ссылки. В клинических исследованиях, в которых диагностические или лечебные методы не соответствуют стандартным процедурам, должна быть приведена информация об одобрении комитетом по этике учреждения, в котором выполнялась работа, и об их соответствии Хельсинкской декларации 1975 г. Запрещается в статьях размещать информацию, позволяющую идентифицировать личность пациента (упоминать фамилию и инициалы пациентов, регистрационный номер карты). Представляемые для публикации фотографии также не должны позволять установить личность пациента. Авторы должны информировать пациентов (родителей, опекунов) о возможной публикации материалов, освещающих особенности его/ее заболевания и примененных методов диагностики и лечения, о гарантиях обеспечения конфиденциальности при размещении их в печатных и электронных изданиях, а также о том, что они после публикации будут доступны в сети Интернет. При направлении статьи в редакцию авторы обязаны предоставить письменное информированное согласие пациента на распространение информации и сообщить об этом в статье. При описании экспериментов на животных авторы обязаны размещать в статье информацию о соответствии содержания и использования лабораторных животных при проведении исследования международным, национальным правилам или правилам по этическому обращению с животными учреждения, в котором выполнялась работа. В конце раздела подробно описываются методы статистического анализа.

Раздел «Результаты» должен подробно освещать содержание исследований и их результаты, которые следует отражать, максимально используя рисунки и таблицы. При необходимости раздел может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками).

В разделе «Обсуждение» полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

Выводы должны быть четко сформулированными и в сжатом виде отражать основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения.

В статье следует применять только общепринятые символы и сокращения. При необходимости их использования аббревиатуру в тексте необходимо расшифровывать при первом упоминании (это относится также и к реферату). Сокращения в названии можно использовать только в тех случаях, когда это абсолютно необходимо. Все величины выражаются в единицах Международной Системы (СИ). Применяются только международные непатентованные названия лекарственных средств.

Список использованной литературы оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Список печатается как отдельный раздел рукописи. Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок (например: [1, 2]). В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15-и источников, в обзорах литературы – не более 50. В статье не допускаются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями. Ссылки на тезисы и статьи в малотиражных региональных сборниках можно использовать только при крайней необходимости. Авторы несут полную ответственность за точность и полноту всех ссылок, и точность цитирования первоисточников. Редакция с целью максимального снижения неполноты или неточности информации в приводимых пристатейных списках литературы проводит в обязательном порядке проверку всех ссылок.

При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программы Microsoft Word или Word Perfect. Размеры полей: сверху — 2,5 см; снизу — 2,5 см; слева — 2 см; справа — 2 см. Рукопись печатается через два интервала с выделенными жирным заголовками и подзаголовками. Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

Таблицы должны быть отпечатаны на отдельном листе бумаги через два интервала, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо). Место, где в тексте должна быть помещена таблица, отмечается квадратом на левом поле, в котором ставится номер таблицы.

Иллюстрации, формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте. На обороте каждой иллюстрации следует указать «верх», номер рисунка, а также фамилию первого автора. Толщина линий на рисунках должна быть такой, чтобы после уменьшения она составила 0,2 мм. Размеры рисунков не должны превышать 24x40 см, однако полезно помнить, что для простых графиков конечный горизонтальный размер составляет 6-8 см. К каждому экземпляру статьи следует приложить по одному экземпляру иллюстраций. Копии рисунков и фотографий для второго экземпляра статьи должны содержать все необходимые буквенные и цифровые надписи. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений. Непосредственно в таблицах (в заголовках строк или столбцов) или в их названии указывается, какие статистические показатели приводятся. Подписи к рисункам печатаются через два интервала на отдельном листе бумаги. Листы с подписями не скрепляются с самими рисунками. Формат рисунка может быть TIFF, JPEG, CDR; разрешение не менее 300 dpi. Диаграммы выполненные в приложении MS Excel, необходимо представлять в формате .xls и в виде рисунка, что позволит провести их допечатную подготовку. Диаграммы печатаются при помощи монохромной печати, поэтому при их оформлении предпочтительно использовать узорную заливку объектов и различный характер линий.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена. Рукопись должна быть визирована всеми авторами. Это означает, что все авторы берут на себя ответственность за содержание публикации.

За правильность приведенных данных ответственность несут авторы. В исключительных случаях, для оценки достоверности результатов, редакция может запросить копии документов, подтверждающих представляемые материалы.

Направление рукописи

В редакцию направляются два экземпляра рукописи. Текст статьи и графические файлы иллюстраций необходимо представить в электронном виде по электронной почте или на CD-диске.

Статьи принимаются редакцией при наличии направления учреждения, визы руководителя. Авторы при представлении рукописи в редакцию обязаны на титульном листе указать сведения о наличии или отсутствии конфликта интересов; информировать редакцию об источнике поддержки исследования в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов; гарантировать в сопроводительном письме, что они не получали никаких вознаграждений ни в какой форме от фирм-производителей лекарственных препаратов, медицинского оборудования и материалов, в том числе конкурентов, способных оказать влияние на результаты работы. Авторы должны информировать о наличии спонсора и его роли в определении структуры исследования; в сборе, анализе и интерпретации данных; в описании исследования; и в принятии решения о представлении текста для публикации. В случае необходимости авторы, по запросу редакции, обязаны представить дополнительную информацию, позволяющую редакции оценить влияние спонсоров на проведение исследования. При направлении статей, в которых содержатся результаты диссертационных исследований, редакция обязательно должна быть информирована об этом.

К рукописи прикладывают сопроводительное письмо (с подписью всех авторов), подтверждающее, что рукопись ранее нигде не публиковалась, в данный момент не находится в редакции какого-либо другого журнала и что авторы предоставят авторское право издателю в случае публикации принятых рукописей. В нем также отражается участие каждого автора в создании статьи. Образцы сопроводительных документов представлены на сайте журнала. К статье обязательно прикладывают ксерокопии авторских свидетельств, патентов, удостоверений на рацпредложение. На новые методы лечения, новые лечебные препараты и аппаратуру (диагностическую и лечебную) должны быть представлены ксерокопии разрешения Министерства здравоохранения Республики Беларусь (Министерств здравоохранения стран СНГ). Сопроводительные документы могут быть отправлены по почте или отсканированы и пересланы по электронной почте. Рукописи, не соответствующие правилам, редакцией не принимаются, о чем информируются авторы. Переписка с авторами осуществляется только по электронной почте.

Порядок рецензирования и публикации

Рукописи статей рецензируются независимыми экспертами. Специалисты, осуществляющие рецензирование, назначаются редакционной коллегией журнала. Редакция в обязательном порядке высылает рецензии авторам рукописей в электронном или письменном виде без указания фамилии специалиста, проводившего рецензирование. Авторы имеют право указать в сопроводительном письме имена тех специалистов, кому, по их мнению, не следует направлять рукопись на рецензию в связи с возможным, как правило, профессиональным, конфликтом интересов. Данная информация является строго конфиденциальной и принимается во внимание редакцией при организации рецензирования. В случае отказа в публикации статьи редакция направляет автору мотивированный отказ. По запросам экспертных советов редакция предоставляет копии рецензий в ВАК.

Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала. Подготовленный к печати текст статьи, с внесенными редакцией правками, направляется авторам для одобрения в формате PDF по электронной почте. Авторские правки и подтверждение должно поступить в редакцию в течение 5 дней. По истечении указанного срока редакция будет считать, что авторы одобрили текст.

Статьи публикуются в порядке поступления, с учетом сроков доработки рукописей авторами после рецензирования. Научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым редакцией, публикуются вне очереди.

Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания, а также статьи подписчиков журнала.

Рекламные статьи, а также статьи, финансируемые фирмами-производителями и/или их дистрибьютерами, к рассмотрению не принимаются.

Авторам отсылается электронная копия опубликованной статьи в формате PDF.

Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редколлегии.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Правила для авторов в 2014 г. изменены и приведены в соответствие с «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», сформулированными Международным комитетом редакторов медицинских журналов.

Подписано в печать 05.12.2014 г. Формат 1/8.

Бумага типографская №2. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 17,67

Тираж 150 экз. Заказ №

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Лицензия ЛП № 02330/453 от 30.12.2013.

Отпечатано на ризографе в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.