

ВЕСТНИК

ВИТЕБСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Том 6

№ 2

2007



*Ежеквартальный рецензируемый
научно-практический журнал*

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского
университета

Том 6

№2

2007

**Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал
основан в 2002 году**

**Учредитель - Учреждение образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский университет»**

Редакционная коллегия:

В.П. Дейкало (*главный редактор*), А.П. Солодков (*зам. главного редактора*),
О-Я.Л. Бекиш, В.С. Глушанко, Н.С. Турина, Г.Г. Воронов (Минск),
А.И. Жебентяев, В.И. Заяц, С.А. Кабанова, Н.Ю. Коневалова, А.Н. Косинец, Л.Е. Криштопов,
СП. Кулик, З.С. Кунцевич, А.М. Литвяков, Н.Г. Луд, О.Д. Мяделец, И.А. Наркевич (Санкт-Петербург),
А.А. Пашков, В.П. Подпалов, В.М. Семенов, В.И. Шебеко

Редакционный совет:

Т.П. Адаменко (Витебск), В.П. Адаскевич (Витебск), Ю.В. Алексеенко (Витебск),
А.П. Божко (Витебск), С.Н. Занько (Витебск), Р.В. Кадушко (Витебск), А.А. Кирпиченко (Витебск),
Ю.В. Крылов (Витебск), С.А. Лихачев (Минск), И.Ю. Малышев (Москва), Е.Б. Манухина (Москва),
А.Г. Мрочек (Минск), В.И. Новикова (Витебск), В.И. Петухов (Витебск), П.Т. Петров (Минск),
И.М. Прищепа (Витебск), М.И. Римжа (Минск), Г.И. Сидоренко (Минск),
Л.П. Титов (Минск), В.М. Холод (Витебск), В.П. Филонов (Минск),
И.А. Флоряну (Витебск), В.М. Цыркунов (Гродно)

Секретариат:

А.В. Гайдукова, Л.М. Родкина

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

Адрес редакции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. (0212) 241-738

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство № 1494 от 16.12.2004 г.
ISSN 1607-9906

© Витебский государственный медицинский университет, 2007

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор

Бахтинова Е.А.

Клинико-морфологические аспекты хронической обструктивной болезни легких

5

Биохимия

Глинник С.В., Ринейская О.Н., Романовский И.В., Красненкова Т.П.

Гормональный статус и содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс с экспериментальным гипотиреозом при тепловом воздействии

13

Гистология, эмбриология, клеточная биология

Фомченко Ю.А.

Распределение факторов роста и цитокинов в волосяных фолликулах и их микроокружении в норме и при гнездной алопеции

19

Дунай В.И.

Становление центральных NO-ергических структур в постнатальном онтогенезе у морских свинок

25

Физиология

Лазуко С.С., Солодков А.П.

Адаптация к коротким стрессорным воздействиям предупреждает постстрессорное нарушение чувствительности коронарных сосудов к активаторам K_{ATP} -каналов

29

Лазуко С.С., Майорова С.С., Солодков А.П.

Сравнительная характеристика постстрессорных изменений функциональной активности K_{ATP} - и $ВК_{Ca}$ -каналов коронарных сосудов

39

Патофизиология

Небылицин Ю.С., Сушков С.А., Солодков А.П.

Дисфункция эндотелия при экспериментальном моделировании острой венозной недостаточности

48

Внутренние болезни

Кундер Е.В., Литвяков А.М., Зыкова О.С., Генералов И.И., Волкова М.В.

Каталитическая активность IgG при изолированном кожном псориазе, псориаптической ониходистрофии и артропатическом псориазе

56

Щупакова А.Н., Лагутчев В.В., Коневалова Н.Ю.

Изучение холестерина профиля сыворотки крови у больных хронической абдоминальной ишемией, обусловленной атеросклерозом в сопоставлении с распространенностью носительства антител к антигенам Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Herpes simplex virus

62

CONTENTS

Review

Bakhtinova E.A.

Clinical and morphological aspects of chronic obstructive pulmonary disease

Biochemistry

Glinnik S.V., Rineyskaya O.N., Romanovsky I.V., Krasnenkova T.P.

Hormonal state and concentration of free amino acids in blood plasma of rats with experimental hypothyroidism at thermal stress

Histology, embriology and cellular biology

Fomchenko Yu. A.

Distribution of growth factors and cytokines in hair follicles and their microenvironment in the normal skin and in alopecia areata

Dunay V.I.

Formation of central NO-ergic structures in postnatal ontogenesis in guinea-pigs

Physiology

Lazuko S.S., Solodkov A.P.

Adaptation to short-term stress exposure prevents the post-stress disturbance of coronary vessels sensitivity to K_{ATP} – channels activators

Lazuko S.S., Mayorova S.S., Solodkov A.P.

The comparative characteristic of changes in coronary vessels K_{ATP} and $K_{Ca^{++}}$ channels functional activity after stress

Pathophysiology

Nebylitsin Y. S., Sushkov S.A., Solodkov A.P.

Endothelial dysfunction on experimental modelling of acute venous insufficiency

Internal medicine

Kunder E.V., Litvyakov A.M., Zyкова O.S., Generalov I.I., Volkova M.V.

Catalytic activity of polyclonal IgG in patients with isolated skin psoriasis, onychodystrophy and psoriatic arthropathy

Shchupakova A.N., Lagutchev V.V., Konevalova N.Yu.

Studying cholesterol structure of blood serum in patients with chronic abdominal ischemia caused by atherosclerosis in comparison with prevalence of presence of antibodies to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Herpes simplex virus antigens

Инфекция

Сенькович С.А.

Абзимная активность у больных с хирургической инфекцией.

72

Infection

Senkovich S.A.

Abzyme activity in patients with surgical infection

Акушерство и гинекология

Киселева Н.И.

Сравнительная характеристика гипотензивных и антиоксидантных препаратов в комплексной терапии гестоза

77

Obstetrics and gynecology

Kiseleva N.I.

Comparative characteristic of hypotensive and antioxidant preparations in complex therapy for gestosis

Хирургия

Стенько А.А., Жук И.Г., Зинчук В.В., Брагов М.Ю.

Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии на систему антиперекисной защиты и микроциркуляцию при резекции поджелудочной железы

85

Surgery

Stenko A.A., Zhuk I.G., Zinchuk V.V., Bragov M.Yu.

Influence of low level laser therapy and photodynamic therapy on peroxidation – antioxidant and microcirculation system in case of pancreas resection

Неврология

Белявский Н.Н.

Динамика изменений спектра мощности ЭЭГ у больных с транзиторными ишемическими атаками в каротидном бассейне

91

Neurology

Belyavsky N.N.

Dynamics of EEG power spectrum changes in patients with carotid transient ischemic attacks

Протас Р.Н., Кубраков К.М., Выхристенко К.С.

Ишемический инфаркт в бассейне спинальной артерии Демпс-Готтерона с наличием радикуло-эпиконус-конусного синдрома

100

Protas R.N., Kubrakov K.M., Vykhristenko K.S.

Ischemic infarct in the spinal arterial pool with the presence of radiculoeipiconeconical syndrome

Экология и гигиена

Миклис Н.И.

Особенности технологии получения электрохимически активированных водно-солевых растворов на универсальной установке.

105

Ecology and hygiene

Miklis N.I.

Technological features of obtaining electrochemically activated water-salt solutions by means of universal installation

Кожные и венерические болезни

Козловская В.В.

Выявление дрожжеподобных грибов рода *Malassezia* на коже здоровых людей и больных себорейным дерматитом, себорейным псориазом и атопическим дерматитом

115

Skin and venereal diseases

Kozlovskaya V.V.

Revealing *Malassezia* yeasts on the skin of healthy people and patients with seborrheic dermatitis, seborrheic psoriasis and atopic dermatitis

Судебная медицина

Стефаненко Е.В.

Судебно-медицинская оценка признаков смерти от общего переохлаждения организма

120

Forensic medicine

Stefanenko E.V.

Medicolegal evaluation of signs of death from total body supercooling

Правила для авторов

127

Instructions for authors

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

БАХТИНОВА Е.А.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. В обзоре научных публикаций были проанализированы клинико-морфологические аспекты хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и вопросы ранней диагностики. Большой промежуток времени между началом болезни и появлением первых ее клинических признаков приводит к тому, что, к сожалению, в большинстве случаев больные с ХОБЛ обращаются за медицинской помощью поздно, когда возможности терапии ограничены. В обзоре рассмотрены этиологические факторы, способствующие развитию ХОБЛ, современная классификация, дан анализ значимости спирометрии, электрокардиограммы, ультразвукового исследования в постановке диагноза ХОБЛ на начальных стадиях проявления болезни. Дана оценка патологическим изменениям, которые приводят к возникновению легочной гипертензии, а также механизм формирования хронического легочного сердца у больных ХОБЛ.

Ключевые слова: хронический обструктивный бронхит, легочная гипертензия, хроническое легочное сердце, дисфункция эндотелия.

Abstract. Clinical and morphological aspects of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and questions of early diagnosing were analyzed in the review of scientific articles. There is a big interval between the beginning of the disease and its first manifestations. Consequently patients with COPD ask for medical help too late in the majority of cases, when the possibilities of treatment are limited. This article deals with etiology factors, which contribute to the development of COPD, modern classification, analysis of the significance of spirometry, electrocardiogram, ultrasound investigation for diagnosing COPD during its first stages. Pathological changes, leading to pulmonary hypertension and mechanism of chronic pulmonary heart formation in patients with COPD were also evaluated.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире [1,2]. В структуре заболеваемости ХОБЛ входят в число лидирующих по числу дней нетрудоспособности, причинам инвалидности и занимают четвертое место среди причин смерти [3,4]. При этом в развитых странах мира прогнозируется увеличение смертности от ХОБЛ в недалеком будущем. ХОБЛ наносят значительный экономический

ущерб, связанный с временной и стойкой утратой трудоспособности самой активной частью населения [5]. В то время как за последнее 10-летие смертность от всех заболеваний снизилась на 22%, смертность от ХОБЛ увеличилась на 28% [6].

По мнению одних исследователей, ХОБЛ - собирательное понятие, которое объединяет группу хронических болезней дыхательной системы: хронический обструктивный бронхит (ХОБ), эмфизема легких (ЭЛ), бронхиальная астма (БА) тяжелого течения. В США и Великобритании в понятие "хронические обструктивные болезни легких" включа-

ют также муковисцидоз (МВ), облитерирующий бронхиолит (ОБ) и бронхоэктатическую болезнь (БЭ) [5].

По данным ряда других авторов, бронхиальная астма не включается в понятие ХОБЛ. Они считают, что выделение ХОБЛ в самостоятельную нозологическую форму является одним из важнейших событий в современной пульмонологии, позволяющих отличать эту болезнь от другой широко распространенной нозологической формы, проявляющейся синдромом обструкции дыхательных путей – бронхиальной астмы (БА) [7].

Термин «ХОБЛ» предпочтительнее, чем «хронический бронхит», потому, что при заболевании в патологический процесс вовлекаются не только бронхи, но и все без исключения функциональные и структурные элементы легочной ткани (альвеолярная ткань, сосудистое русло, плевра, дыхательная мускулатура). Понимание и знание особенностей этой патологии заставляет считать ХОБЛ термином, более полно и глубоко описывающим это заболевание. Таким образом, ХОБЛ – это самостоятельная нозологическая форма, характеризующаяся прогрессирующим нарастанием необратимой обструкции в результате хронического воспаления, индуцированного поллютантами, в основе которого лежат грубые морфологические изменения всех структур легочной ткани с вовлечением сердечно-сосудистой системы и дыхательной мускулатуры. ХОБЛ является заболеванием, приводящим к ограничению физической работоспособности, инвалидизации пациентов и в ряде случаев к смерти [7].

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) в настоящее время определяется как заболевание, характеризующееся частично необратимым ограничением воздушного потока, которое носит, как правило, неуклонно прогрессирующий характер и связано с воспалительной реакцией легочной ткани на раздражение различными патогенными агентами и газами [8].

Цель - провести обзор современной научной литературы отечественных и зарубежных авторов по клинко-морфологическим аспектам хронической обструктивной болезни легких.

Классификация

ХОБЛ классифицируется по степени тяжести. В основе классификации используются два критерия: клинический, учитывающий основные клинические симптомы, – кашель, наличие мокроты и одышки; функциональный – учитывающий степень необратимости обструкции дыхательных путей. Все приводимые в классификации значения ОФВ₁ являются постбронходилатационными. Это значит, что степень тяжести ХОБЛ оценивается по показателям проходимости бронхов после полной бронходилатации (учитывается степень обратимости обструкции дыхательных путей) [7].

Классификация ХОБЛ по степени тяжести (Постановление министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.04.2006, №28.):

Стадия 0: Повышенный риск развития ХОБЛ. Характеризуется присутствием профессиональных факторов риска и/или никотиновой зависимости, проявляется хроническим кашлем и продукцией мокроты в ответ на воздействие факторов риска на фоне нормальной функции легких. Данная стадия трактуется как предболезнь, которая не всегда завершается развитием классической ХОБЛ;

Стадия I: Легкое течение ХОБЛ, при котором выполнение повседневных физических нагрузок не вызывает дыхательного дискомфорта, но обструктивные нарушения вентиляции легких определяются. ОФВ₁ (объем форсированного выдоха за 1 секунду)/ ФЖЕЛ (форсированная жизненная емкость легких) < 70%, ОФВ₁ > 80% от должных. Больных беспокоит хронический кашель и продукция мокроты.

Стадия II: Среднетяжелое течение, при котором пациенты обращаются за медицинской помощью в связи с одышкой и обострением заболевания, что характеризуется нарастанием обструктивных нарушений. ОФВ₁ / ФЖЕЛ < 70%, 50% < ОФВ₁ < 80% от должных.

Стадия III: Тяжелое течение. Характеризуется дальнейшим увеличением ограничения воздушного потока. ОФВ₁/ ФЖЕЛ < 70% от должного, 30% < ОФВ₁ < 50% от должных. На-

растает одышка, частота обострений заболевания, что влияет на качество жизни пациентов.

Стадия IV: Очень тяжелое течение, при котором качество жизни заметно ухудшается, а обострения могут быть угрожающими для жизни, болезнь приобретает инвалидизирующее течение, характеризуется крайне тяжелой бронхиальной обструкцией: ОФВ1/ ФЖЕЛ < 70% от должного, ОФВ1 < 30% от должных. Появляются признаки дыхательной или правожелудочковой недостаточности. По данным газометрии артериальной крови PaO_2 (парциальное напряжение кислорода в артериальной крови) менее 60 мм рт. ст., в сочетании (или без) с увеличением парциального напряжения CO_2 в артериальной крови (PaCO_2) более 45 мм рт. ст., или по данным оксиметрии сатурация артериальной крови (SaO_2) менее 95%.

Этиология

Главный фактор риска ХОБЛ в 80-90% случаев – курение. У курильщиков максимальные показатели смертности от ХОБЛ, у них быстрее развиваются необратимые обструктивные изменения функции дыхания, нарастают одышка и другие проявления болезни. Однако и среди некурящих нередки случаи возникновения и прогрессирования ХОБЛ [5,9,10]. Однако от курения страдает не только сам курильщик. Три четверти сигаретного дыма выделяется в окружающую среду. В этом дыме содержатся те же самые ядовитые вещества, опасные для здоровья. Вдыхание табачного дыма некурящими называется пассивным курением. От обычного курения оно отличается тем, что чаще всего является отнюдь не добровольным [11].

Существенную роль в возникновении ХОБЛ играет генетическая предрасположенность. На это указывает тот факт, что не все длительно курящие становятся больными ХОБЛ. В настоящее время единственной хорошо изученной генетической патологией, ведущей к ХОБЛ, является дефицит α_1 -антитрипсина (ААТ), который приводит к развитию эмфиземы, ХОБ и формированию бронхоэктазов [9].

Патогенез

Один из важнейших элементов ХОБ – воспаление, которое играет первичную роль в формировании всего комплекса патологических изменений [12]. В воспалительный процесс, лежащий в основе развития и прогрессирования ХОБЛ, вовлекаются все структуры легочной ткани: центральные и периферические воздухоносные пути, альвеолярная ткань, легочные сосуды. Морфологические изменения центральных отделов дыхательных путей характеризуются метаплазией эпителия, гибелью ресничек эпителия, гипертрофией секретирующих слизь подслизистых желез, увеличением массы гладкой мускулатуры в стенке дыхательных путей [7]. Характерны изменения бронхов, носящие мозаичный характер, а степень хронического воспаления усиливается по мере уменьшения диаметра бронхов [13].

Особенностью поражения периферических дыхательных путей является сужение бронхов в результате их фиброза [7]. В бронхах диаметром менее 4 мм воспаление может возникать в стенке бронхов с повреждением ее структурной организации. Такое воспаление носит название панбронхита или мезобронхита. Этот тип воспаления в продуктивной фазе способствует пролиферации миофибробластов, определяет ригидность стенки бронха и степень ее фиброза, что и является причиной обструкции бронхиального дерева. Такие морфологические изменения определяют нарушения показателей функции внешнего дыхания по обструктивному типу [14]. Постоянное прогрессирование ХОБЛ приводит, в конечном итоге, к ремоделированию дыхательных путей, дыхательной недостаточности с последующей инвалидизацией больных [13].

Биомаркерами воспаления при ХОБ являются нейтрофилы. Они преимущественно участвуют в формировании местного дефицита антипротеаз, развитии оксидативного стресса, играют ключевую роль в цепи процессов, характерных для воспаления, ведущего в конечном итоге к необратимым морфологическим изменениям [15].

В результате истощения (вследствие оксидативного стресса) местных ингибиторов протеаз и под влиянием нейтрофильных протеаз, разрушающих эластическую строму альвеол, формируется эмфизема. Из-за нарушения эластических свойств легких изменяется механика дыхания и формируется экспираторный коллапс, являющийся важнейшей причиной необратимой бронхиальной обструкции [16].

Развитие эмфиземы приводит к редукции сосудистой сети в участках легочной ткани, не способных к газообмену. В результате этого кровотоки перераспределяются в сохранившихся участках легочной ткани, возникают выраженные вентиляционно-перфузионные нарушения. Неравномерность вентиляционно-перфузионных отношений является одним из важных элементов патогенеза ХОБЛ. Перфузия плохо вентилируемых зон ведет к снижению артериальной оксигенации, избыточная вентиляция недостаточно перфузируемых зон приводит к росту вентиляции мертвого пространства и задержке выделения углекислого газа [17].

При эмфиземе повреждение альвеоларно-капиллярных единиц вызывает изменение давления в легочной артерии, что впоследствии способствует гипоксической легочной вазоконстрикции и формированию легочной гипертензии.

Система малого круга кровообращения характеризуется малым сопротивлением и высокой податливостью (комплаенсом), поэтому для какого-нибудь значимого повышения давления в легочной артерии у здорового индивидуума необходимо повышение сердечного выброса не менее чем в 2,5 раза [18].

По данным ряда авторов, ХОБЛ сопровождается легочной гипертензией (ЛГ) в 30-50% случаев. Наличие ЛГ утяжеляет прогноз и является одним из основных факторов, определяющих выживаемость больных ХОБЛ [19].

Диагноз ЛГ ставят при увеличении среднего давления в системе легочной артерии свыше 25 мм рт.ст. в покое и 30 мм рт.ст. при физической нагрузке [20, 21]. При умеренной легочной гипертензии 30-50 мм рт.ст., при значительной 50-80 мм рт.ст. [22].

Пятилетняя выживаемость больных ХОБЛ зависит от среднего давления в легочной артерии: 20-30 мм рт.ст. – 70-90%; 30-50 мм рт.ст. – 30%; > 50 мм рт.ст. – 0% [23].

Прогноз жизни пациентов становится неблагоприятным при стабилизации ЛГ и развитии недостаточности кровообращения.

В начале болезни легочная вазоконстрикция носит обратимый характер и может регрессировать при коррекции газовых расстройств на фоне лечения. Однако, по мере прогрессирования патологического процесса в легких, альвеоларно-капиллярный рефлекс утрачивает свое положительное значение из-за развития генерализованного спазма легочных артериол, что усугубляет легочную гипертензию, и при стойких нарушениях газового состава крови она трансформируется из лабильной в стабильную [24, 25].

Развитие хронической ЛГ у больных ХОБЛ практически всегда ассоциировано с развитием структурных изменений сосудистого русла – ремоделированием легочных сосудов, характеризующимся пролиферацией меди, миграцией и пролиферацией гладкомышечных клеток в интиму, фиброэластозом интимы, утолщением адвентиции [26].

По мере прогрессирования ХОБЛ накопление большого числа гладкомышечных клеток, протеогликанов и коллагена способствует дальнейшему утолщению сосудистой стенки. Мелкие артерии и артериолы приобретают усиленный эластический каркас, гипертрофируется мышечный слой, появляются так называемые артерии замыкающего типа, свидетельствующие о наличии ЛГ [17, 27].

В последние годы активно обсуждается роль дисфункции эндотелия легочных сосудов при ЛГ различного генеза. Современные знания позволяют считать эндотелий динамичным, гетерогенным и диссеминированным органом, выполняющим жизненно важные секреторные, синтетические, метаболические и иммунологические функции [28, 29]. В 1980 г. R.W. Furchgott и J.W. Zawadzki обнаружили, что снижение сосудистого тонуса, вызванное ацетилхолином, зависит от присутствия эндотелия и опосредуется высвобождением ла-

бильного гуморального фактора из эндотелиальных клеток [30]. Этот фактор был назван R.W. Furchgott'ом «эндотелиальным фактором релаксации» (ЭФР). Через семь лет после открытия эндотелиального фактора релаксации группа исследователей под руководством S. Moncada установили его химическую структуру. ЭФР оказался оксидом азота [31].

Под дисфункцией эндотелия понимают кратковременное или стойкое, потенциально обратимое нарушение фенотипических свойств эндотелиоцитов (изменение участия эндотелия в регуляции свертывания крови и фибринолиза, нарушение эндотелийзависимой регуляции сосудистого тонуса, изменение роли эндотелия в поддержании структурного гомеостаза сосудистой стенки, а также эндотелийзависимая стимуляция развития локальных воспалительных реакций), вызванное действием различных патогенных факторов [32].

Дисфункция эндотелия рассматривается, прежде всего, как нарушение продукции и/или действия NO в эндотелиоцитах [33]. Признание ключевой роли NO в механизмах дисфункции эндотелия основывается на понимании биологического значения этой молекулы в посттрансляционной модификации протеинов клетки, изменении активности ферментов клетки, изменении функции митохондрий, с возможным усилением продукции активных форм кислорода, а также на понимании значения NO в прямой и опосредованной через факторы транскрипции регуляции активности генов [35].

Важная роль эндотелия легочных сосудов в процессах сокращения и расслабления доказана в эксперименте, в частности на изолированных полосках легочной артерии с ее сокращением в условиях гипоксии и при отсутствии вовлечения в процесс эйкозаноидов, катехоламинов или ацетилхолина. В результате эксперимента сделан вывод о том, что сокращение легочной артерии непосредственно зависит от присутствия эндотелия [36].

Одной из причин развития легочной гипертензии могут быть гипоксемия и полицитемия. Впервые роль альвеолярной гипоксии в развитии легочной вазоконстрикции была показана в 1946 г. U. Von Euler и G. Lijstrand. В

нескольких исследованиях была доказана обратная зависимость между тяжестью ЛГ и степенью артериальной гипоксемии, кроме того, прогрессирование гипоксемии у больных хроническими заболеваниями легких почти всегда сопровождается нарастанием ЛГ [37].

Альвеолярная гипоксия вызывает легочную вазоконстрикцию посредством прямых и непрямых механизмов. Прямой эффект гипоксии связан с развитием деполяризации гладкомышечных клеток сосудов и их сокращением [38]. Непрямым механизмом гипоксической легочной вазоконстрикции является воздействие на стенку сосудов эндогенных медиаторов, таких, как лейкотриены, гистамин, серотонин, ангиотензин II и катехоламины [39].

Полицитемия, являющаяся следствием хронической артериальной гипоксемии, также является независимым от гипоксемии фактором, вызывающим повышение давления в легочной артерии (Ppa) и давления в правом желудочке (PVR) у больных ХОБЛ [40]. Полицитемия приводит к увеличению вязкости крови, кроме того, она является фактором риска развития тромбоэмболий, что также ведет к повышению Ppa и PVR [39].

Прогрессирование хронической легочной патологии вовлекает в патологический процесс все больше структурных элементов системы дыхания, увеличивая степень дыхательной недостаточности, что приводит к утяжелению легочной гипертензии. Чем больше степень дыхательной недостаточности, тем выше легочная гипертензия. Поскольку правый желудочек сердца в этих условиях должен выполнять большую работу (подвергаясь большим нагрузкам) для преодоления возросшего давления в легочной артерии, стенка его компенсаторно гипертрофируется, а полость – расширяется [41].

Таким образом, патологические процессы, развивающиеся при хронической легочной патологии, и сопутствующие им изменения нередко затрагивают сердце (как в структурном, так и в функциональном плане).

Формирование легочного сердца является прямым следствием легочного сосудистого ремоделирования и одной из главных причин инвалидизации и смертности у боль-

ных хроническим обструктивным бронхитом. Трехлетняя смертность у таких больных со сформированным легочным сердцем достигает 60% [47].

Основные методы обследования пациентов с ХОБЛ

Существует множество методов обследования больных с ХОБЛ, но наиболее значимыми для диагностики заболевания являются электрокардиография, эхокардиография, спирография.

Гипертрофия правого желудочка диагностируется с помощью электрокардиографии с большим трудом. Нередко она не проявляется на ЭКГ. Это связано с тем, что в норме левый желудочек значительно больше правого. Поэтому суммарный вектор возбуждения сердца в основном обусловлен возбуждением более мощно левого желудочка и его ЭДС преобладает над потенциалами правого желудочка. Существует даже мнение, что гипертрофия правого желудочка определяется на ЭКГ только в тех случаях, когда правый желудочек равен левому или больше него. Особенно большие трудности возникают при диагностике начальных стадий гипертрофии этого отдела сердца.

При гипертрофии правого желудочка увеличивается ЭДС этого отдела сердца и вектор его возбуждения. Удлиняется продолжительность возбуждения желудочка. Одновременно с гипертрофией правого желудочка гипертрофируется правая половина межжелудочковой перегородки. Меняется положение сердца в полости грудной клетки. Диагноз гипертрофии правого желудочка ставят в основном по изменениям ЭКГ в грудных отведениях. Для гипертрофии правого желудочка характерно наличие высокого зубца R_{V1V2} , когда $R_{V1} > S_{V1}$. в отведениях $V5, V6$ для нее специфично появление глубокого зубца. Электрическая ось сердца при гипертрофии правого желудочка часто расположена вертикально или отклонена вправо, или регистрируется электрическая ось типа SI-SII-SIII. Однако может наблюдаться и нормальное положение электрической оси сердца [43].

Катетеризация правых отделов сердца является «золотым стандартом» для точного измерения давления в легочной артерии. В качестве измерительного инструмента при катетеризации легочной артерии используется флотационно-балонный катетер или катетер Свана-Ганца [44]. Однако из-за инвазивности методики рутинное применение катетеризации легочной артерии у больных хроническим обструктивным бронхитом не рекомендуется. Оценка давления в легочной артерии с помощью доплерэхокардиографии в настоящее время является наиболее предпочтительным неинвазивным методом диагностики легочной гипертензии у больных хроническим обструктивным бронхитом в связи с высокой информативностью и низкой стоимостью [45].

Эхокардиография играет ведущую роль в диагностике патологии правых отделов сердца.

Современные доплеровские методики позволяют точно рассчитать максимальное систолическое и конечнодиастолическое давление в легочной артерии и оценить таким образом степень легочной гипертензии. Учитывая выраженную эмфизему легких у данной категории больных, для улучшения визуализации сердца рекомендуется использование субкостального доступа [46].

Повышение давления в легочной артерии приводит к дилатации правого желудочка и предсердия. Измерение диаметра правого желудочка проводят в парастернальной позиции по длинной оси. В норме в диастолу размер правого желудочка в этой позиции не превышает 30 мм (ряд авторов указывает цифру 40 мм). В норме в апикальной четырехкамерной позиции диаметр правого желудочка в диастолу не превышает 36 мм, размер правого предсердия 38x46 мм.

У больных с легочной гипертензией за счет повышения давления в правом желудочке межжелудочковая перегородка уплощается и левый желудочек напоминает по короткой оси латинскую печатную букву D (D-образный левый желудочек). При высокой степени легочной гипертензии межжелудочковая перегородка становится как бы стенкой

правого желудочка и движется в диастолу парадоксально в сторону левого желудочка. В тех случаях, когда давление в легочной артерии и правом желудочке превышает 80 мм рт.ст., левый желудочек уменьшается в объеме, сдавливается дилатированным правым желудочком и приобретает форму полумесяца. Всегда имеет место у больных с длительно существующей легочной гипертензией гипертрофия стенки правого желудочка. В норме диаметр стенки правого желудочка в диастолу должен быть <5 мм [34].

На фоне легочной гипертензией происходит дилатация нижней полой вены и печеночных вен, степень коллабирования нижней полой вены на вдохе составляет менее 50% или вообще отсутствует [46].

У больных с легочной гипертензией происходит изменение формы потока в выносящем тракте правого желудочка и в легочной артерии: время ускорения АТ уменьшается, и пик скорости потока смещается в первую половину систолы, время выброса ЕТ из правого желудочка в легочную артерию при этом возрастает. Чем больше степень легочной гипертензии, тем меньше время ускорения потока. На склоне замедления потока образуется выемка – инцизура, чем она глубже, тем больше степень легочной гипертензии.

При повышении давления в легочной артерии давление в правом желудочке так же возрастает. Вследствие этого в систолу происходит обратный ток крови из правого желудочка в правое предсердие – патологическая трикуспидальная регургитация [34].

Диагноз ХОБЛ устанавливается при наличии характерных симптомов и подтверждается спирометрией. Ведущее место в диагностике и объективизации степени тяжести ХОБЛ занимает исследование функции внешнего дыхания (ФВД). Спирография должна выполняться всем больным с хроническим кашлем, отделением мокроты и наличием факторов риска, даже при отсутствии одышки, что позволяет выявить заболевание на ранних стадиях развития. При исследовании определяются: объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1), форсированная жизненная

емкость легких (ФЖЕЛ) и отношение ОФВ1/ФЖЕЛ (наиболее чувствительный параметр, определяющий обструкцию). ОФВ1/ФЖЕЛ основной и наиболее ранний признак в диагностике ХОБЛ. Снижение данного показателя ниже 70% от должных в период ремиссии свидетельствует об обструктивных изменениях в бронхах, присущих всем стадиям заболевания, независимо от степени тяжести, определяемой по ОФВ1. Обструкция считается хронической, если она регистрируется не менее трех раз в течение одного года, несмотря на проводимую терапию [47].

Таким образом, ХОБЛ продолжает оставаться болезнью, при которой смертность и инвалидность продолжают расти, причем почти треть умерших от ХОБЛ составляют лица трудоспособного возраста и прямые затраты на лечение данной патологии значительно превышают таковые при лечении бронхиальной астмы, рака легких, пневмонии, острых респираторных заболеваний. Особую актуальность приобретает вопрос ранней диагностики ХОБЛ и профилактики у лиц с повышенной степенью риска, а также своевременного начала лечения, учитывая современные данные о клинико-морфологических изменениях у таких больных.

Литература

1. Морфологическая характеристика хронического обструктивного бронхита / Г. Г. Кругликов [и др.] // Пульмонология. – 2003. – Т. 13, №3. – С. 32-34.
2. Хронические обструктивные болезни легких: федеральная программа. – М., 1999.
3. Овчаренко, С. Хронические обструктивные болезни легких: современный взгляд на проблему / С. Овчаренко // Врач. – 2001. – №11. – С. 3-6.
4. Чучалин, А. Г. Хронические обструктивные болезни легких. – Москва, 1998. – 510 с.
5. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease ATS statement // Amer. J. Respir. Crit. Care Med. – 1995. – Vol. 152. – P. 77-120.
6. Роль эндотелия в развитии легочной гипертензии у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких. / Н. А. Кароли [и др.] // Клиническая медицина. – 2004. – №8. – С. 8-13.
7. Хроническая обструктивная болезнь легких / А. Р. Татарский [и др.] // Пульмонология. – 2004. – Т. 6, №4.
8. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. / A. G. N. Agusti [et al.] // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 21. – P. 347-360.

9. Buist, A. S. Risk factors for COPD / A. S. Buist // *Eur. Respir. Rev.* – 1996. – Vol. 6, N 39. – P. 253–258.
10. Jarvis, M. J. Smoking cessation / M. J. Jarvis // *Eur. Respir. Rev.* – 1997. – Vol. 7, N 45. – P. 230–234.
11. Чучалин, А. Г. Болезни курящего человека / А. Г. – Чучалин // *Тер. арх.* – 1998. – № 3. – С. 5–13.
12. Characteristics inflammation in biopsies from large airways of subjects with and subjects with chronic airflow lim./ S. L. Ollerenshaw [et al.] // *Ibid.* – 1992. – Vol. 145. – P. 922–927.
13. Хроническая обструктивная болезнь легких: практическое руководство для врачей. – М., 2004. – С. 64.
14. Морфологические аспекты прогрессирующего течения хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Лаптева [и др.] // *Медицинская панорама.* – 2005. – № 10. – С. 39–41.
15. Cellular and biochemical mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease / J. R. Hoidal [et al.] // *Im Management of chronic obstructive pulmonary disease* / eds: D. S. Postma, N. M. Siafakas // *The European Respiratory Society Monograph*, 7 May. – 1998. – P. 1–302.
16. The national institutes of health intermittent positive-pressure breathing trial Pathology studies II Correlations between morphologic findings, clinical findings and evidence of expiratory air-flow obstruction / A. Nagai [et al.] // *Did.* – 1985. – Vol. 132. – P. 946–52.
17. Федорова, Т.А. Хроническое легочное сердце / Т.А. Федорова // *Хроническая обструктивная болезнь легких* / под ред. А.Г. Чучалина. – М., 1998. – С. 192–216.
18. Normal variations in pressure and flow / P. Harris [et al.] // *The Human Pulmonary Circulation.* – 3-rd ed. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 1986. – P. 149–160.
19. Хроническое легочное сердце: механизмы формирования и прогрессирования / В. И. Сильвестров [и др.] // *Тер. арх.* – 1991. – Т. 3. – С. 103–108.
20. Gibbs, J. S. R. [et al.] // *Heart.* – 2001. – Vol. 86, N 1. – P. 1–13.
21. Rubin, L. J. // *Chest.* – 2004. – Vol. 126. – P. 7S–10S.
22. Применение доплерэхокардиографии для мониторинга легочной гипертензии у больных хроническим обструктивным бронхитом / В. А. Пьянков [и др.] // *Ультразвуковая и функциональная диагностика.* – 2001. – № 2. – С. 102–106.
23. Федорова, Т. А. Хроническое легочное сердце в терапевтической практике / Т. А. Федорова. – М., 1995.
24. Системная пульмогенная и вторичная легочная артериальная гипертензия / В. С. Задионченко [и др.] // *Российский кардиологический журнал.* – 1997. – № 6. – С. 28–37.
25. Моисеев, В. С. Хроническое легочное сердце / В. С. Моисеев // *Врач.* – 2001. – № 11. – С. 20–22.
26. Cannon, R. O. // *Clin. Chem.* – 1998. – Vol. 44. – P. 1809–1819.
27. Легочная гипертензия при хронических обструктивных болезнях легких / Н. Р. Палеев [и др.] // *Рос. мед. журн.* – 1998. – № 5. – С. 44–47.
28. Drexler, H. [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 1999. – Vol. 31. – P. 51–60.
29. Jaffe, E. A. // *Hum. Pathol.* – 1987. – Vol. 18. – P. 234–239.
30. Forchgott, R. W. [et al.] // *Nature.* – 1980. – Vol. 288. – P. 373–376.
31. Palmer, R. J. M. [et al.] // *Nature.* – 1987. – Vol. 327. – P. 524–526.
32. Granger, D. N. [et al.] // *J. Leukos. Biol.* – 1994. – Vol. 55. – P. 662–675.
33. Cannon, R. O. // *Clin. Chem.* – 1998. – Vol. 44. – P. 1809–1819.
34. Рыбакова, М. К. Возможности эхокардиографии в дифференциальной диагностике дилатации правых отделов сердца и оценке степени легочной гипертензии / М. К. Рыбакова // *Ультразвуковая диагностика.* – 2000. – № 1. – С. 110–119.
35. Шебеко, В. И. // *Эндотелий и система комплемента.* – Витебск, 1999. – С. 10.
36. Normal variations in pressure and flow / P. Harris [et al.] // *The Human Pulmonary Circulation.* – 3-rd ed. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 1986. – P. 149–160.
37. Long-term course of pulmonary arterial pressure in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. Rev. Respir. Rev.* – 1984. – Vol. 130. – P. 993–998.
38. Treatment of pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease / E. Weitzenblum [et al.] // *Eur. Respir. Mon.* – 1998. – Vol. 7. – P. 180–188.
39. Pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease: recent advances in pathophysiology and management / W. Hida [et al.] // *Respiration.* – 2002. – Vol. 7. – P. 3–13.
40. Effects of hemoglobin on pulmonary arterial pressure and pulmonary vascular resistance in patients with chronic emphysema / A. Nakamura [et al.] // *Respiration.* – 2000. – Vol. 67. – P. 502–506.
41. Этапы становления структурных изменений сердца у пациентов с хронической легочной патологией / Е. Н. Борская [и др.] // *Ультразвуковая и функциональная диагностика.* – 2002. – № 4. – С. 82–87.
42. Nocturnal Oxygen therapy trial group. Continuous or nocturnal oxygen therapy in hypoxemic chronic obstructive lung disease // *Ann. Intern. Med.* – 1980. – Vol. 93. – P. 391.
43. Орлов, В. Н. Руководство по электрокардиографии / В. Н. Орлов. – М.: Медицина. – 1983. – С. 126–142.
44. Гриппи, М. А. Патофизиология легких / М. А. Гриппи. – М.: Восточная книжная компания, 1997. – С. 186–190.
45. Spiripolos, K. Non-invasive estimation of pulmonary arterial hypertension in chronic obstructive pulmonary disease / K. Spiripolos // *Lung.* – 1999. – Vol. 177. – N 2. – P. 65–75.
46. Echocardiographic evaluation of pulmonary artery flow parameters in patients with chronic pulmonary disease / W. Myslinski [et al.] // *Pol. Mercuriusz. Lek.* – 1996. – Vol. 1, N 1. – P. 4–11.
47. Хроническая обструктивная болезнь легких – диагноз эпохи медицины доказательств / Е. И. Давидовская [и др.] // *Медицинские новости.* – 2004. – № 2. – С. 51–54.

Поступила 20.02.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

ГЛИННИК С.В.*, РИНЕЙСКАЯ О.Н.*, РОМАНОВСКИЙ И.В.*, КРАСНЕНКОВА Т.П.**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»*,
Центральная научно - исследовательская лаборатория **

Резюме. Исследовано влияние теплового стресса на гормональный статус и содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс с экспериментальным гипотиреозом. Обнаружено, что тепловое воздействие (на протяжении 2 - х часов при t 40 - 42°C) вызывало выраженную стрессовую реакцию организма экспериментальных животных, о чем свидетельствовали полученные данные исследования поведенческих реакций в тесте «открытое поле», а также увеличение уровня кортизола в сыворотке крови. Тепловой стресс у эутиреоидных животных сопровождался возрастанием концентраций большинства исследуемых аминокислот. Экспериментальный гипотиреоз (употребление животными в качестве питья 0,02 % раствора ПТУ в течение 14 суток) сопровождался выраженным увеличением содержания в плазме крови крыс исследуемых аминокислот (особенно триптофана, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот). При тепловом стрессе на фоне гипотиреоза наблюдалось снижение адаптационных возможностей организма экспериментальных животных, что проявлялось в повышении уровня трийодтиронина, инсулина, отсутствии адекватного изменения уровня кортизола в сыворотке крови экспериментальных животных, а также изменении аминокислотного состава плазмы крови (уменьшении содержания глутаминовой и аспарагиновой кислот, метионина, серина, треонина).

Ключевые слова: тепловой стресс, экспериментальный гипотиреоз, гормональный статус, свободные аминокислоты.

Abstract. Hormonal state and concentration of free amino acids in blood plasma of rats with experimental hypothyroidism were studied at thermal stress. Thermal effect was determined to cause marked stress reaction in experimental animals (increase of rectal temperature after thermal stress by 2,8 – 3,1°C, increase of corticosteroid hormones level in blood serum of rats with normal thyroid status). There was an increase in the concentration of the studied amino acids. Increase in the level of tryptophan, phenylalanine, asparaginic acid and glutamic acid in blood plasma of rats with experimental hypothyroidism was observed. Decrease in adaptation capabilities of rats with experimental hypothyroidism at thermal stress was also observed (absence of adequate changes of corticosteroid hormones level and decrease in the level of concentration of glutamic acid, asparaginic acid, methionine, serine, threonine in blood plasma, increase in the level of insulin and T_3).

Стресс является неотъемлемой частью повседневной жизни человека. Биологическая сущность этого состояния заключается прежде всего в усилении деятельности приспособительных механизмов, адаптирующих организм к новым условиям суще-

ствования [1]. Однако сильный или слишком продолжительный стресс становится потенциально опасным для здоровья [2]. Известно, что стресс - реакции реализуются через систему механизмов, в которых особое место занимает эндокринная система. За последние годы накоплен значительный экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о том, что тиреоидный статус организма имеет важное значение в реализации адаптационно - приспособительных реакций. Ти-

Адрес для корреспонденции: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, д.83, БГМУ, кафедра биоорганической химии, тел. р. (017)297-65-74; м.т. 8-029-393-71-81, 8-029-682-14-37; e-mail ryneiskaya@mail.ru - Ринейская О.Н.

роксин и трийодтиронин способны мобилизовать резервы организма и тем самым участвовать в устранении нарушений гомеостаза, вызванных действием стрессового фактора. Так, работами Городецкой И.В. и соавт. показано, что в условиях гипотиреоза устойчивость организма к воздействию различных неблагоприятных факторов значительно снижается. Подавление функции щитовидной железы мерказолилом у экспериментальных животных предупреждало реализацию защитных эффектов адаптации короткими сеансами гипобарической гипоксии при острой гипоксии [3]. Также было обнаружено, что тиреоидный статус организма при тепловых тренировках имеет существенное значение в развитии адаптационных эффектов, ограничивающих гипертермию, ульцерацию слизистой оболочки желудка, изменения относительной массы надпочечников и селезенки, концентрации гормонов в крови, вызванные тепловым стрессом. [4]. Поскольку гормоны щитовидной железы имеют непосредственное отношение к регуляции температурного гомеостаза, то особенно важна их роль в реализации стресс-реакции на тепловое воздействие [5, 6]. Учитывая также высокую распространенность врожденного и приобретенного гипотиреоза в Республике Беларусь, нам представляется целесообразным изучение особенностей формирования ответной реакции организма на стрессовое воздействие теплового фактора в условиях недостаточного содержания тиреоидных гормонов.

Актуальным и важным является также исследование аминокислотного состава тканей, поскольку аминокислоты не только являются структурными компонентами пептидов и белков, но и участвуют в синтезе многих эндогенных биологически активных соединений: некоторых гормонов, нейромедиаторов и др. Обмен аминокислот контролируется различными биохимическими и физиологическими механизмами, определяющими относительно постоянные концентрации аминокислот в крови и тканях. Поскольку аминокислотам также принадлежит роль посредников, связывающих между собой основные метабо-

лические пути – гликолиз, цикл Кребса, глюконеогенез – исследование аминокислотного состава плазмы крови может служить интегральным показателем функционального состояния регуляторных систем организма.

Целью настоящего исследования явилось изучение гормонального статуса и содержания аминокислот в плазме крови крыс с экспериментальным гипотиреозом при тепловом воздействии.

Методы

Работа выполнена на 48 белых крысах-самцах массой 180 - 200 г, содержащихся на обычном рационе вивария БГМУ. Исследование включало 2 серии экспериментов. В 1 - й серии (16 животных) оценивалась степень выраженности теплового стресса по нарушению индивидуального поведения экспериментальных животных в тесте «открытое поле» [7]. Тепловой стресс вызывался путем помещения животных на 2 часа в суховоздушный термостат при t 40 - 42°C. Для оценки степени выраженности теплового стресса измеряли ректальную температуру при помощи электротермометра. Во 2 - й серии экспериментов животные (32 крысы) были разделены на 4 группы (по 8 особей): 1 - я группа (контроль) – интактные крысы, получавшие на протяжении эксперимента (14 суток) обычную воду; 2 - я группа (стресс) – крысы, получавшие на протяжении двух недель обычную воду и на 14 - е сутки подвергнутые тепловому стрессу; 3 - я группа (гипотиреоз) – крысы с экспериментальным гипотиреозом, который создавался при употреблении в качестве питья 0,02% раствора пропилтиоурацила (ПТУ) в течение 14 суток из поилок при постоянном доступе (0,78 мг ПТУ на 100 г массы тела в сутки); 4 - я группа (гипотиреоз + стресс) – крысы с экспериментальным гипотиреозом, подвергнутые на 14 - е сутки тепловому стрессу.

Животные умерщвлялись под тиопенталовым наркозом (60 – 80 мг/кг) забором крови из сонной артерии. Плазму получали центрифугированием гепаринизированной крови при 1500 об/мин и 4°C в течение 15 минут. Кровь для исследования гормонального ста-

туса забирались в пробирку без консерванта и через 2 часа центрифугировались в течение 10 минут при 1500 об/мин для получения сыворотки. У животных также забирали щитовидную железу, массу которой измеряли взвешиванием на электронных весах (Госметр, Россия). Содержание в сыворотке крови тироксина, трийодтиронина, кортизола и инсулина определялось методом радиоиммунного анализа с использованием наборов производства ИБОХ НАН Беларуси. Для анализа аминокислот (аспарагиновой и глутаминовой кислот, глицина, гистидина, таурина, серина, треонина, триптофана, фенилаланина, метионина, аргинина) в плазме крови использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Подготовка образцов плазмы к ВЭЖХ и дериватизация аминокислот производились по методу, описанному нами ранее [8]. Статистическая обработка выполнена с помощью программного пакета Statistica 6.0. Полученные данные в таблицах представлены как медиана и 50% интерквартильный размах. Для оценки достоверности различий между группами использовался тест Манна - Уитни (достоверными считались различия при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Тепловой стресс, вызванный в указанных условиях, отличался значительной выраженностью. Ректальная температура экспериментальных животных, измеренная непосредственно после теплового воздействия, повы-

силась на 2,8 - 3,1°C. О выраженности стресса судили по поведению животных в тесте «открытое поле». В ходе проведения теста было обнаружено снижение на 59,5% двигательной активности (которая оценивалась по горизонтальной подвижности), на 41% ориентировочно - исследовательской активности (этот показатель представлял собой сумму показателей вертикальной подвижности и исследования «норок») и снижение в 3,7 раза эмоциональности. При изучении гормонального статуса при тепловом стрессе у экспериментальных животных (табл. 1) было обнаружено повышение уровня кортизола в сыворотке крови крыс на 23,5%. Уровень инсулина в сыворотке крови крыс при тепловом стрессе снижался по сравнению с контрольной группой на 20,3%. Отмечалась тенденция к снижению уровней гормонов щитовидной железы – трийодтиронина на 11,1% и тироксина – на 8,7%. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значительной выраженности стресс - реакции организма на тепловое воздействие, так как согласно данным литературы [9] выраженность стрессорной реакции у крыс прямо пропорциональна эмоциональности и обратно пропорциональна величинам двигательной и ориентировочно - исследовательской активности.

Для исследования реакции организма на тепловое стрессовое воздействие в условиях пониженного содержания гормонов щитовидной железы нами использовалась разработан-

Таблица 1

Гормональный статус крыс при тепловом стрессе, экспериментальном гипотиреозе и тепловом стрессе на фоне гипотиреоза

Группа животных	Гормоны			
	Трийодтиронин, нмоль/л	Тироксин, нмоль/л	Кортизол, нмоль/л	Инсулин, пмоль/л
Контроль	0,90(0,72-1,20)	32,0(26,0-37,1)	17,0(10,0-21,0)	61,5(54,0-90,0)
Стресс	0,80(0,71-0,90) ²⁾	29,2(29,0-31,1) ²⁾	21,0(17,0-24,0) ²⁾	49,0(34,0-53,0) ¹⁾
Гипотиреоз	0,23(0,18-0,28) ¹⁾²⁾	3,4(2,9-3,5) ¹⁾	10,0(8,1-14,0)	21,5(16,5-26,5) ¹⁾²⁾
Гипотиреоз + стресс	0,47(0,40-0,69) ¹⁾	3,0(2,5-3,4) ¹⁾	10,0(9,0-16,0)	39,0(29,0-44,0)

¹⁾ – различия достоверны по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$)

²⁾ – различия достоверны по сравнению с группой «гипотиреоз + стресс» ($p < 0,05$)

Таблица 2

Содержание аминокислот (мкмоль/л) в плазме крови крыс при тепловом стрессе, экспериментальном гипотиреозе и при тепловом стрессе на фоне гипотиреоза

Аминокислота	Группа животных			
	Контроль	Тепловой стресс	Гипотиреоз	Гипотиреоз + Тепловой стресс
Аспарагиновая кислота	17,5(11,2-18,9)	24,4(21,9-27,8) ¹⁾²⁾	82,0(76,8-91,1) ¹⁾²⁾	49,8(45,7-57,1) ¹⁾
Глутаминовая кислота	52,1(40,6-58,7)	64,9(62,6-67,4) ¹⁾²⁾	130,8(127,2-134,4) ¹⁾²⁾	50,3(46,9-61,6)
Серин	221,5(213,5-227,2)	244,2(237,1-269,8) ¹⁾²⁾	208,8(195,9-218,1) ²⁾	156,5(140,1-161,5) ¹⁾
Гистидин	430,0(424,1-453,5)	477,2(460,7-510,6) ¹⁾	448,5(420,3-474,9) ²⁾	523,3(501,5-577,9) ¹⁾
Аргинин	178,9(173,9-186,8)	141,1(133,6-154,6) ¹⁾²⁾	179,8(173,4-192,2)	194,4(181,7-235,1)
Таурин	111,5(99,6-122,1)	97,5(84,6-101,7) ²⁾	157,8(151,0-184,5) ¹⁾²⁾	219,9(189,9-240,0) ¹⁾
Метионин	89,2(85,3-92,4)	121,0(112,2-128,5) ¹⁾²⁾	252,6(247,8-280,2) ¹⁾²⁾	154,5(146,2-183,3) ¹⁾
Фенилаланин	57,9(57,3-59,2)	99,2(94,7-104,7) ¹⁾²⁾	152,5(141,4-167,9) ¹⁾	140,8(128,1-155,4) ¹⁾
Глицин	196,8(189,2-202,9)	199,1(194,4-215,9) ²⁾	241,9(226,9-257,2) ¹⁾	297,5(248,5-306,9) ¹⁾
Треонин	101,2(87,0-103,6)	124,6(113,0-130,5) ¹⁾	186,6(151,5-194,6) ¹⁾²⁾	116,1(92,8-143,3)
Триптофан	14,9(12,2-17,0)	28,4(24,2-32,8) ¹⁾²⁾	76,5(71,8-83,9) ¹⁾	64,9(62,9-75,5) ¹⁾

¹⁾ – различия достоверны по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$)

²⁾ – различия достоверны по сравнению с группой «гипотиреоз + стресс» ($p < 0,05$)

ная на кафедре биоорганической химии совместно с лабораторией экспериментальной медицины, фармакологии и токсикологии ЦНИ-Ла БГМУ пропилтиоурациловая модель гипотиреоза [10]. Механизм развития гипотиреоза обусловлен тем, что ПТУ ингибирует образование тиреоидных гормонов, главным образом, на этапе органификации йода – включения йода в тирозильные фрагменты тиреоглобулина [11]. Это обусловлено прямым ингибирующим действием на тиреопероксидазу, осуществляющую активацию йода и процесс йодирования ароматических колец тирозина в составе тиреоглобулина. ПТУ также ингибирует реакцию конъюгации моно- и дийодтирозинов, ведущую к образованию йодтиронинов в составе тиреоглобулина, которая является заключительной стадией образования предшественников активных гормонов щитовидной железы. Кроме того, ПТУ обладает способностью ингибировать 5'-дейодиназы периферических тканей, которые катализируют превращение тироксина в трийодтиронин. Развитие гипотиреоза к 14-м суткам приема 0,02% - го раствора ПТУ подтверждалось снижением уровня тироксина на

89%, трийодтиронина на 74%, а также достоверным увеличением весового коэффициента щитовидной железы у крыс в 1,8 раза. Так, относительная масса щитовидной железы увеличилась с 0,10 (0,09 - 0,12) мг/кг (группа контроля) до 0,18 (0,16 - 0,21) мг/кг. Гипотиреоз у экспериментальных животных сопровождался также достоверным снижением в сыворотке крови уровня инсулина на 65%, и отмечалась тенденция к снижению концентрации кортизола.

При тепловом воздействии на животных с экспериментальным гипотиреозом было обнаружено увеличение содержания трийодтиронина более чем в 2 раза по сравнению с группой «гипотиреоз». Уровень кортизола был снижен на 41,2% относительно контрольной группы и достоверно не отличался от аналогичного показателя в группе «гипотиреоз». Содержание инсулина в сыворотке крови гипотиреоидных крыс, подвергавшихся тепловому воздействию, превышало на 81,4% уровень данного показателя у животных с экспериментальным гипотиреозом.

Результаты исследования содержания аминокислот в плазме крови эутиреоидных

крыс (табл. 2) указывают на повышение концентраций большинства из них на 10 – 90% в ответ на тепловой стресс.

Экспериментальный гипотиреоз у животных сопровождался увеличением содержания в плазме исследуемых аминокислот. Так, концентрации аспарагиновой и глутаминовой кислот, относящихся к возбуждающим, возрастали в 4,7 и 2,5 раза; серосодержащих аминокислот – таурина и метионина – на 41% и в 2,8 раза соответственно; глицина, треонина и фенилаланина – на 23%, 84% и 160%. Особенно значительным было увеличение содержания в плазме крови крыс триптофана – в 5,1 раза по сравнению с группой контроля. По данным литературы, при дисбалансе тиреоидных гормонов происходят изменения процессов синтеза и распада серотонина, нейромедиатора, предшественником которого является триптофан [12, 13].

Тепловой стресс на фоне гипотиреоза вызывал разнонаправленные изменения содержания исследуемых аминокислот в плазме крови экспериментальных животных, однако концентрации большинства из них снижались по сравнению с аналогичными показателями в группе «гипотиреоз». Содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот уменьшалось на 39,2% и 61,5%; метионина – на 38,8%. Концентрации гидроксилсодержащих аминокислот – серина и треонина – снижались на 25% и 37,8% соответственно. В то же время было обнаружено достоверное увеличение содержания в плазме крови крыс гистидина на 16,8%, таурина – на 39,3%. Достоверных изменений концентраций аргинина, триптофана, глицина и фенилаланина в плазме крови гипотиреоидных животных, подвергнутых тепловому стрессу, не было выявлено.

Обсуждая полученные результаты, мы отмечаем, что состояние аминокислотного фонда зависит от большого количества различных факторов, к числу важнейших из них относятся: экзогенное поступление аминокислот в организм с пищей, активность процессов синтеза и распада белков, реакций метаболизма аминокислот (декарбоксилирования, трансаминирования, окислительного дезами-

нирования) и др. [14, 15]. Учитывая условия содержания животных, следует считать, что питание крыс различных экспериментальных групп было равноценным по аминокислотному составу, и на изменения концентраций в сыворотке крови различных аминокислот в нашем эксперименте данный фактор не оказывал влияния.

Согласно Селье Г., одним из механизмов стрессорного повреждения органов и тканей является преобладание процессов гидролиза белков над скоростью их ресинтеза, обусловленное гормональным дисбалансом с преобладанием «катаболических» гормонов [16]. Тепловой стресс, который создавался в нашем эксперименте (t 40 - 42°C, 2 часа), отличался достаточной выраженностью и сопровождался выбросом кортизола и снижением уровня инсулина в сыворотке крови экспериментальных животных. Полученные результаты указывают на изменение соотношения «катаболических» и «анаболических» гормонов, что может являться причиной увеличения содержания в плазме крови крыс большинства исследуемых аминокислот в ответ на тепловое воздействие.

При тепловом стрессе на фоне экспериментального гипотиреоза у животных не были обнаружены закономерные для стресса изменения гормонального статуса: уровень кортизола достоверно не отличался от аналогичного показателя у гипотиреоидных крыс, не подвергавшихся стрессу, а содержание инсулина в сыворотке крови увеличилось на 81,4%. Представляется важным отметить обнаруженное нами возрастание уровня трийодтиронина в сыворотке крови гипотиреоидных крыс, подвергшихся тепловому воздействию – гормона, имеющего непосредственное отношение к термогенезу. Увеличение его концентрации при тепловом воздействии, возможно, свидетельствует о нарушении компенсаторных возможностей регуляторных систем организма экспериментальных животных. А уменьшение содержания в плазме крови большинства исследованных аминокислот при тепловом воздействии на фоне гипотиреоза, вероятно, является следствием отсутствия сбалансированного ответа со стороны эндокринной системы.

Заключение

1. Тепловое воздействие (продолжительностью 2 часа при t 40 - 42°C) вызывало выраженную стрессовую реакцию организма экспериментальных животных, о чем свидетельствовали полученные данные исследования поведенческих реакций в тесте «открытое поле», а также увеличение уровня кортизола в сыворотке крови. Тепловой стресс у эутиреодных животных сопровождался возрастанием концентраций большинства исследуемых аминокислот.

2. Экспериментальный гипотиреоз (употребление животными в качестве питья 0,02% раствора ПТУ в течение 14 суток) сопровождался выраженным увеличением содержания в плазме крови крыс исследуемых аминокислот (особенно триптофана, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот).

3. При тепловом стрессе на фоне гипотиреоза наблюдалось снижение адаптационных возможностей организма экспериментальных животных, что проявлялось в повышении уровня трийодтиронина, инсулина, отсутствии адекватного изменения уровня кортизола в сыворотке крови экспериментальных животных, а также изменении аминокислотного состава плазмы крови (уменьшении содержания глутаминовой, аспарагиновой кислот, метионина, серина, треонина).

Литература

- Горизонтов, П. Д. Роль АКТИГ и кортикостероидов в патологии / П. Д. Горизонтов, Т. Н. Протасова. – М.: Медицина, 1968. – 335 с.
- Меерсон, Ф. З. Генерализованное накопление стресс - белков при адаптации организма к стрессорным воздействиям / Ф. З. Меерсон, И. Ю. Малышев, А. В. Замотринский // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 231 – 233.
- Лаврова, О. В. Зависимость протекторных эффектов адаптации к гипоксии от тиреоидного статуса организма / О. В. Лаврова, О. Г. Величинская, И. В. Городецкая // Теоретические и практические вопросы медицины и фармации: материалы конф. студентов и молодых ученых. – Витебск: ВГМУ, 2000. – С. 49 - 51.
- Городецкая, И. В. Зависимость эффективности адаптации к теплу от тиреоидного статуса организма / И. В. Городецкая // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2000. – № 3. – С. 109 - 113.
- Султанов, Ф. Ф. Гормональные механизмы температурной адаптации / Ф. Ф. Султанов, В. И. Соболев. – Ашхабад: Блым, 1991. – 216 с.
- Edelman, M. D. Thyroid thermogenesis and active sodium transport / M. D. Edelman, F. Ismail - Beigi // Recent Progress in Hormone Res. – 1974. – Vol. 30. – P. 235 - 257.
- Бородин, П. М. Проблемы генетики стресса. Генетический анализ поведения мышей в стрессирующей ситуации / П. М. Бородин, Л. Н. Шюлер, Д. К. - Беляев // Генетика. – 1976. – Т. 12, № 12. – С. 62 - 70.
- Красненкова, Т. П. Использование ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием для определения концентрации аминокислот в плазме крови крыс / Т. П. Красненкова, О. Н. Ринейская // Труды молодых ученых БГМУ. – Минск: БГМУ, 005. – С. 73 - 77.
- Archer, J. Test for emotionality in rats and mice, a review / J. Archer // Animal Behaviour. – 1973. – Vol. 205. – P. 113 - 121.
- Щитовидная железа / под ред. А. И. Кубарко. – Минск - Нагасаки, 1998. – 368 с.
- Cooper, D. S. Antithyroid drugs / D. S. Cooper // N. Engl. Med. – 1984. – Vol. 311. – P. 1353 - 1362.
- Сапронов, Н. С. Гормоны гипоталамо - гипофизарно - тиреоидной системы и мозг / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова. – С. - Петербург: Лань, 2002. – 156 с.
- Effects of triiodothyronine and imipramine on basal 5-HT levels and 5-HT1 autoreceptor activity in rat cortex / E. Gur [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 2002. – P. 37 - 43.
- Holden, J. T. Amino Acid Pools / J. T. Holden. – Amsterdam: Elsevier, 1962. – 815 p.
- Amino Acid (Chemistry, Biology, Medicine) / eds.: C. Lubec, J. A. Rosenthal. – N.Y.: Escom, 1990. – 1196 p.
- Селье, Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. – М.: Прогресс, 1982. – 122 с.

Поступила 16.02.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА И ЦИТОКИНОВ В ВОЛОСЯНЫХ ФОЛЛИКУЛАХ И ИХ МИКРООКРУЖЕНИИ В НОРМЕ И ПРИ ГНЕЗДНОЙ АЛОПЕЦИИ

ФОМЧЕНКО Ю.А.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. С помощью методов иммуногистохимии исследовано распределение фактора некроза опухолей- α , интерлейкина 1β , фактора роста эпидермиса, фактора роста фибробластов в коже волосистой части головы практически здоровых людей и людей, страдающих гнездной алопецией. Описано распределение данных факторов в норме и при гнездной алопеции. Характер распределения факторов роста и цитокинов в условиях нормы позволяет предположить, что ростовые факторы являются субстанциями постоянной секреции со стороны структур волосяного фолликула, которые могут участвовать в стимуляции постоянного деления эпителиоцитов и функционирования волосяного сосочка. При алопеции наблюдается отклонение от нормального распределения ростовых факторов в структурах волосяного фолликула и его микроокружения. Особенно выраженные изменения наблюдаются в распределении цитокинов при гнездной алопеции. Общей характерной особенностью является более интенсивная окраска и широкое распространение в окружающей дерме. Это позволяет выдвинуть предположение об общем изменении синтеза регуляторных молекул при гнездной алопеции. Увеличение синтеза цитокинов при гнездной алопеции может приводить к нарушению нормальной пролиферации эпителиоцитов и преждевременному вступлению волоса в анаген. При этом одним из факторов патогенеза при алопеции может быть нарушение соотношения синтеза цитокинов и факторов роста.

Ключевые слова: волосяной фолликул, гнездная алопеция, фактор некроза опухолей- α , интерлейкин 1β , фактор роста эпидермиса, фактора роста фибробластов.

Abstract. The distribution of tumor necrosis factor - α (TNF- α), interleukin 1β (IL- 1β), epidermis growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF) was investigated by immunohistochemical methods in the hair skin of the head of healthy individuals and patients with alopecia areata. The distribution of these factors in the normal skin and in alopecia areata was described. The distribution pattern lets us suggest that growth factors are the substances constantly secreted by the structures of hair follicle, which may participate in epitheliocytes division stimulation and hair papilla functioning. In alopecia the deviation from the normal distribution of growth factors in the structures of hair follicles and their microenvironment was observed. The most marked changes in cytokine distribution are observed in patients with alopecia areata. The general characteristic property of the changes is more intensive staining and wide spreading in the surrounding dermis. This enables the conclusion about general shift in the pattern of regulatory molecules synthesis in alopecia areata. The increase in cytokine synthesis may lead to a disturbance of normal epitheliocytes proliferation and premature anagen phase induction. One of the important factors of alopecia pathogenesis can be the misbalance between cytokine and growth factor synthesis.

До сих пор волосяной фолликул является «темной лошадкой» для многих исследователей физиологии и морфологии волоса. Это связано прежде всего с цик-

личностью роста волоса и действием неких «биологических часов», определяющих продолжительность жизни волоса [1]. В волосяном фолликуле присутствуют делящиеся клетки, которые по интенсивности деления напоминают опухолевые. Это заставляет задуматься о степени и уровне контроля таких регуля-

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра гистологии. - Фомченко Ю.А.

торов клеточной популяции, как митоз и апоптоз. Каким образом волосяному фолликулу удается держать под контролем скорость деления клеток? От каких факторов, веществ, межклеточных взаимодействий может зависеть рост и гибель волосяного фолликула? Многие исследователи приходят к выводу, что здесь играет роль дермо-эпителиальное взаимоотношение, основанное на выделении специфических регуляторных факторов. При этом продуцентами регуляторных факторов могут выступать как эпителиальные клетки волосяного фолликула, так и клетки микроокружения [2, 3]. Одним из заболеваний, демонстрирующих явное нарушение цикла роста волоса, является гнездная алопеция (ГА), характеризующаяся появлением ровных очагов выпадения волос волосистой части кожи головы, области усов и бороды [1, 3]. Современные исследователи определяют две группы биологически активных веществ, влияющих на рост волоса. Это факторы роста и цитокины. Исследования провоспалительных цитокинов и ростовых факторов открывают достаточно противоречивые факты их воздействия на рост волосяного стержня, клетки волосяного фолликула и дермального сосочка. При ГА выявляется необычная экспрессия ИЛ-1 β и ФНО- α , которая в норме присутствует только во внутреннем корневом влагалище [4, 5]. Показано, что ИЛ-1 β и ФНО- α ингибируют и прекращают рост волосяного фолликула в зависимости от дозы, вызывая в культуре волосяных фолликулов образование дистрофических анагеновых волос, которые очень похожи на таковые при ГА [9, 5, 7, 10]. В то же время доказано, что клетки дермального сосочка синтезируют ИЛ-1 β , а клетки фолликулярного матрикса экспрессируют тип I ИЛ-1 рецепторов, на которые действует ИЛ-1 β [11]. Относительно ростовых факторов, которые могут синтезироваться фибробластами волосяного сосочка, имеется мало сообщений, и они достаточно противоречивы. Так, трансформирующий фактор роста- β (ТФР- β) большинство исследователей относят к фактору, который ингибирует нормальное развитие волосяного фолликула и деление клеток матрикса и

может вызвать катагеноподобные изменения в культуре волосяных фолликулов [5, 6, 12]. Эпидермальный ростовой фактор (ЭРФ)-одни исследователи говорят о его ингибирующем влиянии на рост волоса вплоть до его полного прекращения и образования булавовидных волосяных фолликулов, похожих на морфологию катагеновых волосяных луковиц [5]. Обработка культуры волосяных фолликулов ЭРФ приводила к резкой стимуляции клеточной пролиферации наружного корневого влагалища, которая вызывала нарушение нормальных механизмов клеточных взаимодействий, а также депиляторный эффект [8].

В связи с этим целью данного исследования было изучить распределение факторов роста и цитокинов в волосяных фолликулах и их микроокружении в норме и при гнездной алопеции.

Методы

Строение волосяных фолликулов изучали на материале, полученном от 15 трупов людей обоего пола в возрасте от 18 до 50 лет, вскрытых в морге Управления Государственной службы медицинских судебных экспертиз, 10 пациентов, оперированных в нейрохирургическом отделении Витебской областной клинической больницы. Изучена кожа волосистой части головы 10 пациентов, страдающих гнездной алопецией. Парафиновые и криостатные срезы толщиной 10 мкм исследовали методом непрямой иммуногистохимии с мечеными антителами против фактора некроза опухолей- α (ФНО- α), интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β), фактора роста эпидермиса (ФРЭ), фактора роста фибробластов (ФРФ).

Результаты и обсуждение

В условиях нормы ФНО- α выявляется в малодифференцированных клетках коркового мозгового вещества и внутреннего корневого влагалища, расположенных в нижних отделах волосяного фолликула (рис. 1). Клетки, расположенные ниже, обладают более высокой, иногда до максимальной, интенсивностью окрашивания. По мере продвижения в вертикальном направлении интенсивность окрашивания постепенно снижается, а затем исчезает. В клет-



Рис. 1. Фактор некроза опухолей выявляется в малодифференцированных клетках коркового, мозгового вещества волоса и внутреннего корневого влагалища. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФНО-α. Увел. 200.

ках микроокружения окраска на ФНО-α отсутствует, за исключением клеток мышцы, поднимающей волос. В клетках наружного корневого влагалища продукт реакции полностью отсутствует.

ФРЭ выявляется в клетках луковицы волосяного фолликула и клетках внутреннего корневого влагалища, расположенных вблизи волосяного сосочка. Продукт реакции выявляется в отдельных, но не во всех волося-

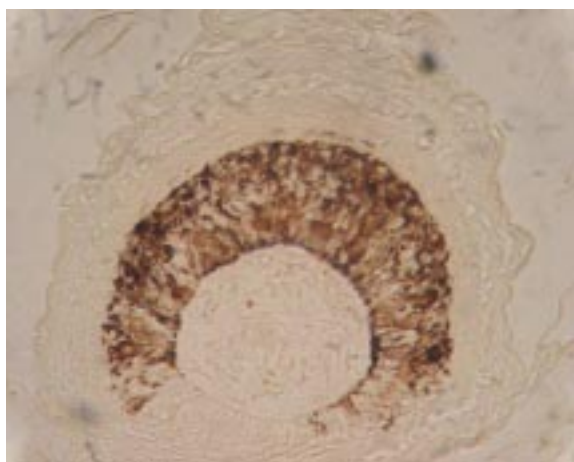


Рис.2. ФРЭ выявляется в клетках волосяной луковицы. Слабое окрашивание на ФРЭ в клетках волосяного сосочка. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРЭ. Увел. 200.

ных фолликулах в виде мелкой зернистости коричневого цвета (рис. 2). В клетках волосяного фолликула, расположенных центрально (т.е. дающих мозговое и корковое вещество волос), реакция несколько ниже, чем в периферических клетках, являющихся источником развития корневых влагалищ. В кутикуле волоса активность реакции достаточно интенсивная. По направлению к поверхности кожи интенсивность окрашивания быстро убывает и затем оно исчезает полностью. В наружном корневом влагалище продукт реакции либо полностью отсутствует на всех уровнях, либо выявляется в крайне незначительном количестве в единичных клетках. В клетках волосяного сосочка обнаруживается умеренное содержание продукта реакции. Такой же интенсивности реакция имеет место в фибробlastах “подушки”. В эпидермисе и соединительнотканых образованиях, а также в железах продукт реакции отсутствует.

ИЛ-1β в условиях нормы практически не выявляется. Лишь в отдельных волосяных фолликулах в области волосяной луковицы выявляются единичные клетки округлой формы, дающие слабое окрашивание на ИЛ-1β. В остальных фолликулах подобные клетки отсутствуют. Окрашивание отсутствует также в соединительнотканых клетках. В эпидермисе, а также в эпителиоцитах желез продукт реакции отсутствует (рис. 3).

ФРФ в условиях нормы обнаруживается в умеренном количестве в фибробlastах волосяного сосочка и “подушки”, а также во внутренних клетках матрицы. В дермальных клетках микроокружения ФРФ практически не выявляется (рис. 4).

При алопеции ФНО-α выявляется в измененных волосяных фолликулах в виде слабого или умеренного светло-коричневого гомогенного окрашивания. При этом невозможно связать окрашивание с какими-либо клетками. Окрашивание определяется на уровне волосяной луковицы и тех частей фолликула, которые расположены над ней. В более высоких отделах фолликула продукт реакции выявляется только в наружном корневом влагалище, а при приближении к эпидермису исчезает и в нем. В клетках мезенхимного про-

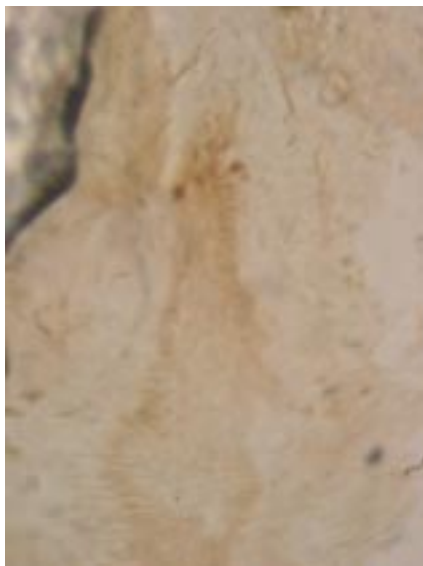


Рис. 3. Интерлейкин-1 β выявляется в виде слабого окрашивания в клетках волосной луковицы. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ИЛ-1 β . Увел. 200.

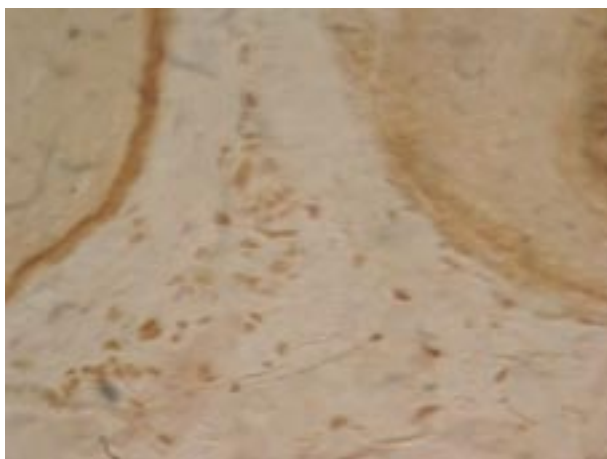


Рис. 4. Фактор роста фибробластов (ФРФ) выявляется во внутренних клетках матрицы фолликула и в фибробластах волосного сосочка. Непрямой иммуногистохимический метод с антителами против ФРФ. Увел. 400.

исхождения ФНО- α выявляется в значительно большей степени, чем в эктодермальных производных. Вблизи наружного корневого влагалища выявляются округлые либо отростчатые клетки, дающие умеренное окрашивание. Вокруг некоторых фолликулов интенсивность окрашивания клеток соединительной ткани может быть значительно выше. В данном случае продукт реакции выявляется в округлых мелких и более крупных клетках, ок-

ружающих волосную луковицу и имеющих морфологию и размеры соответственно лимфоцитов и макрофагов (рис. 5).

Окрашивание на ФРЭ интенсивное практически во всех клетках луковицы волосного фолликула. ФРЭ выявляется как в клетках боковых рогов луковицы, так и в клетках, расположенных над волосными сосочками (рис. 6). Окрашивание более интенсивное, чем в контроле. Кроме эпителиальных структур, продукт реакции обнаруживается и в клетках волосного сосочка, а также в клетках «подушки» сосочка. Внутреннее корневое влагалище дает очаговое окрашивание на ФРЭ. В наружном корневом влагалище ФРЭ выявляется в клетках овальной или слабоотростчатой формы, расположенных на разных уровнях от базальной мембраны.

ИЛ-1 β при гнездной алопеции в отличие от нормы выявляется в гораздо большем количестве клеток волосного фолликула и его микроокружения. ИЛ-1 β отчетливо, хотя и в небольших количествах, определяется в клетках наружного корневого влагалища. Незначительное, но достаточно отчетливое окрашивание определяется также в отдельных клет-

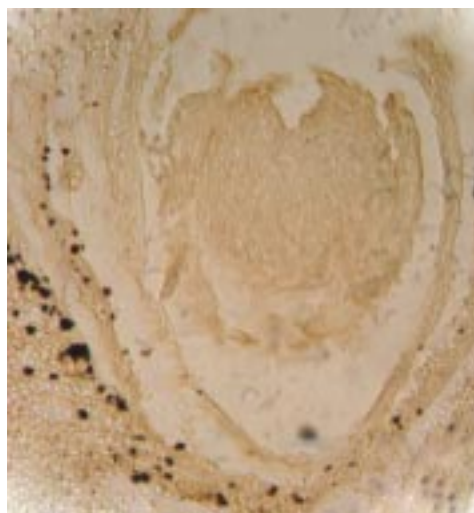


Рис. 5. Кожа волосистой части головы больного гнездной алопецией. Фактор некроза опухоли выявляется в большом количестве в лимфоцитах и макрофагах, образующих инфильтрат вокруг измененного волосного фолликула. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФНО- α . Увел. 200.

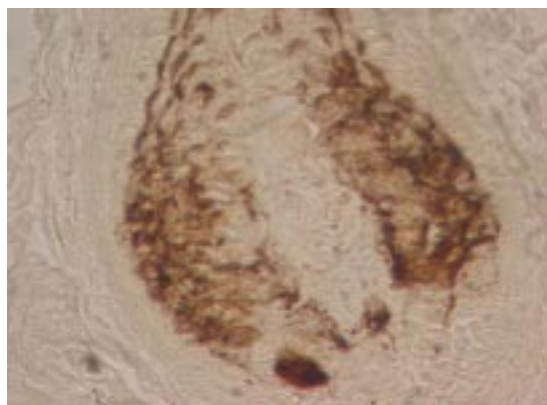


Рис. 6. Кожа волосистой части головы больного гнездовой алопечией. ФРЭ выявляется в клетках матрицы, волосяного сосочка и «подушки». Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРЭ. Увел. 400.



Рис. 8. Клетки волосяного фолликула и его микроокружения больного гнездовой алопечией, дающие положительное окрашивание на ФРФ. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРФ. Увел. 400.

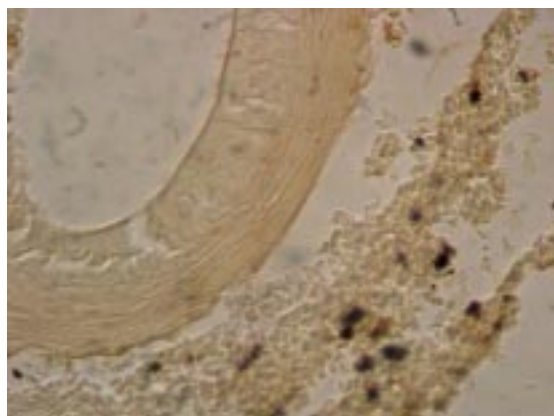


Рис. 7. Кожа волосистой части головы больного гнездовой алопечией. ИЛ-1β выявляется в мононуклеарных клетках, окружающих волосяные фолликулы. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ИЛ-1. Увел. 400.

ках внутреннего корневого влагалища, переходящее в фоновое, иногда исчезающее окрашивание. В волосяной луковице, подвергшейся деформации и дистрофическим изменениям, окрашивание наиболее интенсивное, причем отдельные клетки дают субмаксимальное окрашивание. В клетках соединительной ткани, окружающей измененные волосяные фолликулы, также определяется достаточно отчетливое специфическое окрашивание на ИЛ-1β (Рис. 7). Вокруг некоторых волосяных фолликулов и их луковиц определяются инфильтраты из клеток, дающих максимальную положительную реакцию на ИЛ-1β. Такие, похожие

на лимфоциты и макрофаги клетки, окрашиваются гомогенно в черный или черно-коричневый цвет.

ФРФ при гнездовой алопечии в значительном количестве выявляется в скоплениях клеток округлой формы, напоминающих клетки фибробластического ряда, которые располагаются вблизи измененных волосяных фолликулов. Вблизи их находятся структуры с фоновым окрашиванием, в ряде случаев напоминающие коллагеновые волокна. Они часто располагаются в непосредственной близости от измененных волосяных фолликулов (рис. 8). В области выражено измененных волосяных сосочков отмечаются скопления соединительнотканых клеток, дающих окрашивание на ФРФ в разной степени.

Заключение

Таким образом, в условиях нормы в структурах волосяных фолликулов и их микроокружения цитокины выявляются в относительно небольших количествах. Как ФНО-α, так и ИЛ-1β выявляются лишь в отдельных волосяных фолликулах и отдельных клетках. При этом в клетках микроокружения цитокины отсутствуют. Факторы роста присутствуют в относительно большем количестве, чем цитокины. Характерно, что ФРФ выявляется преимущественно в фибробластах волосяного сосочка и рядом расположенной соединительной

ткани, а ФРЭ виден в клетках эпителиального ряда. Характер распределения факторов роста и цитокинов в условиях нормы позволяет предположить, что ростовые факторы являются субстанциями постоянной секреции со стороны структур волосяного фолликула, которые могут участвовать в стимуляции постоянного деления эпителиоцитов и функционирования волосяного сосочка.

При алопеции наблюдается отклонение от нормального распределения ростовых факторов в структурах волосяного фолликула и его микроокружения. Окрашивание на ФРЭ интенсивное практически во всех клетках луковицы волосяного фолликула. Кроме эпителиальных структур, продукт реакции обнаруживается и в клетках волосяного сосочка, а также в клетках «подушки» сосочка. ФРФ в значительном количестве выявляется в скоплениях клеток округлой формы, напоминающих клетки фибробластического ряда, которые также располагаются в волосяном сосочке и вблизи измененных волосяных фолликулов. Особенно выраженные изменения наблюдаются в распределении цитокинов при гнездной алопеции. Общей характерной особенностью является более интенсивная окраска и широкое распространение в окружающей дерме. ФНО- α распространен так широко, что дает гомогенное окрашивание структур волосяного фолликула и дермы. В клетках мезенхимного происхождения ФНО- α выявляется в значительно большей степени, чем в эктодермальных производных. ИЛ-1 β при гнездной алопеции в отличие от нормы выявляется в гораздо большем количестве клеток волосяного фолликула и его микроокружения, а также в клетках соединительной ткани и в инфильтратах вокруг волосяного фолликула. Это позволяет выдвинуть предположение об общем изменении синтеза регуляторных молекул при гнездной алопеции. Увеличение синтеза цитокинов при гнездной алопеции мо-

жет приводить к нарушению нормальной пролиферации эпителиоцитов и преждевременному вступлению волоса в анаген. При этом одним из факторов патогенеза при алопеции может быть нарушение соотношения синтеза цитокинов и факторов роста.

Литература

1. Адаскевич, В.П. Гистопатология кожи при гнездной алопеции / В.П. Адаскевич, О.Д. Мяделец, И.В. Тихоновская // Алопеция / - М., 2000. - С. 128-147.
2. Иммуноморфологические исследования у больных очаговой алопецией. / В.П. Бухова, [и др.] // Вест. дерм. и венерол. - 1998. - №5. - С. 74-75.
3. Суворова, К.Н. Гнездная алопеция. Этиология и патогенез / К.Н. Суворова, А.Г. Гаджигороева // Вест. дерм. и венерол. - 1998. - №5. - ч.1. - С. 67-72.
4. Achmed, A. A. Immunohistochemical studies of proinflammatory cytokines and their receptors in hair follicles of normal human skin / A. A Achmed [et al.] // Acta. Derm. Venereol. - 1996. - №5. - P. 348-352.
5. Cytokines and growth factors influence hair growth in vitro. Possible implications for the pathogenesis and treatment of AA / R. Hoffmann [et al.] // Arch. Dermatol. Res. - 1996. - №3. - P. 153-156.
6. Immunohistochemical localisation of TGF- β in the skin of patients with alopecia areata / A. Offidani [et al.] // J. Eur. Acad. Dermat. - 1996. - №7. - P. 75-77.
7. Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumor necrosis factor on human hair follicle growth in vitro: a possible role for interleukin-1 and tumor necrosis factor- α in alopecia areata / M.P. Philpott [et al.] // Br. J. Dermatol. - 1996. - №6. - P. 942-948.
8. Human hair growth in vitro: a model for the study of hair follicle biology / M.P. Philpott [et al.] // J. Dermatol. Sci. - 1994. - №7. Suppl. - P. 55-72.
9. Tosti, A. What's new in hair research / A. Tosti // 11 European trichology forum abstracts. - 1997. - P. 17.
10. Analysis of apoptotic cell death in human hair follicles in vivo and in vitro / T. Soma [et al.] // J. Invest. Dermatol. - 1998. - №6. - P. 948-954.
11. Xiong, Y. Interleukin 1- β is differentially expressed by human dermal papilla cells in response to PKC activation and potent inhibitor of human hair follicle growth in organ culture / Y. Xiong, C. S. Harmon // J. Interferon Cytokine Res. - 1997. - №3. - P. 151-157.
12. Expression of transforming growth factors β isoforms and their receptors during hair growth in mice / U. Wollina [et al.] // Histol. Histopathol. - 1996. - №11. - P. 432-436.

Поступила 24.05.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

СТАНОВЛЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНЫХ NO-ЕРГИЧЕСКИХ СТРУКТУР В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ У МОРСКИХ СВИНОК

ДУНАЙ В.И.

*УО «Белорусский государственный университет»;
кафедра психофизиологии*

Резюме. Несмотря на обилие фактов, свидетельствующих об участии NO в регуляции различных физиологических функций, а также в развитии центральной нервной системы, становление центральных NO-ергических систем в онтогенезе остается совершенно не изученным.

Целью данной работы явилось изучение созревания NO-ергических систем мозга в раннем постнатальном онтогенезе у морских свинок как представителей зрелорождающихся млекопитающих.

Эксперименты выполнены на 32 морских свинках. Первая группа - животные в возрасте 1 дня, вторая группа - животные в возрасте 3 дней, третья группа - животные в возрасте 10 дней, четвертая группа - животные в возрасте 20 дней.

В работе использован метод идентификации НАДФН-д-содержащих нейронов, разработанный Scherer-Singler *et al* [9], в модификации Hope и Vincent [5].

Установлено, что у морских свинок к двадцатому дню постнатального развития формируются основные черты в распределении предполагаемых NO-синтезирующих нервных клеток, характерные для взрослого организма.

Ключевые слова: онтогенез, NO-синтез, гипоталамус.

Abstract. In spite of the facts abundance testifying to the participation of NO in the regulation of different physiological functions and in the development of central nervous system the formation of central NO-ergic systems in ontogenesis remains utterly unstudied.

The aim of this work is to investigate the maturation of NO-ergic systems of the brain in the early postnatal period in guinea-pigs as the representatives of maturely borne mammals.

Experiments were performed on 32 guinea-pigs. The first group included the animals at the age of 1 day, the second group – the animals at the age of 3 days, the third group – the animals at the age of 10 days, the fourth one – the animals at the age of 20 days.

The method of identification of NADPH-d-containing neurons, elaborated by Scherer – Singler *et al*, modified by Hope and Vincent was used.

It is determined that in guinea-pigs the main features in the distribution of supposed NO-synthesizing nervous cells characteristic of adult organism are formed by the 20th day of the postnatal development.

Данные литературы свидетельствуют, что NO-синтезирующие нейроны широко распространены в ЦНС млекопитающих [2]. Доказано также участие NO в регуляции различных физиологических функций

[1, 6]. Имеются предположения о том, что NO может являться одним из важнейших факторов, участвующих в развитии структуры и функции центральной нервной системы, являясь молекулой, вызывающей гибель определенных клеточных структур, а также играя важную роль в механизмах роста нервных окончаний и формирования синапсов [4]. Получены доказательства участия NO в центральных ме-

Адрес для корреспонденции: г. Минск, пр-т Рокоссовского, д. 17, кв.154, р.тел. 209-58-65, e-mail dunay_wal@bk.ru - Дунай В.И.

ханизмах терморегуляции при перегревании и экспериментальной лихорадке [3].

Несмотря на обилие фактов, свидетельствующих об участии NO в регуляции различных физиологических функций, а также в развитии центральной нервной системы, становление центральных NO-ергических систем в онтогенезе остается совершенно не изученным.

Целью данной работы явилось изучение созревания NO-ергических систем мозга в раннем постнатальном онтогенезе у морских свинок как представителей зрелорождающихся млекопитающих.

Методы

Эксперименты выполнены на 32 морских свинках. Первая группа - животные в возрасте 1 дня, вторая группа - животные в возрасте 3 дней, третья группа - животные в возрасте 10 дней, четвертая группа - животные в возрасте 20 дней.

Специальными исследованиями было убедительно доказано, что нейронная синтаза NO (CNO) является никотинамидадениндинуклеотидфосфат-диафоразой [8]. Во-первых, локализация в центральной и периферической нервной системе НАДФН-д-содержащих нейронов, окрашенных гистохимически, соответствует локализации нервных клеток, содержащих CNO, окрашенных с применением методов иммуногистохимии. Во-вторых, CNO и НАДФН-д обнаруживают сходные иммунохимические и биохимические свойства. В-третьих, НАДФН-д активность выявляется *de novo* у клеток с трансформированной кДНК к CNO. Использование гистохимической реакции на НАДФН-д для идентификации CNO-содержащих нейронов возможно только при условии, что исследуемая ткань проходит фиксацию в параформальдегиде. Установлено [8], что при фиксации с использованием параформальдегида инактивируются все НАДФН-зависимые ферменты-окислители, за исключением CNO. Таким образом, при условии фиксации ткани в параформальдегиде, использование гистохимической реакции на НАДФН-д для идентификации NO-синтезирующих нервных клеток является адек-

ватным методом и широко используется в настоящее время.

В работе использован метод идентификации НАДФН-д-содержащих нейронов, разработанный Scherer-Singler *et al* [9], в модификации Hope и Vincent [5].

Для выделения гипоталамуса у животных целиком извлекали головной мозг. Отделяли гипоталамус и продолговатый мозг и дополнительно фиксировали согласно рекомендации Matsumoto *et al*. [7] 90 минут в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере (0,1М, pH7.4). Участки мозга шесть раз по 30 мин. отмывали на холоде с использованием 0,1 М раствора Трис-НСl (pH 8,0) и инкубировали в 10% и 25% растворах сахарозы на Трис-НСl (0,1М, pH8,0) в течение 1,5 и 12 часов соответственно.

Объекты помещали на охлажденные металлические блоки, которые ставили в криостат (-25°C) на 20 минут для замораживания. Из замороженной ткани готовили серийные срезы толщиной 25 мкм, которые наклеивали на предметные стекла, предварительно подвергшиеся хром-желатиновой обработке, и высушивали.

Срезы отмывали от сахарозы в 0,1 М растворе Трис-НСl (pH 8,0) в течение 5 мин. Гистохимическая процедура заключалась в инкубации срезов в растворе 0,1 М Трис-НСl (pH 8,0), содержащем НАДФН (1 мМ), нитросиний тетразолий (0,5 мМ), Тритон X-100 (0,3%) и дикумарол (0,1мМ) на протяжении 1-2 ч. при 22°C и относительной влажности 95-100%. По окончании гистохимической реакции срезы промывали в растворе Трис-НСl в течение 5 минут, обезвоживали в этаноле, заключали в канадский бальзам и накрывали покровными стеклами.

Специфичность гистохимической реакции проверялась инкубацией нескольких срезов в растворах, не содержащих нитросиний тетразолий или НАДФН, а также в растворе, содержащем НАДФ вместо НАДФН. Химическая основа реакции заключается в образовании преципитата формаза при восстановлении солей тетразолия НАДФН-диафоразой (CNO) в присутствии НАДФН. Таким образом, гистохимическая реакция не должна на-

блюдаться в случае отсутствия в инкубационной среде любого из основных компонентов (нитросиний тетразолий, НАДФН), а также в случае использования НАДФ вместо НАДФН.

Результаты и обсуждение

Опыты показали, что у морских свинок в первые дни после рождения в гипоталамической области происходят значительные изменения в распределении нервных клеток, содержащих НАДФН-диафорузу/NOC (Табл.).

При изучении серийных срезов гипоталамуса морских свинок в возрасте одного дня после рождения обнаружены НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны в латеральной преоптической области, паравентрикулярном ядре, латеральной гипоталамической области и в супрамаммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте одного дня после рождения не обнаружены НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны в ряде структур гипоталамуса, содержащих такие нейроны у взрослых животных. Так, не обнаружены НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны в медиальной преоптической области, супраоптическом ядре, перивентрикулярном ядре и медиальном маммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте трех дней после рождения так же, как и у однодневных морских свинок, гипоталамус не содержит НАДФН-д/CNO – позитивных нейронов в супраоптическом ядре и перивентрикулярном ядре.

Гипоталамическая область трехдневных

морских свинок содержит НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны в тех же структурах, что и у однодневных (в латеральной преоптической области, паравентрикулярном ядре, латеральной гипоталамической области и в супрамаммилярном ядре). А также НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны обнаружены в медиальной преоптической области и медиальном маммилярном ядре.

В период между третьим и десятым днем формируются основные черты в распределении НАДФН-д/CNO – позитивных нейронов гипоталамической области, характерные для взрослого организма.

Так, у десятидневных морских свинок выявляются НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны почти во всех структурах гипоталамуса, содержащих такие нервные клетки у взрослых животных. В отличие от третьего дня, к 10-му дню развития НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны появляются в перивентрикулярном ядре. Обнаружено, что гипоталамус десятидневного животного не содержит НАДФН-д/CNO – позитивных клеток в супраоптическом ядре.

Крупные, интенсивно окрашенные НАДФН-д/CNO – позитивные нейроны появляются в супраоптическом ядре в период между десятым и двадцатым днем после рождения. Таким образом, не существует различий в распределении НАДФН-д/CNO – позитивных нейронов в гипоталамусе 20-дневного животного по сравнению с взрослыми животными. Полученные данные свидетельству-

Таблица

Распределение нервных клеток, содержащих НАДФН-диафорузу/ NOC, в структурах гипоталамуса у морских свинок в разные сроки постнатального онтогенеза

№ п/п	Структура	1 день	3 день	10 день	20 день
1.	Medial preoptic area	-	+	+	+
2.	Lateral preoptic area	+	+	+	+
3.	Supraoptic nucleus	-	-	-	+
4.	Paraventricular nucleus	+	+	+	+
5.	Periventricular nucleus	-	-	+	+
6.	Lateral hypothalamic area	+	+	+	+
7.	Medial mammillary nucleus	-	+	+	+
8.	Supramammillary nucleus	+	+	+	+

"+" - структура содержит НАДФН-диафорузу/NOC-позитивные нервные клетки;

"-" - структура не содержит НАДФН-диафорузу/NOC-позитивные нервные клетки.

ют о том, что, по-видимому, между десятым и двадцатым днем после рождения происходит окончательное структурное формирование NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса морских свинок.

При изучении серийных срезов продолговатого мозга, окрашенных на НАДФН-д, у морских свинок, в разные сроки после рождения, НАДФН-д/CNO – позитивные нервные клетки обнаружены во всех изучаемых структурах.

По-видимому, еще до рождения завершается формирование NO-зависимых систем нервных центров продолговатого мозга, структурное и функциональное развитие должно обеспечивать в первые дни жизни важнейшие вегетативные функции (дыхание, кровообращение).

Заключение

Предпосылкой к постановке задач настоящего исследования служили развиваемые представления о том, что NO, синтезируемый нервными клетками, может участвовать в развитии структуры и функции ЦНС, являясь эффекторной молекулой, вызывающей гибель определенных клеточных структур, а также играя важную роль в механизмах роста нервных окончаний и формирования синаптических контактов.

Установлено, что в первые дни после рождения у морских свинок в гипоталамической области происходят значительные изменения в распределении НАДФН-д/CNO – позитивных нервных клеток. Так, между третьим и десятым днем постнатального развития формируются основные черты в распределении предполагаемых NO-синтезирующих нервных клеток, характерные для взрослого организма, а между десятым и двадцатым днем, по-видимому, происходит окончательное структурное формирование NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса морских свинок.

Можно предполагать, что становление NO-зависимых систем в гипоталамусе у морских свинок, по-видимому, играет важную роль в развитии системы терморегуляции,

поскольку полученные результаты хорошо коррелируют с данными о том, что температура тела животных, которым в раннем онтогенезе ингибировали CNO, достигала значений, характерных для контрольных животных, лишь к 20-му дню постнатального онтогенеза.

Таким образом, есть основания предположить, что начальное становление системы терморегуляции в процессе индивидуального развития млекопитающих может быть связано с развитием NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса.

Литература

1. Amir, S. N^G-Monomethyl-L-arginine co-injection attenuates the thermogenic and hyperthermic effects of E₂ prostaglandin microinjection into the anterior hypothalamic preoptic area in rats / S. Amir, E. De Blasi, A. M. English // *Brain Res.* – 1991. – Vol. 556. – P. 157–160.
2. Dawson, T. M. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues / T. M. Dawson, P. M. Hwang, S. Snyder // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1991. – Vol. 88, N 17. – P. 7797–7801.
3. Dunai, V. I. Effect of the NO synthase inhibitor, L-NAME, on body temperature in birds in different periods of postnatal ontogenesis / V. I. Dunai, A. V. Gourine // *Recent advances in thermal biology* / ed. V. N. Gourine. – Minsk, 1999. – P. 18–19.
4. Gourine, A. V. Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced fever in conscious rabbits / A. V. Gourine // *J. Physiol.* – 1994. – Vol. 475. – P. 28.
5. Hope, B. T. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase / B. T. Hope, S. R. Vincent // *J. Histochem. Cytochem.* – 1989. – Vol. 37. – P. 653–661.
6. Kapas, L. Inhibition of nitric oxide synthesis suppresses sleep in rabbits / L. Kapas, M. Shibata, J. M. Krueger // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 266. – P. 151–157.
7. Matsumoto, T. A correlation between soluble brain nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase activity is only seen after exposure of the tissue to fixative / T. Matsumoto, J. E. Kuk, U. Forstermann // *Neurosci. Lett.* – 1993. – Vol. 155, N 1. – P. 61–64.
8. Pasqualotto, B. A. Citrulline in the rat brain - immunohistochemistry and coexistence with NADPH-diaphorase / B. A. Pasqualotto, B. T. Hope, S. R. Vincent // *Neurosci. Lett.* – 1991. – Vol. 128, N 2. – P. 155–160.
9. Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry / U. Scherer-Singler [et al.] // *J. Neurosci. Methods.* – 1983. – Vol. 9, N 3. – P. 229–234.

Поступила 27.04.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

АДАПТАЦИЯ К КОРОТКИМ СТРЕССОРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ ПРЕДУПРЕЖДАЕТ ПОСТСТРЕССОРНОЕ НАРУШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ К АКТИВАТОРАМ K_{ATP} -КАНАЛОВ

ЛАЗУКО С.С., СОЛОДКОВ А.П.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Целью исследования было изучить влияние адаптации к коротким стрессорным воздействиям на характер постстрессорного изменения ответной реакции коронарных сосудов на прямой активатор K_{ATP} -каналов пинацидил и эндогенный активатор пуриnergических рецепторов аденозин.

Опыты были проведены на не совершавших внешнюю работу изолированных сердцах 120 крыс – самок, ретроградно перфузируемых раствором Кребса – Хензелейта, насыщенным карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2) при температуре 37°C поступающим к сердцу под давлением 80 мм рт.ст. Пинацидил (15×10^{-8} – 6×10^{-5} М) и аденозин ($0,31 \times 10^{-9}$ – $1,9 \times 10^{-5}$ М) вводили интракоронарно при помощи шприцевого насоса ДШ-2. После перенесенного иммобилизационного стресса коронародилататорное действие пинацидила уменьшалось, однако в условиях блокады синтеза NO усиливалось. Кроме того, стресс снижал эффективность действия аденозина и чувствительность к нему гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Кроме того, возникала выраженная постстрессорная зависимость силы коронародилататорного эффекта аденозина от NO. Адаптация эффективно предупреждала постстрессорное угнетение коронародилататорной активности пинацидила и восстанавливала модулирующий эффект NO при действии аденозина. Таким образом, адаптация к коротким стрессорным воздействиям эффективно предупреждала постстрессорное снижение активности K_{ATP} -каналов – основных мишеней действия пинацидила и аденозина.

Ключевые слова: адаптация, коронарные сосуды, аденозин, пинацидил, K_{ATP} -каналы, стресс.

Abstract. The aim of this investigation was to study the effect of adaptation to short-term stress influences on the character of post-stress changes in the response reaction of coronary vessels to direct activator of K_{ATP} -channels - pinacidil and that of purine receptors - adenosine.

The experiments were conducted on isolated non-working hearts of 120 female rats retrogradely perfused by Krebs-Henseleit solution saturated with carbogen (95% O_2 and 5% CO_2) at temperature +37°C passing to the heart under the pressure 80 mm Hg. Pinacidil (15×10^{-8} – 6×10^{-5} M) and adenosine ($0,31 \times 10^{-9}$ – $1,9 \times 10^{-5}$ M) were injected intracoronarily by means of syringe pump DSH -2. After immobilization stress coronary dilatation effect of pinacidil decreased but under conditions of NO synthesis blockade it increased. Moreover stress reduced the efficiency of adenosine influence and sensitivity of smooth muscle cells of coronary vessels to adenosine. Furthermore, the marked post-stress dependence of coronary dilatation effect power of adenosine on NO developed. Adaptation effectively prevented post-stress inhibition of coronary dilatation activity of pinacidil and restored NO modulating effect under adenosine influence. Thus adaptation to short-term stress exposure effectively prevented post-stress reduction of K_{ATP} -channels activity – the main targets of pinacidil and adenosine influence.

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра нормальной физиологии. - Лазуко С.С.

Активация K_{ATF} -каналов мембран гладкомышечных клеток приводит к их гиперполяризации, которая сопровождается вазорелаксацией [5]. Оказывая влияние на мембранный потенциал клеток сосудистой стенки, K_{ATF} -каналы обеспечивают взаимосвязь интенсивности клеточного метаболизма с тонусом сосудов. Данные каналы принимают участие в регуляции базального сосудистого тонуса, возникновении реактивной гиперемии, расширении сосудов и гипоксической вазодилатации, вызываемой аденозином. Однако еще мало внимания уделяется изучению изменений их активности при различных состояниях организма, в том числе и при стрессе.

Установлено, что, если в сосудах, находящихся под давлением, заблокировать K_{ATF} -каналы глибенкламидом, наблюдается вазоконстрикция. Ее причиной считается некомпенсированное проявление миогенного сокращения гладкомышечных клеток, величина которого определяется, как процент снижения коронарного кровотока и зависит от интенсивности существующей в данный момент функциональной активности калиевых каналов. Показано, что после длительного иммобилизационного стресса независимо от присутствия эндотелия наблюдается менее выраженное, чем в контроле, вызываемое глибенкламидом снижение величины реактивногиперемического коронарного кровотока [3]. Данный факт был расценен как проявление постстрессорного снижения функциональной активности K_{ATF} -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Подобное явление наблюдается и при адаптации крыс к коротким стрессорным воздействиям, эффективно ограничивающей влияние длительного стресса на сократительную активность миокарда и коронарных сосудов. Однако при этом состоянии повреждение эндотелия приводит не к снижению, как при стрессе, а к повышению функциональной активности K_{ATF} -каналов гладкомышечных клеток [2]. Тем самым обнаруживается факт адаптивного усиления роли K_{ATF} -каналов как механизма, имеющего своей целью сдерживание сократительной реакции гладкомышечных клеток.

Однако данные предположения требуют дальнейшей проверки. В частности, неизвестно, как под влиянием стресса и адаптации к нему изменяется ответная реакция коронарных сосудов на прямой активатор K_{ATF} -каналов пинацидил, а также эндогенный активатор пуринаргических рецепторов аденозин, вызывающий K_{ATF} -каналов и расширение коронарных сосудов.

Целью работы было изучить влияние адаптации к коротким стрессорным воздействиям на характер постстрессорного изменения ответной реакции коронарных сосудов на прямой активатор K_{ATF} -каналов пинацидил и эндогенный активатор пуринаргических рецепторов аденозин.

Методы

Опыты были проведены на не совершавших внешнюю работу изолированных сердцах 120 крыс – самок, ретроградно перфузированных раствором Кребса – Хензеляйта, насыщенным карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2) при температуре 37°C поступавшим к сердцу под давлением 80 мм рт.ст.

Пинацидил (15×10^{-8} – 6×10^{-5} М) и аденозин ($0,31 \times 10^{-9}$ – $1,9 \times 10^{-5}$ М) вводили интракоронарно при помощи шприцевого насоса ДШ-2 в объеме от 0,025 до 0,1 мл со скоростью 0,3–0,6 мл/мин в течение 10 сек. Концентрацию препаратов в перфузионном растворе рассчитывали по формуле: скорость инфузии (мл $\times$ мин⁻¹)/объемную скорость коронарного потока (мл $\times$ мин⁻¹) $\times$ концентрацию вещества в инфузионном растворе (М).

Объемную скорость коронарного потока определяли при помощи электромагнитного флоуметра EFM (HSE Harvard apparatus, Германия), датчик которого находился вблизи аортальной канюли. Ответную реакцию оценивали по приросту количества перфузионной жидкости (мл), прошедшей через русло коронарных сосудов за время их реакции, развивавшейся в ответ на введение одного из двух используемых веществ. Данный прирост находили путем определения площади под кривой объемной скорости коронарного потока, образующейся за время дилататорной реак-

ции. О чувствительности сосудов сердца судили по величине EC_{50} , представляющей собой логарифм концентрации исследуемого вещества, вызывающий 50% ответную реакцию коронарных сосудов. EC_{50} определяли при помощи программы GraphPad Prism 4.0.

Животные были разделены на четыре группы: 1-ую – контрольную, 2-ую группу составили животные, перенесшие стресс, 3-ю – адаптированные крысы, и в 4-ую группу вошли животные, перенесшие стресс после адаптации. Адаптацию к коротким стрессорным воздействиям проводили по следующей схеме: крысу, помещенную в пластиковый пенал, погружали в воду температурой 22-23°C в первый день на 5 минут, во второй на 10 минут, в третий на 15 минут. После двухдневного перерыва процедуру повторяли вновь по той же схеме. Затем через сутки животных брали в эксперимент [1]. Стресс вызывали фиксацией крыс на спине в течение 6 часов. После чего их освобождали и на 90 минут помещали в клетку.

Цифровой материал был обработан методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента программы GraphPad Prism 4.0 (San Diego, California, USA) и Статистика 6.0.

Результаты и обсуждение

Пинацидил. Исходная величина объемной скорости коронарного потока при перфузионном давлении 80 мм рт.ст. во всех исследуемых группах не различалась и находилась в пределах 8,0-12,0 мл/мин. Интракоронарное введение пинацидила в контрольной и других группах животных сопровождалось в разной степени выраженным дозозависимым увеличением объемной скорости коронарного потока и, особенно, продолжительностью дилататорной реакции.

Блокада K_{ATP} -каналов глибенкламидом устраняла вызываемое пинацидилом расширение коронарных сосудов (рис. 1). Однако данный эффект глибенкламида наблюдался только при введении пинацидила в концентрации от $15,0 \times 10^{-8}$ до $6,0 \times 10^{-5}$ М. При более высоких концентрациях увеличение коронарного потока в ответ на пинацидил происходило независимо от присутствия блокатора K_{ATP} -каналов. Это согласуется с описанным ранее фактом [7] о том, что благодаря активации K_{ATP} -каналов пинацидил расширяет сосуды сердца только в концентрации до 10^{-6} М. При

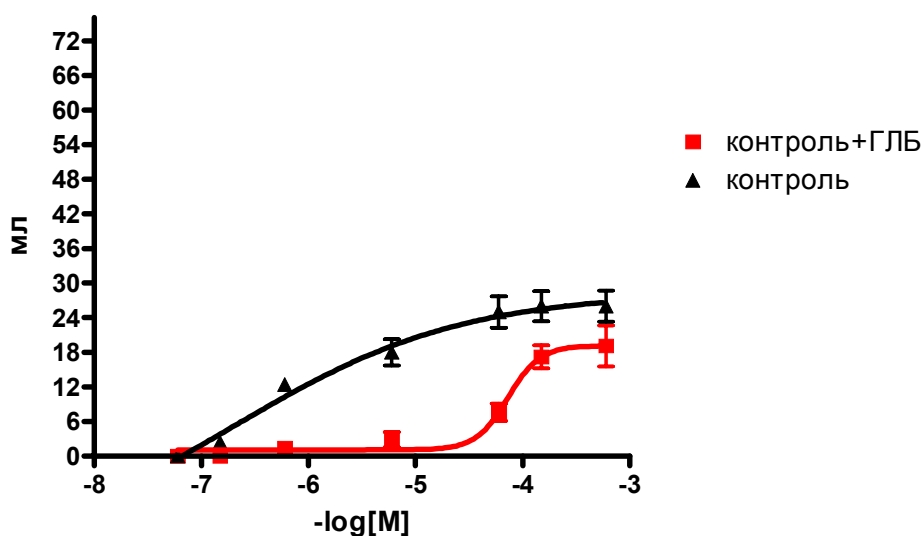


Рис.1. Влияние блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида на величину коронародилататорного эффекта пинацидила. По оси абсцисс $-\log$ концентрации пинацидила (М), по оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей за время реакции в ответ на введение в коронарные сосуды пинацидила в мл.

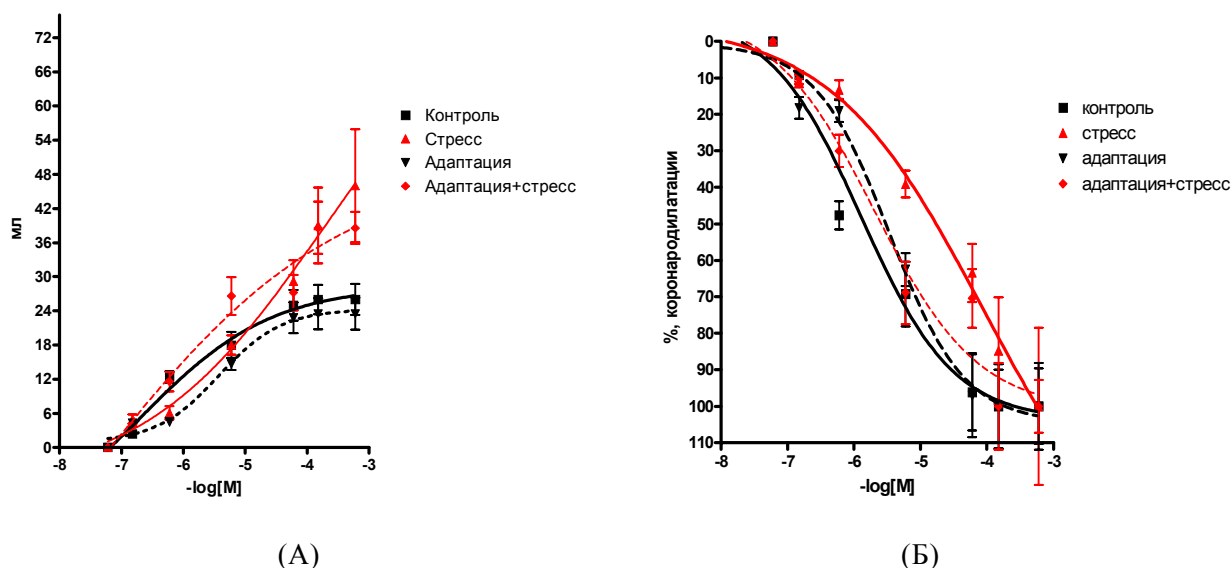


Рис.2. (А) Влияние возрастающих доз пинацидила на величину коронарного потока. (Б) K_{ATP} -зависимое увеличение коронарного потока, вызываемое пинацидилом, выраженное в процентах. По оси абсцисс – $\log$ концентрации пинацидила, М. По оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей через коронарные сосуды за время реакции в ответ на интракоронарное введение возрастающих доз пинацидила, мл (А), процент прироста перфузионной жидкости, прошедшей за время коронародилататорной реакции, развившейся в ответ на введение в коронарные сосуды пинацидила (Б).

больших же концентрациях его коронарорасширяющий эффект опосредован другими, пока еще не ясными механизмами, и не связан с изменением активности данных каналов. В связи с этим в нашем исследовании дилатация коронарных сосудов, опосредуемая открытием K_{ATP} -каналов, наблюдалась при действии пинацидила в концентрации от $15,0 \times 10^{-8}$ до $6,0 \times 10^{-5}$ М.

В группе животных, перенесших стресс, прирост количества перфузионной жидкости, прошедшей через коронарное русло под влиянием $6,0 \times 10^{-7}$ М пинацидила, оказался на 51% меньше по сравнению с контролем (рис. 2 А). Напротив, пинацидил в дозе 6×10^{-6} – 6×10^{-5} М действовал так же, как в контроле, а при $6,0 \times 10^{-4}$ М коронародилататорная реакция увеличивалась на 77%, по сравнению с контролем. В сердце стрессированных крыс концентрация пинацидила, вызывающая 50%-ную ответную реакцию (EC_{50}), значительно возросла и составляла 84.65 мкМ (95%CI $37,54$ – $190,90 \times 10^{-6}$ М, против контроля $EC_{50} = 1,2$ мкМ, 95%CI $0,87$ – $1,74 \times 10^{-6}$ М, $p < 0.02$), что свидетельствовало о стрессиндуцированном сни-

жении чувствительности рецепторной единицы K_{ATP} -каналов к прямому ее активатору, сопровождающемуся уменьшением силы дилататорного эффекта пинацидила.

Ответ коронарных сосудов на пинацидил (рис. 2 Б) и чувствительность к нему (EC_{50} 3,42 мкМ, 95%CI $2,89$ – $4,05 \times 10^{-6}$ М, $p = 0.23$) у адаптированных крыс не отличались от контроля. В то же время, адаптация полностью предупредила постстрессорное снижение вазодилататорного ответа и чувствительности коронарных сосудов к пинацидилу (EC_{50} 2,04 мкМ, 95%CI $1,26$ – $3,31 \times 10^{-6}$ М, $p = 0.66$).

В связи с тем, что K_{ATP} -каналы гладкомышечных клеток находятся под влиянием вазоактивных метаболитов эндотелиального происхождения, в частности NO, образование которого значительно возрастает при стрессе [4], на следующем этапе в изолированных сердцах крыс, перенесших стресс до и после адаптации, изучали изменение величины коронародилататорного эффекта пинацидила в условиях блокады синтеза монооксида азота.

После блокады синтеза NO в контрольных сердцах исходная величина объем-

ной скорости коронарного потока снижалась на 47%, но во всех исследуемых группах не различалась и находилась в пределах 4,0-7,6 мл/мин. Максимальный коронарный поток, наблюдавшийся в ответ на введение одних и тех же доз пинацидила, а также продолжительность дилататорной реакции под влиянием L-NAME не изменялись, по сравнению с изолированными сердцами, не обработанными блокатором синтеза NO. Однако в условиях ингибирования синтеза NO прирост количества перфузионной жидкости, прошедшей за время

коронародилататорной реакции, увеличился на 35-74% (рис. 3 А), что было связано со снижением исходного коронарного кровотока.

Кривая доза-эффект для пинацидила сдвигалась вправо с соответствующим увеличением EC_{50} (с $EC_{50}=1,2\text{мкМ}$ до $EC_{50}=20,1\times10^{-6}\text{М}$, рис. 3 Б, табл. 1). Следовательно, базальное высвобождение монооксида азота через ц-ГМФ-зависимый внутриклеточный механизм угнетает функциональную активность K_{ATP} -каналов, модулируя дилататорную активность пинацидила. В условиях же блокады синтеза

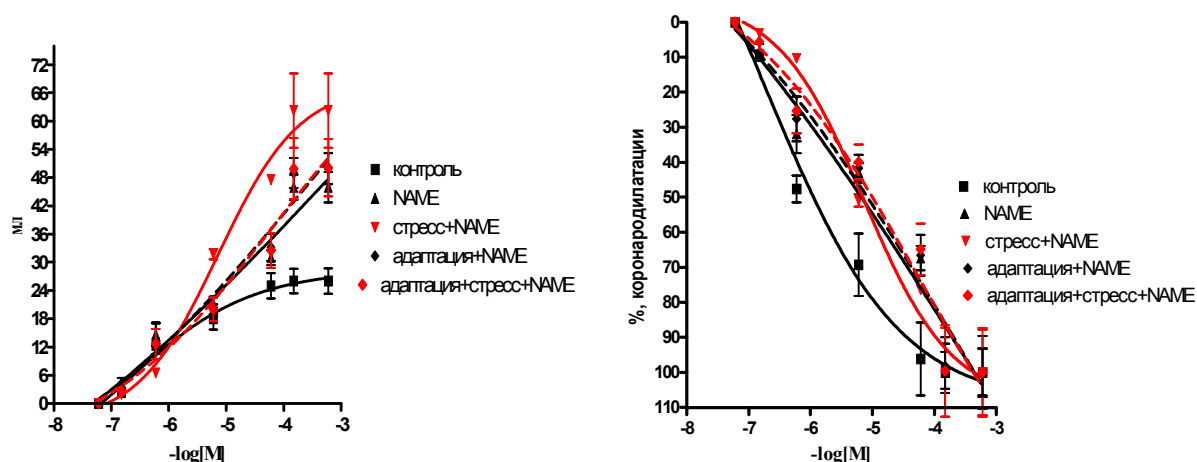


Рис.3. (А) Влияние возрастающих доз пинацидила на величину коронарного потока в условиях блокады синтеза монооксида азота. (Б) K_{ATP} -зависимое увеличение коронарного потока, вызываемое пинацидилом, выраженное в процентах, на фоне блокады синтеза монооксида азота.

По оси абсцисс – $\log$ концентрации пинацидила, М. По оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей через коронарные сосуды за время реакции в ответ на интракоронарное введение возрастающих доз пинацидила, мл (А), процент прироста перфузионной жидкости, прошедшей за время коронародилататорной реакции, развившейся в ответ на введение в коронарные сосуды пинацидила (Б).

Таблица 1

Влияние адаптации к коротким стрессорным воздействиям на постстрессорные изменения чувствительности коронарных сосудов к пинацидилу

Группа животных	Вещества, добавляемые в перфузионный раствор	EC_{50} , (М)	CI 95% EC_{50} , (М)
Контроль (пинацидил)	без L-NAME (n=8)	$1,23\times10^{-6}$	$0,87-1,74\times10^{-6}$
	с L-NAME (n=7)	$20,1\times10^{-6}*^{\wedge}$	$6,5-61,9\times10^{-6}$
Стресс 6 ч	без L-NAME (n=6)	$84,65\times10^{-6}^{\wedge}$	$37,54-190,9\times10^{-6}$
	с L-NAME (n=6)	$7,79\times10^{-6}*^{\wedge}$	$5,24-11,67\times10^{-6}$
Адаптация	без L-NAME (n=8)	$3,42\times10^{-6}$	$2,89-4,05\times10^{-6}$
	с L-NAME (n=8)	$34,8\times10^{-6}*^{\wedge}$	$8,41-144,4\times10^{-6}$
Адаптация+стресс 6 ч	без L-NAME (n=8)	$2,04\times10^{-6}$	$1,26-3,31\times10^{-6}$
	с L-NAME (n=8)	$8,25\times10^{-6}*^{\wedge}$	$2,76-24,7\times10^{-6}$

Примечание: *- $p<0,05$ по сравнению с той же группой с интактной системой синтеза монооксида азота; $^{\wedge}$ - $p<0,05$ по сравнению с группой контроль без L-NAME; n-количество животных в группе

NO даже незначительные концентрации пинацидила вызывают выраженную дилататорную реакцию, обусловленную более быстрым и легким расслаблением гладкомышечных клеток.

В группе животных перенесших стресс, реакция коронарных сосудов на введение пинацидила в концентрации от $15,0 \times 10^{-8}$ до $6,0 \times 10^{-7}$ М в условиях блокады синтеза NO не отличалась от сердец той же группы с сохраненной системой синтеза монооксида азота, но оставалась сниженной на 51% по сравнению с интактными контрольными сердцами. При повышении доз пинацидила от $6,0 \times 10^{-6}$ до $6,0 \times 10^{-4}$ М наблюдалось усиление коронародилататорного эффекта активатора K_{ATP} -каналов в среднем на 58% по сравнению с сердцами стрессированных крыс и в 1,2 раза - с контрольными сердцами, не обработанными L-NAME (рис. 3 А). В сердцах стрессированных животных на фоне блокады синтеза монооксида азота EC_{50} снижалась в 9,2 раза и составляла 7,79 мкМ (табл. 1) по сравнению с сердцами животными перенесшими стресс в коронарное русло которых не вводили L-NAME. Однако это значение EC_{50} было достоверно выше, чем в контрольной группе ($EC_{50}=1,2$ мкМ) (рис. 3 Б). Следовательно, блокада NO существенно ограничила, но полностью не предупредила постстрессорное снижение чувствительности K_{ATP} -каналов к пинацидилу, свидетельствуя о том, что не только монооксид азота, но, по-видимому, и другие патогенетические факторы стрессорных повреждений имеют значение в нарушении функциональной активности K_{ATP} -каналов.

После введения L-NAME коронарорасширяющее действие пинацидила в группе адаптированных крыс усиливалось в среднем на 97% по сравнению с его влиянием на сердца животных этой же группы, но с интактной системой синтеза NO ($6,0 \times 10^{-7}$ - $6,0 \times 10^{-4}$ М) и не отличалось от дилатации, вызываемой пинацидилом, введенным в коронарные сосуды ($6,0 \times 10^{-7}$ - $6,0 \times 10^{-6}$ М) контрольной группы, не обработанной L-NAME (рис. 3 А). Однако на фоне L-NAME чувствительность к пинацидилу у адаптированных крыс снижалась и не отличалась от контроля (рис. 3 Б, табл. 1),

что свидетельствует о восстановлении характерного для контроля модулирующего влияния NO на чувствительность рецепторной единицы K_{ATP} -канала к пинацидилу.

В изолированных сердцах адаптированных крыс, перенесших стресс, блокада синтеза NO не оказала влияние на дилататорный эффект пинацидила. Исключение составили высокие дозы (с $15,0 \times 10^{-5}$ до $6,0 \times 10^{-4}$ М), при которых прирост перфузионной жидкости, прошедшей через коронарное русло за время ответной реакции на пинацидил, увеличился на 34% (рис. 3 А). Чувствительность коронарных сосудов адаптированных крыс к пинацидилу в условиях блокады синтеза NO, как и в других группах, снижалась, но не в такой степени, как в контрольных сердцах с интактной системой NO (табл. 1). Таким образом, адаптация существенно ограничивала постстрессорное снижение чувствительности K_{ATP} -канала к пинацидилу и восстанавливала роль NO как модулятора его функциональной активности.

Аденозин. Исходная величина объемной скорости коронарного потока во всех исследуемых группах не различалась и находилась в пределах 8,5-9,9 мл/мин. Введение аденозина в возрастающих концентрациях в коронарное русло изолированного сердца всех групп крыс сопровождалось увеличением как объемной скорости коронарного потока, так и продолжительности времени дилататорной реакции, вызываемой им. В отличие от пинацидила, при действии которого увеличение коронарного потока продолжалось минуты, коронародилатация, вызываемая аденозином, была кратковременной и заканчивалась, как правило, в течение первых 60 секунд после его введения. Глибенкламид, добавленный в перфузионный раствор, эффективно предупреждал вызываемую аденозином коронародилатацию (рис. 4). Важно отметить, что глибенкламид ингибировал действие аденозина, вводимого интракоронарно в концентрации от $1,26 \times 10^{-9}$ до $3,4 \times 10^{-7}$ М. При более высоких дозах аденозина (от $4,6 \times 10^{-7}$ до $3,7 \times 10^{-6}$ М) глибенкламид не полностью устранял его дилататорный эффект и наблюдалось незначительное повышение объемной скорости коронарного потока.

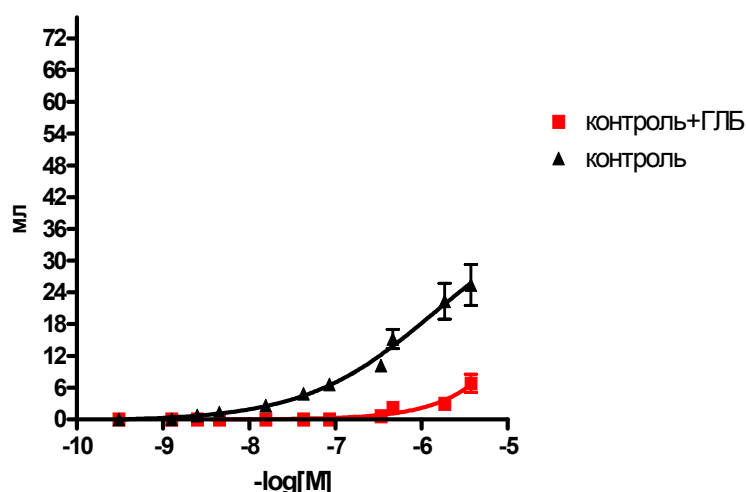


Рис.4. Влияние блокатора K_{ATF} -каналов глибенкламида на величину коронародилататорного эффекта аденозина. По оси абсцисс $-\log$ концентрации пинацидила (М), по оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей за время реакции в ответ на введение в коронарные сосуды аденозина в мл.

Известно, что эндотелий функционирует как метаболический барьер для аденозина [6]. Только в концентрациях, превышающих или равных $10^{-6}M$, аденозин может проникать через эндотелиальный барьер и воздействовать на гладкомышечные клетки сосудистой стенки. Это дает основание полагать, что коронародилататорное влияние аденозина, вводимого в дозах от 0.31 до 340 нМ, реализуется при обязательном участии K_{ATF} -каналов, наиболее вероятно, расположенных на эндотелиоцитах коронарных сосудов. Следовательно, коронародилататорный эффект высоких его концентраций, по-видимому, связан с взаимодействием аденозина с рецепторами, расположенными не только на эндотелиоцитах, но и на гладкомышечных клетках, и лишь частично был обусловлен активностью данных каналов.

После перенесенного иммобилизационного стресса прирост коронарного потока при концентрации аденозина в растворе Кребса-Хензелята от $1,26 \times 10^{-9} M$ до $8,5 \times 10^{-8} M$ был таким же, как в контроле (рис. 5 А). При концентрации аденозина от $3,4 \times 10^{-7}$ до $1,8 \times 10^{-6} M$ ответ коронарных сосудов стрессированных крыс снижался на 34-52% ($p < 0,05$).

В группе адаптированных животных ответ на аденозин, введенный в коронарное рус-

ло в концентрации от $1,26 \times 10^{-9} M$ до $3,4 \times 10^{-7} M$, не отличался от контрольной группы. При более высоких концентрациях ($4,6 \times 10^{-7} - 3,7 \times 10^{-6} M$) прирост коронарного потока за время реакции на аденозин возрастал на 55-88% ($p < 0,05$). В сердцах крыс, перенесших стресс после адаптации, прирост коронарного потока во всем диапазоне вводимых доз аденозина не отличался от контроля. Необходимо отметить, что концентрация аденозина, вызывающая 50% ответную реакцию коронарных сосудов, между группами также не различалась (рис. 5 Б).

Таким образом, только при введении высоких доз аденозина, в реализации действия которых принимают участие K_{ATF} -каналы, главным образом, находящиеся в гладкомышечных клетках, коронародилататорный эффект аденозина под влиянием стресса снижался, при адаптации возрастал, а после стресса, перенесенного адаптированными животными, не отличался от контроля. Следовательно, можно предположить, что, как уже ранее отмечалось [3], при стрессе снижается, а при адаптации возрастает функциональная активность K_{ATF} -каналов именно гладкомышечных клеток.

Добавление в перфузионный раствор блокатора L-NAME в контроле сопровожда-

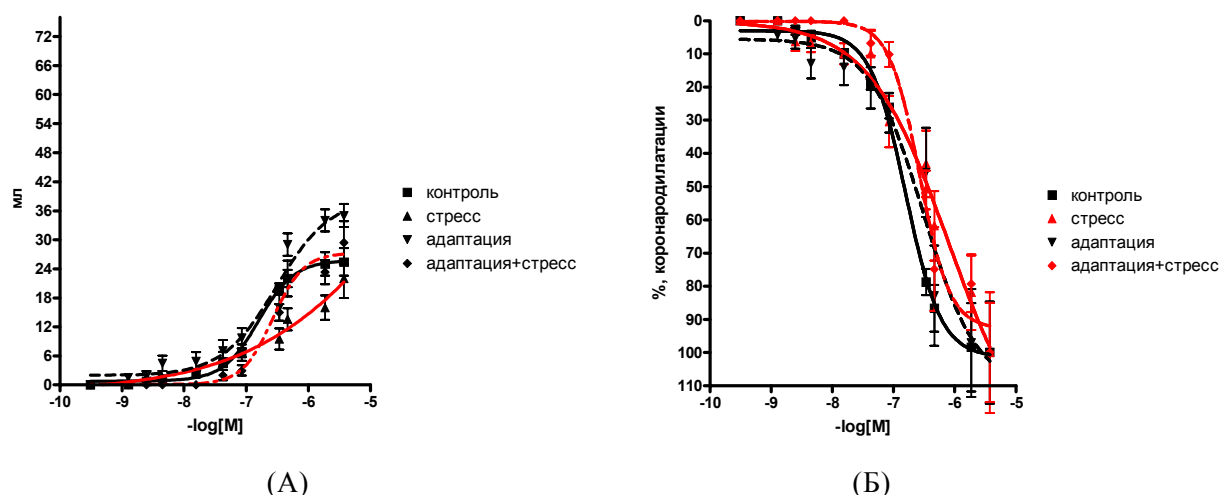


Рис.5. (А) Влияние возрастающих доз аденозина на величину коронарного потока. (Б) K_{ATP} -зависимое увеличение коронарного потока, вызываемое аденозином, выраженное в процентах. По оси абсцисс – $\log$ концентрации аденозина, М. По оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей через коронарные сосуды за время реакции в ответ на интракоронарное введение возрастающих доз аденозина, мл (А), процент прироста перфузионной жидкости, прошедшей за время коронародилататорной реакции, развившейся в ответ на введение в коронарные сосуды аденозина (Б).

лось снижением коронародилататорного эффекта аденозина на 49% уже в области низких доз ($4,3 \times 10^{-8}$ – $3,4 \times 10^{-7}$ М), при которых его эффект зависел от активности K_{ATP} -каналов эндотелиоцитов. Напротив, количество перфузионной жидкости, прошедшей за время реакции в ответ на введение высоких доз аденозина ($4,6 \times 10^{-7}$ – $3,7 \times 10^{-6}$ М), достоверно не отличалось от контрольных сердец с интактной системой синтеза NO (рис. 6 А). Эти данные позволяют подтвердить ранее описанный факт, что коронародилататорное действие низких доз аденозина реализуется при обязательном участии монооксида азота, высвобождаемого из эндотелиоцитов, а высокие дозы, кроме того, воздействуют также и на гладкомышечные клетки сосудистой стенки [6]. Обращает на себя внимание и тот факт, что введение в перфузионный раствор L-NAME снижало чувствительность сосудов сердца к аденозину (табл. 2), коронародилататорный эффект которого начинался с $1,5 \times 10^{-8}$ М (для сравнения в условиях интактной системы синтеза монооксида азота с $1,26 \times 10^{-9}$ М)

В группе животных, перенесших стресс, блокада NO приводила к снижению дилататорного эффекта аденозина в среднем на 20%

(от $1,5 \times 10^{-8}$ до $3,4 \times 10^{-7}$ М) по сравнению с контролем (рис. 6 А) и на 39% по сравнению с группой стрессированных животных с интактной системой синтеза NO. Однако при повышении концентрации аденозина с $4,6 \times 10^{-7}$ до $3,7 \times 10^{-6}$ М наблюдалось увеличение коронародилататорного ответа в среднем на 59% по сравнению с контрольными сердцами с сохраненной системой синтеза NO (рис. 6 А). Таким образом, блокада синтеза NO ослабляла коронародилататорный эффект малых и усиливала больших доз аденозина. Следовательно, можно заключить, что постстрессорная гиперпродукция монооксида азота является одной из причин нарушения функциональной активности K_{ATP} -каналов клеток сосудистой стенки.

В сердцах адаптированных животных с заблокированным синтезом монооксида азота дилататорный эффект аденозина начинался с $4,3 \times 10^{-8}$ (для сравнения в условиях адаптации NO«+» с $1,26 \times 10^{-9}$ М) и в диапазоне вводимых доз до $3,7 \times 10^{-6}$ М снижался в среднем на 42% (рис. 6 А), что также подчеркивает важную роль NO в осуществлении коронародилататорного влияния аденозина при адаптации. В группе адаптированных животных, перенесших

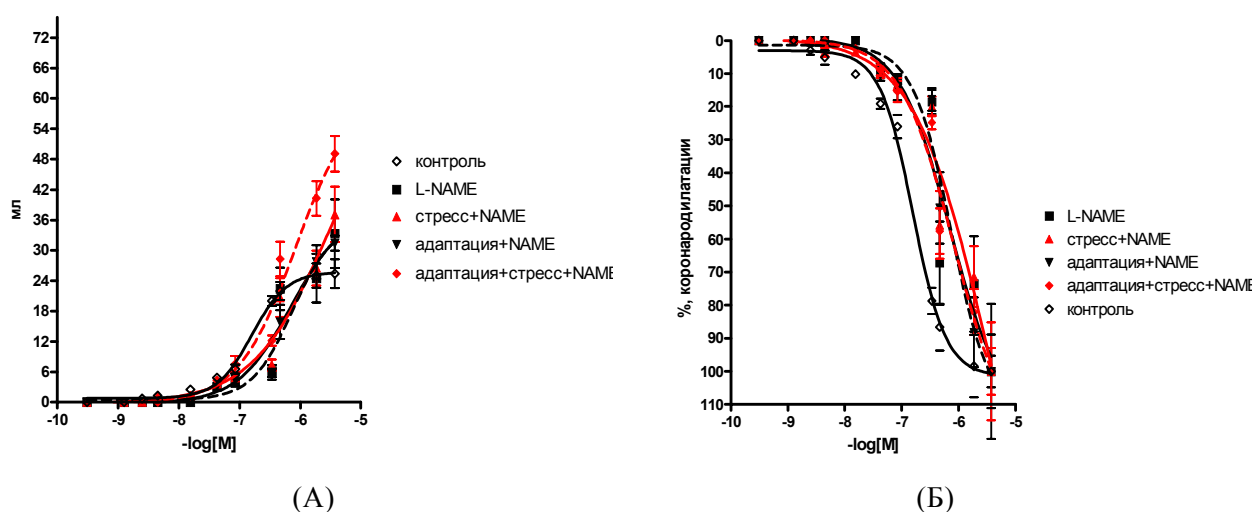


Рис.6. (А) Влияние возрастающих доз аденозина на величину коронарного потока в условиях блокады синтеза монооксида азота. (Б) K_{ATF} -зависимое увеличение коронарного потока, вызываемое аденозином, выраженное в процентах на фоне блокады синтеза монооксида азота. По оси абсцисс – $\log$ концентрации аденозина, М. По оси ординат – прирост перфузионной жидкости, прошедшей через коронарные сосуды за время реакции в ответ на интракоронарное введение возрастающих доз аденозина, мл (А), процент прироста перфузионной жидкости, прошедшей за время коронародилататорной реакции, развившейся в ответ на введение в коронарные сосуды пинацидила (Б).

стресс, блокада синтеза монооксида азота не вызвала достоверных изменений ответа сосудов сердца на аденозин, вводимый в малых дозах ($1,5 \times 10^{-8}$ – $3,4 \times 10^{-7}$ М), и существенно его увеличивала на большие дозы (с $1,8 \times 10^{-6}$ до $3,7 \times 10^{-6}$ М, рис. 6 А). Данный факт может свидетельствовать о том, что адаптация к коротким стрессорным воздействиям эффективно предупреждает постстрессорное снижение функциональной активности K_{ATF} -каналов.

Важно отметить, что в группе животных, перенесших стресс, блокада синтеза NO снижала чувствительность коронарных сосудов к аденозину в значительно большей степени (рис. 6 Б), чем в контроле или при адаптации (табл.2). Это может свидетельствовать о важном вкладе монооксида азота в опосредованную аденозином активацию K_{ATF} -каналов. Кроме того, у адаптированных животных под влиянием блокады NO-синтазы величина

Таблица 2

Влияние адаптации к коротким стрессорным воздействиям на постстрессорное изменение чувствительности коронарных сосудов к аденозину

Группа животных	Вещества, добавляемые в перфузионный раствор	EC50, (М)	CI 95% EC50, (М)
Контроль	без L-NAME (n=8)	$1,58 \times 10^{-7}$	$1,50-1,68 \times 10^{-7}$
	с L-NAME (n=7)	$7,00 \times 10^{-7} *^{\wedge}$	$3,79-12,9 \times 10^{-7}$
Стресс 6 ч	без L-NAME (n=7)	$1,84 \times 10^{-7}$	$4,49-14,73 \times 10^{-7}$
	с L-NAME (n=7)	$33,49 \times 10^{-7} *^{\wedge}$	$4,48-250,0 \times 10^{-7}$
Адаптация	без L-NAME (n=8)	$3,09 \times 10^{-7}$	$2,45-3,93 \times 10^{-7}$
	с L-NAME (n=8)	$7,37 \times 10^{-7} *^{\wedge}$	$5,04-10,76 \times 10^{-7}$
Адаптация+стресс 6 ч	без L-NAME (n=8)	$2,67 \times 10^{-7}$	$2,45-2,93 \times 10^{-7}$
	с L-NAME (n=8)	$8,37 \times 10^{-7} *^{\wedge}$	$4,62-15,18 \times 10^{-7}$

Примечание: *- $p < 0,05$ по сравнению с той же группой в условиях интактной системы синтеза монооксида азота; $^{\wedge}$ - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроль без L-NAME; n-количество животных в группе

ЕС₅₀ увеличивалась в той же степени, что и в контроле, и адаптация полностью предупредила постстрессорное значительное возрастание ЕС₅₀ и коронарных сосудов (табл. 2).

Таким образом, можно заключить, что в отсутствии NO ярко выявляется характерное для стресса снижение чувствительности коронарных сосудов к аденозину, а также адаптация эффективно предупреждала данное постстрессорное снижение чувствительности к нему сосудов сердца.

Заключение

1. После 6-часового иммобилизационного стресса наблюдается угнетение дилаторного действия активатора K_{ATP} -каналов пинацидила, связанное со снижением чувствительности к нему рецепторной единицы канала. Адаптация, не оказывая влияние на силу действия пинацидила, эффективно предупреждает постстрессорное угнетение его коронародилаторной активности, и, следовательно, защищает от стрессорных повреждений функциональную активность K_{ATP} -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов.

2. Коронародилаторное действие пинацидила усиливается в условиях блокады синтеза NO, и наиболее ярко данный эффект проявляется при стрессе. Адаптация к коротким стрессорным воздействиям эффективно восстанавливает роль NO как модулятора эффекта пинацидила.

3. Под влиянием стресса коронародилаторный эффект аденозина и чувствительность к нему K_{ATP} -каналов эндотелиоцитов коронарных сосудов не изменяется, но снижается их функциональная активность в гладкомышечных клетках.

4. В группе животных, перенесших стресс, блокада синтеза NO снижает чувствительность коронарных сосудов к аденозину в значительно большей степени, чем в контроле или при адаптации. Это свидетельствует о том, что при стрессе возникает не характерная для контроля чрезвычайно выраженная зависимость силы коронародилаторного эффекта аденозина от NO (как модулятора его активности), которая эффективно предупреждается адаптацией к коротким стрессорным воздействиям.

Литература

1. Вовлечен ли оксид азота в адаптационную защиту органов от стрессорных повреждений? / Е. Б. Маленюк [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 126, №9. – С. 274-277.
2. Лазуко, С. С. Адаптация к коротким стрессорным воздействиям увеличивает функциональную активность ATP -чувствительных калиевых каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов / С.С. Лазуко, А. П. Солодков // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2006 – Т. 92, №12. – С. 1444-1462.
3. Солодков, А. П. Участие ATP -чувствительных калиевых каналов в ауторегуляции коронарного кровотока при ограничении двигательной активности крыс / А. П. Солодков, С. С. Лазуко // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2005 – Т. 91, №10. – С. 1149-1161.
4. Солодков, А. П. Изменение активности эндотелиоцитов коронарных сосудов под влиянием стресса / А. П. Солодков, А. П. Божко // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1994. – Т. 80, № 4. – С. 64-72.
5. Nelson, M. T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // Am. J. J.M. Physiol. – 1995. – Vol. 37. – P. C799-C822.
6. The coronary endothelium: a highly active metabolic barrier for adenosine. / S. Nees [et al.] // Basic Res. Cardiol. – 1985. – Vol. 80, №5. – P. 515-529.
7. The effects of levromakalim and pinacidil on the human internal mammary artery / L. G. Bukarica [et al.] // Fundamental and clinical pharmacology. – 1997. – Vol. 11, N 6. – P. 550-560.

Поступила 06.06.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТСТРЕССОРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ K_{ATP} -И VK_{Ca} -КАНАЛОВ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ

ЛАЗУКО С.С., МАЙОРОВА С.С., СОЛОДКОВ А.П.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Целью исследования было выяснить влияние 6-часового иммобилизационного стресса на функциональную активность ATP -чувствительных калиевых каналов (K_{ATP} -каналов) и кальцийактивируемых калиевых каналов большой проводимости (VK_{Ca} -каналов).

Опыты были проведены на изолированных сердцах крыс – самок, в полость левого желудочка которых вводили латексный баллончик, соединенный с электроманометром. Каждый эксперимент состоял из двух этапов. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса - Хензелейта, на втором – этим же раствором, но с добавлением тетраэтиламмония (1мМ) или глибенкламида (10мкМ). В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120мм рт. ст. с шагом в 20 мм рт. ст. (коронарная ауторегуляция).

В условиях интактного эндотелия стресс снижает функциональную активность как K_{ATP} -, так и VK_{Ca} -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Уменьшение эффективности действия тетраэтиламмония на способность сосудов сердца отвечать сужением на повышение перфузионного давления и расширением на его снижение доказывает большую стресс-чувствительность VK_{Ca} -, чем K_{ATP} -каналов.

Ключевые слова: ауторегуляция, коронарные сосуды, VK_{Ca} -каналы K_{ATP} -каналы, стресс.

Abstract. The aim of this study was to determine the influence of 6-hour stress on the functional activity of K_{ATP} and K_{Ca+} channels of coronary vessels.

Experiments were conducted on isolated hearts of female rats. The latex balloon connected with electromanometer was inserted into the cavity of their left ventricle. Every experiment consisted of 2 stages.

At the first stage of the experiment the heart was perfused with Krebs-Henseleit solution; at the second stage the heart was perfused with the same solution, to which tetraethylammonium (1 mM) or glibenclamide (10 mkM) was added.

During the experiment the perfusion pressure was stepwise elevated from 40 to 120 mm Hg with 20 mm Hg intervals (coronary autoregulation).

Under conditions of intact endothelium the stress reduces the functional activity of both K_{ATP} and K_{Ca+} channels of coronary vessels smooth muscle cells.

The reduction in the influence of tetraethylammonium efficiency on the ability of cardiac vessels to respond by constriction to perfusion pressure increase and by dilation to its reduction proves that K_{Ca+} channels are more sensitive to stress than K_{ATP} channels.

При длительном эмоциональном стрессе происходит значительное нарушение как системного, так и локального кровообращения. Важную роль в механизмах нарушения локального кровотока и тонуса со-

судов сердца может играть дисфункция эндотелия и гладкомышечных клеток, в частности нарушение функций их калиевых каналов.

Способность гладкомышечных клеток отвечать сокращением в ответ на растяжение сосудистой стенки внутрисосудистым давлением лежит в основе создания миогенного тонуса. В тоже время, гладкомышечные клетки обладают механизмами, ограничивающими их

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра нормальной физиологии. - Лазуко С.С.

сократительную активность. Подобное возможно благодаря тому, что в их мембране находятся несколько видов калиевых каналов [4].

Связанные с мембраной кардиомиоцитов АТФ-чувствительные калиевые каналы (К_{АТФ}-каналы) впервые были описаны Noma [3]. В настоящее время они обнаружены в многочисленных клетках, включая гладкомышечные, бета-клетки поджелудочной железы и эндотелиоциты [3]. Оказывая влияние на мембранный потенциал клетки, К_{АТФ}-каналы обеспечивают взаимосвязь интенсивности клеточного метаболизма с тонусом сосудов.

Кальцийактивируемые калиевые каналы большой проводимости (ВК_{Ca}-каналы) были обнаружены в различных клетках: мышечных, нервных, эндокринных. Они играют ключевую роль в регуляции миогенного тонуса сосудов [4, 5].

Активация калиевых каналов гладкомышечной клетки сопровождается закрытием потенциалзависимых кальциевых каналов, уменьшением входящего внутрь клетки кальция и снижением сократительной активности гладкой мышцы [6, 7, 8]. Увеличение проницаемости калиевых каналов эндотелиальных клеток также приводит к возникновению гиперполяризации их мембран, в результате чего увеличивается вход в клетку ионов кальция по электрохимическому градиенту.

Учитывая важную роль калиевых каналов в регуляции тонуса сосудов сердца, представляется важным сравнить выраженность влияния стресса на функциональную активность К_{АТФ}- и ВК_{Ca}-каналов.

В связи с этим, целью исследования было выяснить влияние 6-часового стресса на функциональную активность К_{АТФ}- и ВК_{Ca}-каналов.

Методы

Коронарный поток и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного сердца крыс – самок, перфузируемых в условиях постоянного давления, которое сокращалось в спонтанном ритме 242±14 уд/мин. Сердца крыс выделяли под уретановым наркозом (0.1 г/100 г массы тела). Перфузию проводили раствором Кребса -

Хензеляйта следующего состава (мМ/л): NaCl – 118; KCl – 4,8; MgSO₄ 1,18; KH₂PO₄ -1,2; CaCl₂ – 2,5; NaHCO₃ – 25,0; глюкоза - 5,5; pH – 7,3-7,4; насыщенным карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) при температуре 37°C. Постоянную температуру поддерживали при помощи ультратермостата UTU-4 (Польша). Перфузат не рециркулировал, что позволяло поддерживать его состав постоянным на протяжении всего опыта. Величину объемной скорости коронарного потока определяли при помощи электромагнитного флоуметра EFM (HSE Harvard apparatus, Германия), датчик которого находился вблизи аортальной канюли.

Каждый опыт состоял из двух этапов. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса - Хензеляйта, содержащим растворитель в концентрации 0,05% (v/v), на втором – этим же раствором, но с добавлением тетраэтиламмония (1 мМ) или глибенкламида (10 мкМ). В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120 мм рт. ст. с шагом в 20 мм рт. ст. (коронарная ауторегуляция). Степень изменения коронарного потока по мере увеличения перфузионного давления, оценивали по индексу ауторегуляции, предложенному Е.Б.Новиковой (1972) [3].

$$IA = \frac{\Delta Q_1 - \Delta Q_2}{\Delta Q_1},$$

где ΔQ_1 – изменение исходного коронарного потока в момент подъема перфузионного давления, ΔQ_2 – разность между величиной исходного потока и потока, установившегося в процессе ауторегуляторной реакции при новом уровне давления. Коронарный расширительный резерв определяли при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст. как отношение между величиной коронарного потока, найденного после 60-ти секундного прекращения перфузии (максимальный гиперемический коронарный поток), и исходным потоком.

С целью определения сократительной функции миокарда в полость левого желудочка вводили латексный баллончик постоянного объема. Давление в латексном баллончике регистрировали с помощью датчика Isotec электроманометра HSE Harvard apparatus (Германия) на самописце WeKagraph (Швейцария).

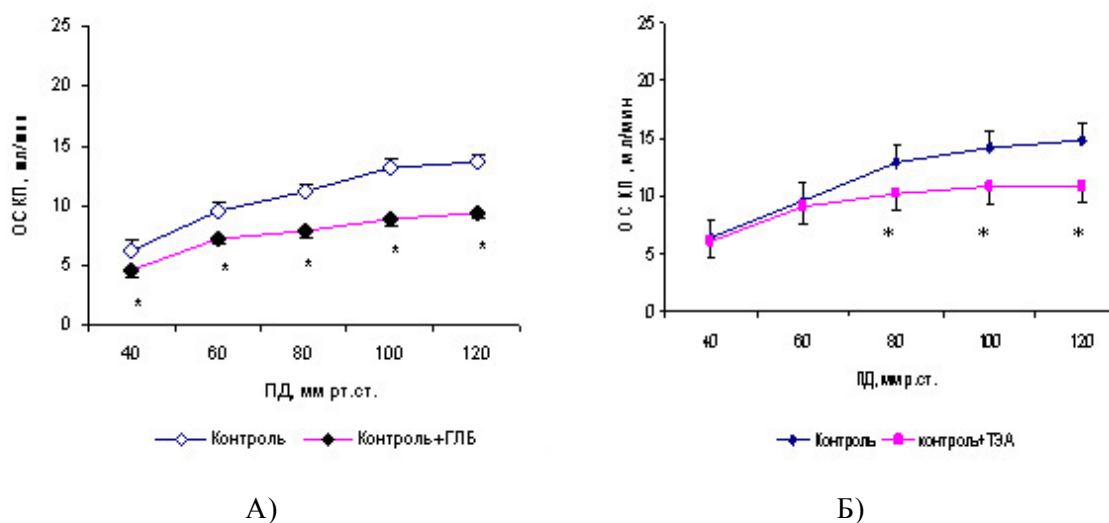


Рис.1. Влияние (А) глибенкламида или (Б) тетраэтиламмония на объемную скорость коронарного потока крыс. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с величинами, полученными при перфузии изолированного сердца данной группы раствором Кребса-Хензелейта, не содержащим глибенкламид или тетраэтиламмоний

В начале каждого эксперимента диастолическое давление в левом желудочке устанавливалось 5-8 мм рт.ст. путем изменения объема жидкости в баллончике. Интенсивность перфузии рассчитывали как отношение объемной скорости коронарного потока к произведению частоты сердечных сокращений и развиваемого внутрижелудочкового давления [4]. Интенсивность перфузии миокарда характеризовала количество перфузионной жидкости, приходящейся на единицу функционирующего миокарда левого желудочка массой 1 грамм.

Функциональную активность K_{ATP} - и BK_{Ca} -каналов определяли по степени изменения объемной скорости коронарного потока, вызванного введением в перфузионный раствор глибенкламида или тетраэтиламмония.

Все животные были подразделены на 2 группы: 1-ую - контрольную ($n=21$), во 2-ую - сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию ($n=17$). В каждой группе выделяли две подгруппы, в зависимости от добавляемого в перфузионную жидкость блокатора (тетраэтиламмоний или глибенкламид).

Концентрация тетраэтиламмония была выбрана 1мМ, так как при этой концентрации он блокирует кальцийактивируемые калиевые каналы эндотелия и гладкомышечных

клеток сосудов. В связи с тем, что мы изучали миогенный ответ стенки коронарных сосудов (ауторегуляцию коронарного потока), то полагали, что изменения объемной скорости коронарного потока, вызываемые тетраэтиламмонием, обусловлены изменением функциональной активности BK_{Ca} -каналов, находящихся в сарколемме гладких миоцитов сосудистой стенки.

Глибенкламид (блокатор K_{ATP} -каналов, Sigma, USA) растворяли в диметилсульфоксиде, а тетраэтиламмоний (блокатор BK_{Ca} -каналов, Sigma, USA) - в физиологическом растворе и вводили в перфузионный раствор так, чтобы их конечная концентрация была равна 10 мкМ и 1 мМ соответственно.

Цифровой материал обработали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и программы "Statistica 6.0".

Результаты

В изолированных сердцах крыс, перфузируемых раствором Кребса-Хензелейта, содержащим глибенкламид, было обнаружено снижение объемной скорости коронарного потока при всех уровнях перфузионного дав-

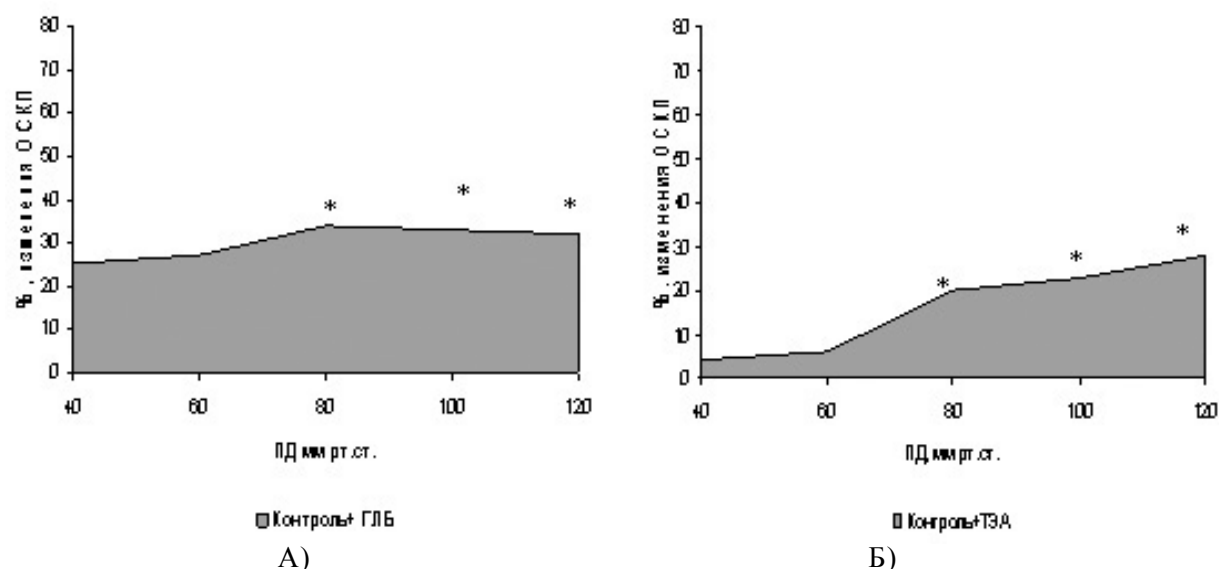


Рис.2. Процент изменения объемной скорости коронарного потока под влиянием (А) глибенкламида или (Б) тетраэтиламмония. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с величинами, полученными при перфузии изолированного сердца данной группы раствором Кребса-Хензеляйта, не содержащим глибенкламид или тетраэтиламмоний.

ления (от 40 до 120 мм рт.ст.) в среднем на 30% (рис.1А, рис.2А). При добавлении в перфузионный раствор Кребса-Хензеляйта тетраэтиламмония снижение объемной скорости коронарного потока по сравнению с контрольной группой животных составило в среднем 23% ($p < 0,05$) (рис.1Б, рис.2Б). Обращает на себя внимание тот факт, что в отличие от глибенкламида тетраэтиламмоний действовал не на всех уровнях перфузионного давления, а начиная с 80 мм рт.ст., то есть в области ауторегуляции. Следовательно, функциональная активность ВК_{Ca}-каналов проявляется только в момент сокращения гладкомышечных клеток, возникающего в ответ на растяжение сосудистой стенки увеличивающимся перфузионным давлением.

При блокаде К_{АТФ}-каналов индекс ауторегуляции увеличивался при подъеме перфузионного давления от 60 до 80 и от 80 до 100 мм рт.ст. на 42 и 40% соответственно. Выраженная область ауторегуляции начиналась с перфузионного давления 60 мм рт.ст., а не 80 мм рт.ст., как в контроле. При блокаде ВК_{Ca}-каналов увеличение индекса ауторегуляции наблюдалось при перфузионном давлении от 60 до 80 мм рт.ст. на 88% и от 100 до 120 мм рт.ст. на 34%.

После блокады глибенкламидом К_{АТФ}-каналов максимальный гиперемический коронарный поток, определяемый при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст., снизился в среднем на 33% (рис.3А). Блокада тетраэтиламмонием ВК_{Ca}-каналов вызвала менее выраженное (21 и 15%, $p < 0,05$) снижение максимального гиперемического коронарного потока (рис.3Б).

Коронарный расширительный резерв во всех исследуемых группах не изменялся.

Под влиянием глибенкламида при всех уровнях перфузионного давления развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось в среднем на 29% (рис.4А), однако количество перфузионной жидкости, приходящейся на единицу развиваемого давления (интенсивность перфузии), было таким же, как и в контроле, свидетельствуя о том, что глибенкламид не нарушал взаимосвязи, существующей между величиной кровоснабжения миокарда и его сократительной функцией. Под влиянием тетраэтиламмония интенсивность перфузии снижалась на 12%, однако сократительная функция миокарда при этом не падала (рис.4Б).

После перенесенного 6-часового иммобилизационного стресса, как уже нами было

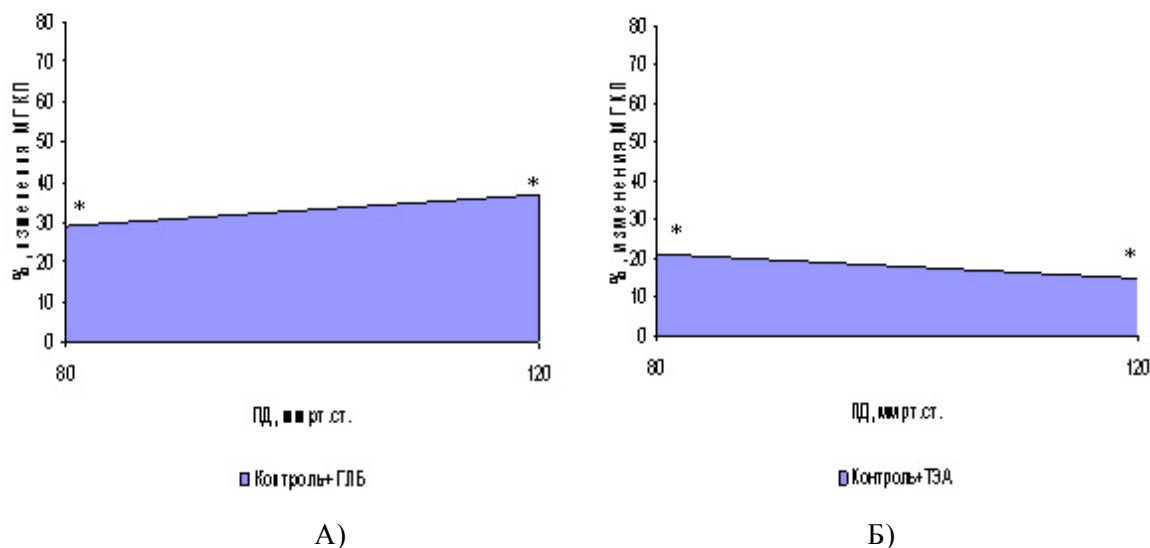


Рис.3. Процент изменения максимального гиперемического коронарного потока под влиянием (А) глибенкламида или (Б) тетраэтиламмония. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с величинами, полученными при перфузии изолированного сердца данной группы раствором Кребса-Хензелята, не содержащим глибенкламид или тетраэтиламмоний.

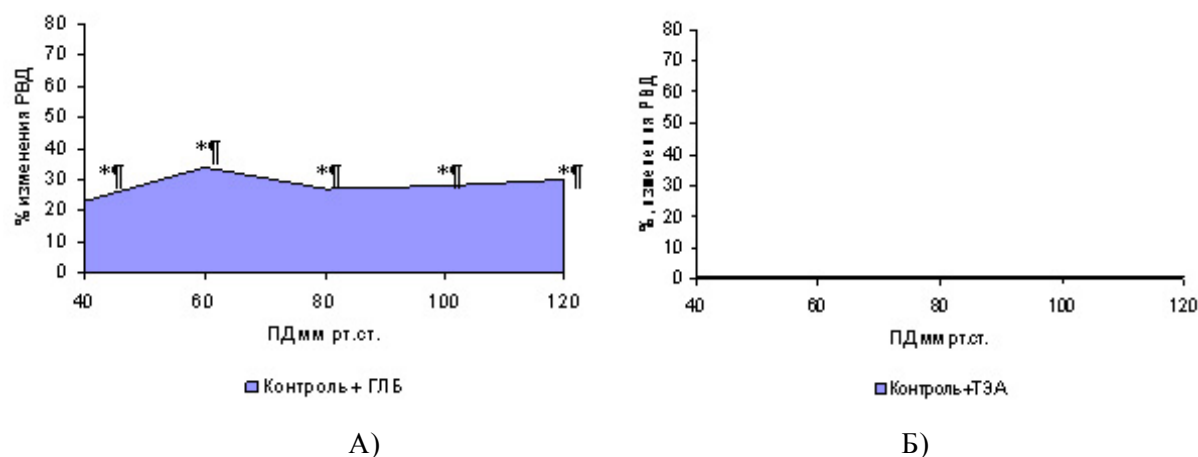


Рис.4. Процент изменения развиваемого внутрижелудочкового давления под влиянием (А) глибенкламида или (Б) тетраэтиламмония. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с величинами, полученными при перфузии изолированного сердца данной группы раствором Кребса-Хензелята, не содержащим глибенкламид или тетраэтиламмоний.

описано [3], объемная скорость коронарного потока увеличилась при перфузионном давлении от 80 до 120 мм рт.ст. на 15-29%, индекс ауторегуляции уменьшался на 17-40%, максимальный гиперемический коронарный поток не изменялся, а коронарный расширительный резерв снижался при перфузионном давлении от 80 и 120 мм рт.ст. на 10-12% со-

ответственно из-за возрастания исходной объемной скорости коронарного потока. Под влиянием иммобилизации развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось на 33-28% при перфузионном давлении от 40 до 80 мм рт.ст. по сравнению с контролем, а интенсивность перфузии увеличилась на 54%, что свидетельствовало о развитии явления гипер-

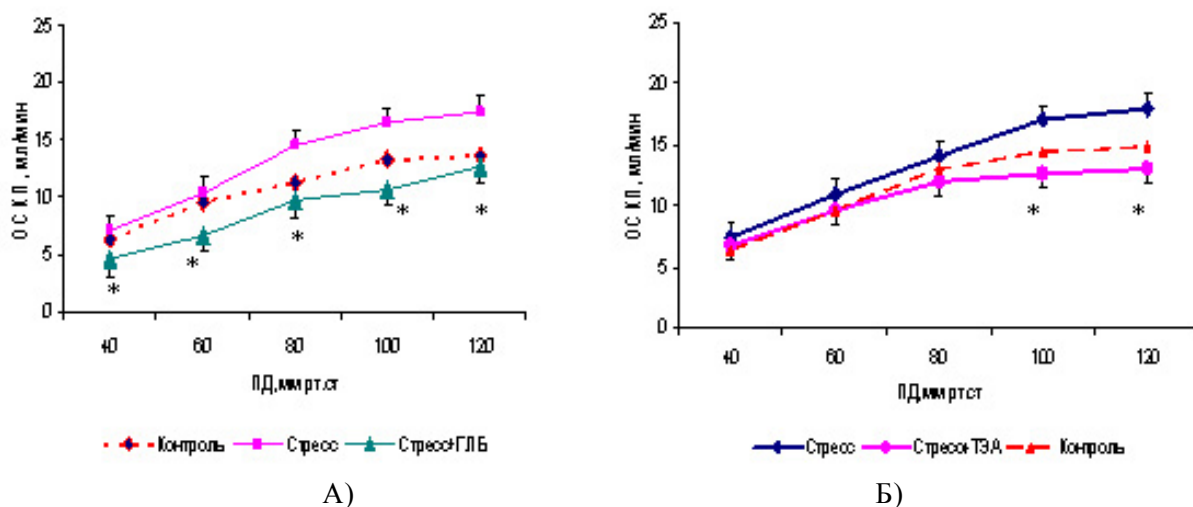


Рис.5. Влияние А) глибенкламида или Б) тетраэтиламмония на объемную скорость коронарного потока в группе животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных.

перфузии миокарда, вызванной пострессорным нарушением способности коронарных сосудов к ауторегуляции [2].

Введение в коронарное русло изолированного сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию, глибенкламида вызывало снижение объемной скорости коронарного потока в среднем на 27,6% (рис.5А, рис.6А), то есть в той же степени, как и в контроле. Блокада ВК_{Ca}-каналов в группе животных, после длительной иммобилизации, снижала объемную скорость коронарного потока от 100 до 120 мм рт.ст. на 12-10% ($p < 0,05$) (рис.5Б,

рис.6Б), что было значительно меньше, чем в контроле. Уменьшение эффективности действия тетраэтиламмония на способность сосудов сердца отвечать сужением на повышение перфузионного давления может свидетельствовать о большей стресс-чувствительности ВК_{Ca}-, чем К_{АТФ}-каналов.

Индекс ауторегуляции под влиянием глибенкламида в группе животных, перенесших стресс, увеличился при перфузионном давлении 60 и 100 мм рт.ст. на 24-50%. Введение в коронарное русло изолированного сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию, тетра-

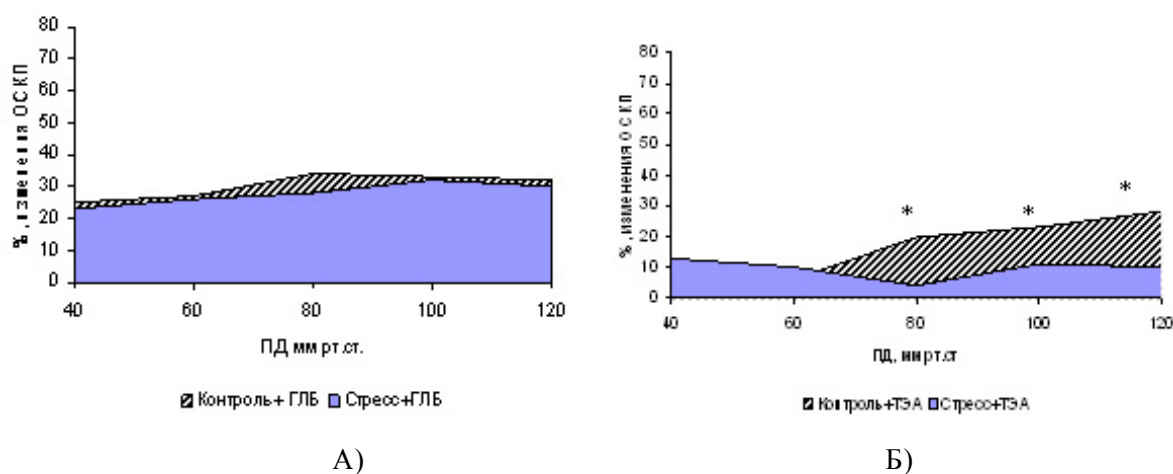


Рис.6. Процент изменения объемной скорости коронарного потока под влиянием А) глибенкламида или Б) тетраэтиламмония в группе животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных.

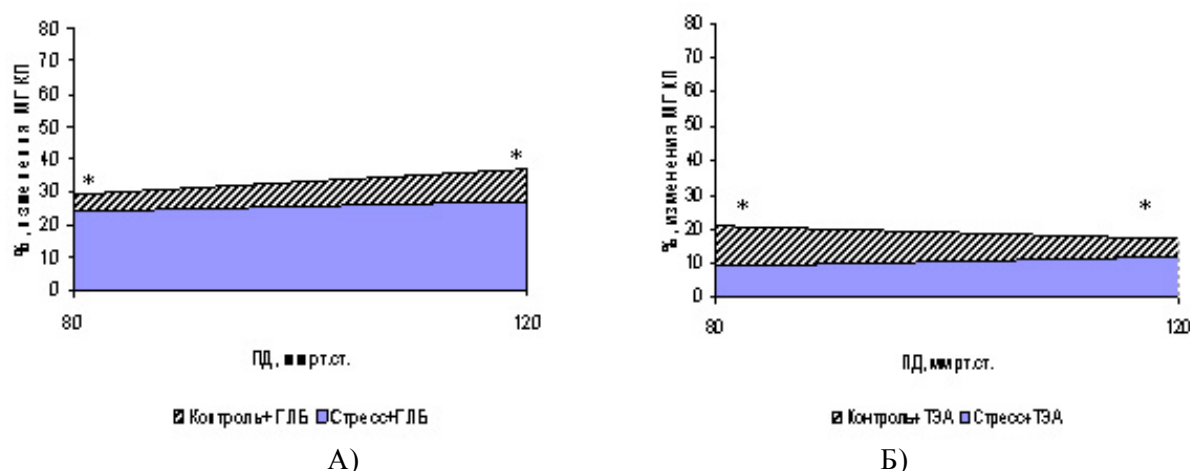


Рис.7. Процент изменения максимального гиперемического коронарного потока под влиянием А) глибенкламида или Б) тетраэтиламмония в группе животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных.

этиламмония сопровождалось более значительным увеличением индекса ауторегуляции при перфузионном давлении от 60 до 80 и от 80 до 100 мм рт.ст. на 38% и 67% соответственно.

Под влиянием глибенкламида в изолированных сердцах крыс, перенесших иммобилизацию, максимальный гиперемический коронарный поток уменьшался на 22-28% (рис.7А) (по сравнению в контроле – 33-35%), а коронарный расширительный резерв, как и в контроле, не изменялся. После введения в коронарное русло изолированного сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию, тет-

раэтиламмония максимальный гиперемический коронарный поток уменьшался при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст. на 9% и 14% соответственно ($p < 0,05$) (рис.7Б) (в контроле – 21-15%), а коронарный расширительный резерв, как и в контроле, не изменялся.

Следовательно, стресс снижал эффективность действия глибенкламида в отношении величины максимального гиперемического коронарного потока, что может быть обусловлено снижением функциональной активности K_{ATP} -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Подобная закономерность

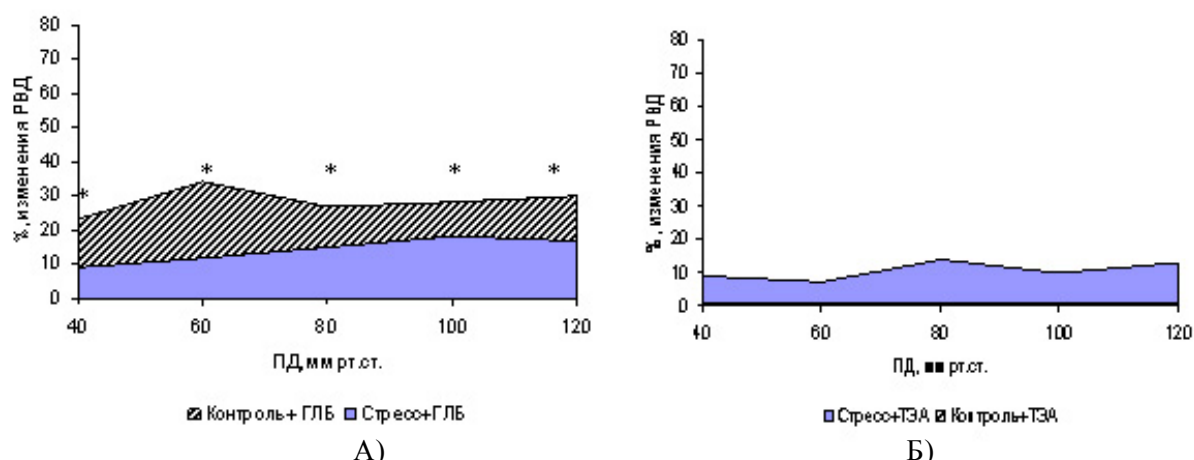


Рис. 8. Процент изменения развиваемого внутрижелудочкового давления под влиянием А) глибенкламида или Б) тетраэтиламмония в группе животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс. По оси абсцисс - перфузионное давление (ПД), мм рт.ст. По оси ординат - объемная скорость коронарного потока (ОСКП), мл/мин. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных.

наблюдалась и в действии глибенкламида на сократительную функцию миокарда крыс, перенесших стресс. Под влиянием глибенкламида в группе животных, перенесших иммобилизацию, развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось всего лишь на 13% (в контроле на 29%) (рис.8А) и достигало уровня развиваемого внутрижелудочкового давления, обнаруженного в контрольной группе крыс, в коронарное русло которых вводили глибенкламид. При этом величина интенсивности перфузии оставалась на 22% более высокой, чем в контроле, но на 17-20% более низкой, чем в сердцах крыс, перенесших стресс и не обработанных глибенкламидом. При блокаде ВК_{Ca}-каналов развиваемое внутрижелудочковое давление уменьшалось в среднем на 9% ($p < 0,05$) (в контроле не изменялось) (рис.8Б), что может свидетельствовать о повышении чувствительности сократительной функции миокарда стрессированных животных к уменьшению объемной скорости коронарного потока.

Следовательно, иммобилизация сопровождалась снижением эффективности действия тетраэтиламмония в отношении величины объемной скорости коронарного потока, максимального гиперемического коронарного потока и появлением кардиодепрессивного эффекта. В отличие от тетраэтиламмония, глибенкламид под влиянием стресса оказывал свое действие только в отношении максимального гиперемического коронарного потока.

Обсуждение

Тонус коронарных сосудов определяется сокращением гладкомышечных клеток, которое регулируется внутриклеточной концентрацией ионов кальция. Вазоконстрикторы действуют через увеличение внутриклеточного кальция, тогда как вазодилататоры имеют противоположный эффект.

Уменьшение объемной скорости коронарного потока и значительное увеличение индекса ауторегуляции, наблюдаемое после блокады ВК_{Ca}-каналов и К_{АТФ}-каналов, свидетельствовало о повышении тонуса сосудов сердца. Необходимо отметить две особенности действия тетраэтиламмония. Во-первых, в

связи с тем, что тетраэтиламмоний и глибенкламид изменяли эффективность ауторегуляции коронарного потока, которая, главным образом, обусловлена функцией резистивных сосудов сердца, можно заключить, что ВК_{Ca}- и К_{АТФ}-каналы играют важную роль в регуляции тонуса миокардиальных сосудов сопротивления. Во-вторых, эффект тетраэтиламмония наблюдался не на всех уровнях перфузионного давления, а начиная с 80 мм.рт.ст., то есть в области ауторегуляции. Следовательно, функциональная активность ВК_{Ca}-каналов проявляется только в момент тонического сокращения гладкомышечных клеток, возникающего в ответ на растяжение сосудистой стенки увеличивающимся перфузионным давлением, и представляющим собой один из факторов, определяющих выраженность ауторегуляции коронарного потока. Этот факт отличает их от К_{АТФ}-каналов, которые обладают базальной активностью, принимают участие в формировании потенциала покоя и поэтому коронароконстрикторное влияние их блокатора глибенкламида осуществляется при всех уровнях перфузионного давления, а не только в области ауторегуляции в момент активного сокращения гладкой мышцы сосудистой стенки.

При блокаде обоих типов калиевых каналов наблюдалось, по существу, одинаковое снижение объемной скорости коронарного потока, однако после глибенкламида развиваемое внутрижелудочковое давление уменьшалось, а после тетраэтиламмония нет. Этот факт позволяет полагать, что вызываемое глибенкламидом снижение развиваемого внутрижелудочкового давления может быть обусловлено как уменьшением перфузии миокарда, так и прямым действием препарата на К_{АТФ}-каналы кардиомиоцитов. Тот факт, что тетраэтиламмоний не оказывал влияния на сократительную функцию миокарда, свидетельствует об отсутствии данных каналов в кардиомиоцитах.

В изолированных сердцах крыс, перенесших стресс, наблюдалось снижение функциональной активности ВК_{Ca}- и К_{АТФ}-каналов, однако снижение функциональной активности К_{АТФ}-каналов было в меньшей степени, чем ВК_{Ca}-каналов. При этом наибольшее влияние стресс оказал на выраженность эффекта гли-

бенкламида в отношении реакции коронарных сосудов в ответ на снижение перфузионного давления (изменение максимального гиперемического коронарного потока), чем на его повышение (изменение индекса ауторегуляции коронарного потока).

Возможными механизмами пострессорного снижения функциональной активности калиевых каналов могут быть как характерное для стресса увеличение образования продуктов свободнорадикального окисления (супероксид анионы, перекись водорода и др.) и монооксида азота. Повреждение $ВК_{Ca}$ -каналов при стрессе в более высокой степени может говорить о их большей стресс-чувствительности, по сравнению с K_{ATP} -каналами.

Очевидно, что дальнейшее изучение особенностей снижения активности $ВК_{Ca}$ - и K_{ATP} -каналов не только гладкомышечных клеток, но и эндотелиоцитов при стрессе создаст условия для понимания механизма нарушений коронарного кровообращения на клеточном уровне при этом состоянии.

Заключение

На основании представленных данных можно заключить:

1. В условиях интактного эндотелия стресс снижает функциональную активность как K_{ATP} -, так и $ВК_{Ca}$ -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов.

2. Уменьшение эффективности действия тетраэтиламмония на способность сосудов

сердца отвечать сужением на повышение перфузионного давления и расширением на его снижение доказывает большую стресс-чувствительность $ВК_{Ca}$ -, чем K_{ATP} -каналов.

Литература

1. Манухина, Е. Б. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев, Ю. В. Архипенко // Вестник РАМН. – 2000. – № 4. – С. 16-20.
2. Солодков, А. П. Изменение активности эндотелиоцитов коронарных сосудов под влиянием стресса / А. П. Солодков, А. П. Божко // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1994. – Т. 80, № 4. – С. 64-72.
3. Aversano, T. Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation / T. Aversano, P. Ouyang, H. Silverman // Circ. Res. 1991. – Vol. 69. – P. 618–622.
4. Brayden, J. E. Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels / J. E. Brayden, M. T. Nelson // Science. – 1992. – Vol. 256. – P. 532–535.
5. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone / M. T. Nelson [et al.] // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 1990. – Vol. 259. – P. C3–C18.
6. Jaggar, J. H. Voltage dependence of Ca^{2+} sparks in intact cerebral arteries / J. H. Jaggar, A. S. Stevenson, M. T. Nelson // Am. J. Physiol. – 1998. – Vol. 274. – P. C1755–C1761.
7. Nelson, M. T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 268. – P. 799–822.
8. Nerbonne, J. M. Molecular basis of functional voltage-gated K^{+} channel diversity in the mammalian myocardium // J. Physiol. – 2000. – Vol. 525. – Pt. 2. – P. 285-298.

Поступила 31.05.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

НЕБЫЛИЦИН Ю.С., СУШКОВ С.А., СОЛОДКОВ А.П.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Изучено изменение количества циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК), а также содержания продуктов деградации монооксида азота и содержания малонового диальдегида (МДА) в венозной крови в условиях перевязывания подвздошной вены у кролика и при введении в бедренную вену раствора тромбина (40 ЕД/кг). Количество ЦЭК определяли по методу Hladovec et al. (1978), концентрацию стабильных продуктов деградации монооксида азота (NO_2/NO_3) в плазме крови - по методу Грисса, содержание МДА - спектрофотометрически в бутаноловой фазе при длине волны 535 нм.

Также изучены морфологические изменения венозной стенки при моделировании острого венозного тромбоза. Материал для морфологического исследования изучали на 1 и 5 сутки. После приготовления препаратов производилось их исследование с помощью электронного микроскопа JEM 100B и JEM 100CX (Япония) с увеличением $\times 4800$ - 29000 .

В результате проведенного исследования установлено, что при острой венозной недостаточности в первые пять суток отмечалось увеличение числа ЦЭК на 58,27%, а после 15-х суток выявлялось снижение числа ЦЭК на 11,62% по сравнению с контролем. Содержание NO_2/NO_3 в плазме крови в первые пять суток оказалось выше на 41%, а на 15-е сутки - на 8,3% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Содержание МДА через пять суток после перевязывания подвздошной вены было увеличено на 39,74% ($p < 0,05$), а на 15-е сутки статистически не отличалось от контрольных значений.

Отмечались структурные изменения эндотелиоцитов вены, которые имели определенную динамику. В первые сутки в клетках эндотелия наблюдалась деструкция плазмолеммы и кариолеммы, а к 5-м суткам увеличивалась площадь десквамации эндотелия.

Следовательно, в первые пять суток острая венозная недостаточность сопровождается возрастанием числа ЦЭК, содержанием NO_2/NO_3 в плазме, МДА. После 15-х суток снижается число ЦЭК, содержание NO_2/NO_3 в плазме и МДА.

Таким образом, определение в крови ЦЭК, МДА и концентрации NO_2/NO_3 в плазме может быть использовано как маркер, характеризующий выраженность острой венозной недостаточности.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, острая венозная недостаточность, острый венозный тромбоз.

Abstract. Changes in the amount of circulating endothelial cells (CEC) as well as those in the content of nitric monoxide destruction products and malonic dialdehyde (MDA) in venous blood were studied under conditions of rabbit iliac vein ligation with injection of thrombin solution (40 U/kg) into femoral vein. CEC amount was estimated by Hladovec et al. (1978) method, nitric monoxide destruction products (NO_2/NO_3) concentration in the blood serum was assessed by means of Griss technique, MDA content was assessed using spectrophotometry in butanolic phase with the wave length of 535 nm.

Morphologic changes of the venous wall were studied modelling acute venous thrombosis. Morphological study was conducted on the material taken on the 1st and the 5th days with electronic microscope JEM 100B and JEM 100CX (Japan) with 4800 – 29000 times magnification.

As a result of the study it was revealed that in acute venous insufficiency the CEC amount increased by 58,27% during the first five days and decreased after the 15th day by 11,62% comparing with the control group. NO_2/NO_3 content in blood serum was found to be higher by 41% during the first five days and by 8,3% ($p < 0,05$) on the 15th day comparing with the control group. MDA content in five days after iliac vein ligation was increased by 39,74% ($p < 0,05$) and it did not differ statistically on the 15th day.

Structural changes in endothelial cells of the vein were marked in their dynamics. On the 1st day destruction of plasmolemma and karyolemma was observed in endothelial cells whereas by the fifth day endothelium desquamation area increased.

Therefore, during the first five days acute venous insufficiency is accompanied by the increase of the CEC amount, NO_2/NO_3 content in blood serum and MDA level. After the 15th day the CEC amount, NO_2/NO_3 content in blood serum and MDA level decrease.

Thus, determination of CEC in the blood, MDA and NO_2/NO_3 concentration in blood serum may be used as an acute venous insufficiency severity marker.

В последние годы отмечается рост частоты случаев тромбоза глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей. Эпидемиологическое исследование, проведенное в Массачусетсе показало, что средняя частота новых случаев ТГВ в США составляет 48 на 100 000 населения в год [1, 3]. В Швеции ежегодно регистрируется 160 новых случаев ТГВ на 100 000 жителей [2].

Оперативные вмешательства в 25% случаев могут явиться причиной венозных тромбозов [3]. Наиболее высокий риск развития ТГВ отмечается при травмах и операциях на бедре, тазобедренном, коленном суставах и достигает 53%. При абдоминальных и торакальных хирургических вмешательствах венозный тромбоз возникает практически у каждого третьего пациента. При реконструктивных ангиохирургических операциях ТГВ встречается в 20-30% случаев [2, 3, 5]. Высокую опасность представляет ампутация и экзартикуляция нижних конечностей, при которых риск возникновения ТГВ достигает 60-70% [1, 2, 4].

В раннем послеоперационном периоде ТГВ может протекать бессимптомно. Клинические проявления появляются не сразу, а спустя определенный промежуток времени, с нарастанием симптомов ТГВ. Поздняя диагностика ТГВ приводит к несвоевременному началу лечения, а также задержке мероприятий, направленных на профилактику тромбоэмболии легочной артерии [3, 6].

В возникновении ТГВ имеют значение: замедление тока крови, дисфункция эндотелия, повышение коагуляционного потенциала крови (триада Р.Вирхова) [1, 2]. При ТГВ нижних конечностей снижается объемная и линейная скорость венозного кровотока, а также увеличивается гидростатическое давление крови в венах. Постепенно нарастает гипоксия тканей стенок венозных сосудов, развивается тромбоз и воспаление. Ключевая роль в возникновении тромбоза и воспаления в этих условиях принадлежит дисфункции эндотелия вен [7, 8, 9, 10].

Оксид азота (NO) эндотелиального происхождения является мощным вазодилатато-

ром, ингибитором адгезии тромбоцитов и нейтрофилов к эндотелию. Он также способен связывать свободные радикалы кислорода. Одновременное увеличение продукции NO и супероксиданиона сопровождается возрастанием количества пероксинитрита - вещества, обладающего повреждающим действием. При повреждении кровеносных сосудов, в частности при венозном застое, может изменяться количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и содержание продуктов деградации NO [11, 12].

В связи с этим представляется актуальным изучить характер дисфункции эндотелия при острой венозной недостаточности. Выявление характера дисфункции эндотелия позволят в перспективе разработать способы ранней диагностики ТГВ, усовершенствовать методы профилактики и лечения ТГВ, а также позволят разработать новые прогностические критерии течения заболевания.

Цель работы - изучить выраженность дисфункции эндотелия при экспериментальном моделировании острого нарушения венозного оттока и острого тромбоза глубоких вен системы нижней поллой вены.

Методы

Эксперимент выполнен на 25 кроликах самцах и самках массой 3050-3450 г. (контрольная группа – 13 здоровых кроликов) и 46 беспородных крысах самцах массой 300-350 г. (контрольная группа – 16 здоровых крыс). После определения пульсации подвздошной артерии в месте её проекции производили разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 4-5 см. Путём тупого разъединения мышц находили сосудисто-нервный пучок, выделяли в нём подвздошную вену и перевязывали её. Тромбоз в эксперименте воспроизводили путём введения 0,3 мл подогретого до 37-37,5°C раствора тромбина (40 ЕД/кг). Рану послойно ушивали. После выведения из наркоза экспериментальное животное помещалось в виварий, где проводилось наблюдение.

С помощью ультразвукового сканера "Logiq-500 Pro" (General Electric, США) с линейным датчиком 11 МГц в В-режиме и в режи-

ме цветового доплеровского картирования определяли состояние между толщиной внутренней и средней стенкой перевязанной вены [13]. Для оценки состояния кровотока использовали цветовое доплеровское картирование через 1 час после операции, а также на 1, 3 и 5 сутки.

Кровь для исследования у экспериментальных животных получали из ушной и орбитальной вен на 1, 5, 15 и 30 сутки после операции. В качестве контроля исследовали кровь 13 здоровых кроликов и 16 здоровых беспородных крыс.

В венозной крови определяли содержание стабильных продуктов деградации NO (NO_2/NO_3), малонового диальдегида (МДА), а также число ЦЭК. Для определения количества ЦЭК использовали метод Hladovec et al. (1978) [14]. Он основан на изоляции клеток эндотелия из крови вместе с тромбоцитами, с последующим осаждением тромбоцитов с помощью аденозиндифосфата. Количество клеток подсчитывали в 100 мкл бедной тромбоцитами плазме в камере Горяева при световой микроскопии (x200) (рис.1).

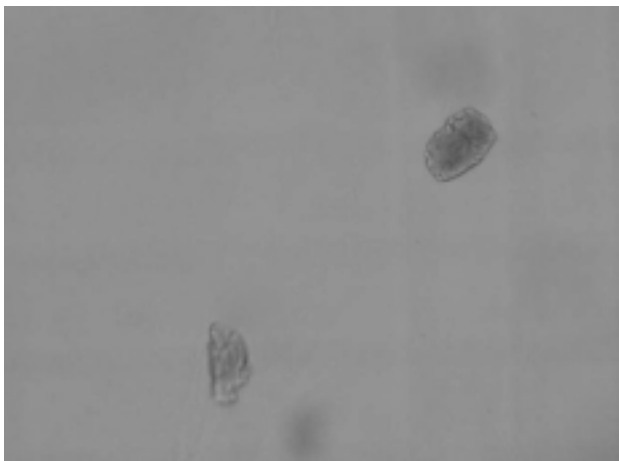


Рис.1. Циркулирующая эндотелиальная клетка. Окраска 0,1% метиленовым синим (x200).

Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови определяли по методу Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли цинковой пылью, обработанной аммиачным комплексом сульфата меди, которую добавляли в пробирку с исследуемой плазмой [15].

Содержание МДА определяли по методу В.Б. Гаврилова спектрофотометрически при длине волны 535 нм в бутаноловой фазе [16].

В течение исследования ни одно из опытных животных не погибло в результате проводимых экспериментаторами манипуляций.

Получение материала для морфологического исследования производили на 1 и 5 сутки. Морфологически оценивали состояние стенки интактной и тромбированной бедренной вены крысы.

Для проведения электронной микроскопии иссеченные участки тканей помещали в 4% раствор параформа, а затем фиксировали в 1%-ном растворе четырехоксида осмия (рН 7,4) на протяжении 2 часов при 4°C. После завершения осмиевой фиксации фрагменты вен обезвоживали в спиртах восходящей крепости, ацетоне и заливали в эпон-аралдитную смолу. Ультратонкие срезы получали с помощью ультратома фирмы LKB (Швеция), контрастировали в водном растворе уранилацетата и растворе цитрата свинца. Срезы изучали и фотографировали в электронном микроскопе JEM 100B и JEM 100CX (Япония).

Цифровой материал обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента и непараметрического критерия Mann-Whitney–Wilcoxon.

Результаты и обсуждение

При ультразвуковом исследовании в норме до начала эксперимента в бедренной вене определялся кровоток и выявлялась ее индуцированная пульсация расположенной рядом бедренной артерии (рис.2).

Через час после перевязки вены доплеровский сигнал над бедренной веной не регистрировался. В просвете определялись «дополнительные структуры», частично перекрывающие просвет вены. При цветовом доплеровском картировании и энергетическом доплере сигналы в просвете вены не регистрировались (рис.3). Толщина стенки бедренной вены составляла в среднем 0,8 мм, тогда как толщина внутренней и средней оболочки - 0,3 мм.

Через сутки после перевязки подвздошной вены у кроликов отмечалось увеличение



Рис.2. Ангиосканограмма (режим ЦДК, продольная проекция) бедренной вены кролика в норме.



Рис.3. Ангиосканограмма (режим ЦДК, продольная проекция) бедренной вены кролика через 1 час после перевязки вены.



Рис.4. Ангиосканограмма (режим ЦДК, продольная проекция) бедренной вены кролика через 1 сутки после перевязки вены.

размеров тромба в бедренной вене до 15,2 мм, а толщина интимы-медиа и всей стенки не изменилась. Скорость коллатерального кровотока вблизи бедренной вены в первые сутки увеличилась (рис.4).

Через трое и пять суток отмечалось значительное развитие коллатерального кровотока. Толщина интимы-медиа и всей стенки бедренной вены не изменилась (рис.5).

Таким образом, при варианте моделирования острого нарушения венозного оттока путем перевязывания подвздошной вены уже в течение первого часа наблюдалось образование тромба в просвете вены. Поэтому данную модель можно использовать для изучения дисфункции эндотелия при остром тромбозе.

Количество циркулирующих эндотелиоцитов и продуктов деградации NO в крови при моделировании острого нарушения венозного оттока

В венозной крови кроликов контрольной группы содержание NO_2/NO_3 было $34,35 \pm 2,96$ мкМ/л., количество ЦЭК оказалось равным $43,38 \pm 3,55$ клеток/100 мкл., концентрация МДА равнялась $68,76 \pm 8,64$ нМ/г (табл. 1, 2).

В первые пять суток количество ЦЭК оказалось увеличенным на 58,27% и составляло $76,65 \pm 3,8$ клеток/100 мкл. На 15 суток количество ЦЭК возвращалось к значениям,



Рис.5. Ангиосканограмма (режим ЦДК, продольная проекция) бедренной вены кролика через 5 суток после перевязки вены.

Таблица 1

**Содержание циркулирующих эндотелиоцитов в венозной крови
у экспериментальных животных при остром нарушении венозного оттока**

Показатели	1.Контрольная группа (n=13)	2.Опытная группа (5 суток) (n=23)	3.Опытная группа (15 суток) (n=17)
ЦЭК, кл/100мкл $M \pm m$	$48,38 \pm 3,55^{2,3}$	$76,65 \pm 3,8^{1,3}$	$54,06 \pm 1,19^{1,2}$

Примечание: надстрочными индексами отмечены достоверные ($p < 0,05$) различия между соответствующими группами.

Таблица 2

**Содержание малонового диальдегида и продуктов деградации монооксида азота
в венозной крови у экспериментальных животных при остром нарушении венозного оттока**

Показатели	1.Контрольная группа (n=10)	2.Опытная группа (5 суток) (n=14)	3.Опытная группа (15 суток) (n=16)
Нитраты/нитриты. мкМ/л $M \pm m$	$34,35 \pm 2,96^{2,3}$	$48,44 \pm 2,28^{1,3}$	$37,2 \pm 1,68^{1,2}$
МДА нМ/г $M \pm m$	$68,76 \pm 8,64^{2,3}$	$96,09 \pm 8,62^1$	$79,32 \pm 7^1$

Примечание: надстрочными индексами отмечены достоверные ($p < 0,05$) различия между соответствующими группами.

обнаруженным в контрольной группе кроликов, и составляло $54,06 \pm 1,19$ клеток/100 мкл.

В опытной группе в первые 5 суток содержание NO_2/NO_3 увеличивалось на 41% и составляло $48,44 \pm 2,28$ мкМ/л. Содержание МДА возросло на 39,74% и равнялось $96,09 \pm 8,62$ нМ/г. На 15 сутки после перевязки подвздошной вены у кроликов содержание NO_2/NO_3 и МДА возвращалось к таковому, обнаруженному в контрольной группе, и составляло $37,2 \pm 1,68$ мкМ/л. и $79,32 \pm 7$ нМ/г, соответственно.

Таким образом, при остром нарушении венозного оттока наблюдается повышение количества циркулирующих в крови эндотелиоцитов, увеличение содержания NO_2/NO_3 , МДА. Через 15 суток после перевязывания подвздошной вены отмечается снижение количества циркулирующих эндотелиоцитов, а также уменьшение содержания продуктов деградации монооксида азота и МДА.

**Количество циркулирующих
эндотелиоцитов в крови при
моделировании острого тромбоза**

Количество ЦЭК в венозной крови крыс контрольной группы составило $27,42 \pm 1,33$ клеток/100 мкл (табл. 3).

В первые сутки после введения тромбина наиболее значительное увеличение содержания ЦЭК определялось в первые сутки на 30,12% и составило $38,96 \pm 1,53$ клеток/100 мкл. Через 5 суток содержание ЦЭК было на 10,65% выше, чем в контроле, но ниже, чем в первые сутки после экспериментального моделирования тромбоза на 14,97% и равнялось $33,13 \pm 1,16$ клеток/100 мкл. На 15-е сутки количество ЦЭК возвращалось к значениям, обнаруженным в контрольной группе $25,96 \pm 1,31$ клеток/100 мкл. На 30-е сутки отмечалось снижение ЦЭК на 38,5% по сравнению с контролем и составляло $18,43 \pm 0,43$ клеток/100 мкл.

Таблица 3

**Содержание циркулирующих эндотелиоцитов в венозной крови
у экспериментальных животных при остром тромбозе бедренной вены**

Показатели	1.Контрольная группа (n=16)	2.Опытная группа (1 сутки) (n=28)	3.Опытная группа (5 суток) (n=30)	4.Опытная группа (15 суток) (n=28)	5.Опытная группа (30 суток) (n=23)
ЦЭК, кл/100мкл M±m	29,94 ± 1,37 ^{2,3,4,5}	38,96 ± 1,53 ^{1,3,4,5}	33,13 ± 1,16 ^{1,2,4,5}	25,96 ± 1,31 ^{1,2,3,5}	18,43 ± 0,43 ^{1,2,3,4}

Примечание: надстрочными индексами отмечены достоверные ($p < 0,05$) различия между соответствующими группами.

Таким образом, при экспериментальном моделировании острого тромбоза глубоких вен после введения тромбина наблюдалось повышение в крови циркулирующих эндотелиальных клеток.

Проведенные исследования показали, что при моделировании острой венозной недостаточности в эксперименте происходит отслоение клеток эндотелия от базальной мембраны, а также увеличивается образование монооксида азота и малонового диальдегида.

**Электронно-микроскопическая
характеристика эндотелия интактной
бедренной вены крысы**

При электронно-микроскопическом исследовании вен эндотелиальная стенка была сохранена на всем протяжении. Эндотелиоциты представляли собой одноядерные клетки. Их ядра находились в центральной части клетки, имели вытянутую форму с глыбчатым расположением хроматина и неглубокими инвагинациями ядерной оболочки (рис. 6).

В некоторых случаях встречались дву- и многоядерные клетки. В окооядерной и цитоплазматической зонах располагались митохондрии и комплекс Гольджи. В цитоплазме выявлялись единичные полирибосомы и микрофибриллы, которые часто контактировали с цитолеммой и ядерной оболочкой.

В периферической зоне эндотелиоцита, обращенного в просвет сосуда, наблюдалось умеренное везикулообразование. Микропиноцитозные пузырьки сосредоточивались в цитоплазме свободно.

Вытянутая форма и небольшая толщина цитоплазматических отростков (ЦО) эндотелиоцитов создавали контраст с ядродержащей частью клетки.

Иногда ЦО проникали в субэндотелиальный слой. Базальная поверхность эндотелиоцитов часто контактировала с гладкомышечной клеткой и коллагеновыми волокнами. В контактной зоне эндотелиоциты образовывали плотные контакты друг с другом. Толщина субэндотелиального слоя была неодинаковой в различных местах интимы.

**Изменение структурной организации
эндотелиоцитов бедренной вены крысы
через 24 часа после моделирования
экспериментального тромбоза**

При помощи электронной микроскопии было установлено наличие эндотелия прак-

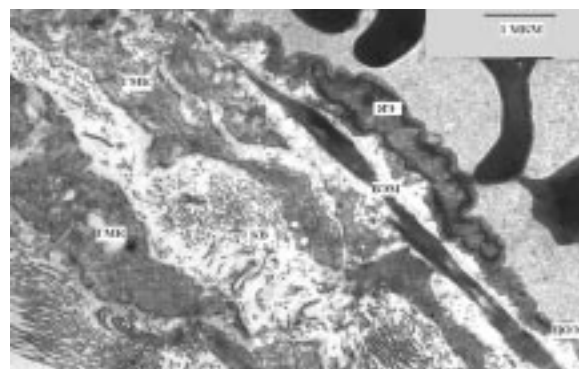


Рис.6. Ультраструктурная организация интактной вены. ЯЭ – ядро эндотелиоцита, ВЭМ – внутренняя эластическая мембрана, ГМК – гладкомышечная клетка, ЦОЭ – цитоплазматический отросток эндотелиоцита, КВ – коллагеновые волокна.

тически на всей внутренней оболочке вены, отмечалось небольшое набухание эндотелиоцитов. Они имели вытянутую форму, наблюдалось истончение их клеточной мембраны и уменьшение объема цитоплазматической части.

Кроме этого, в эндотелиоцитах выявлялись следующие изменения: увеличение электронной плотности цитозоля, увеличение образования цитоплазматических выростов, нарушение целостности цитоплазматической мембраны, изменение формы митохондрий. Ядра эндотелиоцитов имели продолговатую форму, кариолемма образовывала небольшие выпячивания, направленные вглубь субэндотелиального слоя. Отмечалось повышение электронной плотности внутренней эластической мембраны (рис. 7).

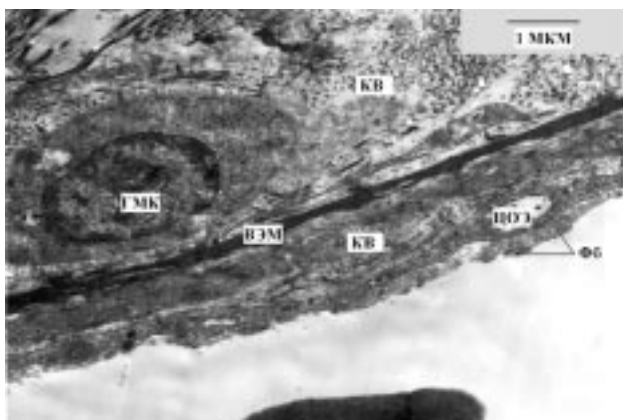


Рис. 7. Ультраструктурная организация венозной стенки через 24 часа после экспериментального моделирования тромбоза. К интиме прилежат волокна фибрина. В эндотелии – мелкие везикулы.

Изменение структурной организации эндотелия бедренной вены крысы через 5 суток после моделирования экспериментального тромбоза

Эндотелий на большинстве участков вены отсутствовал. В тех местах, где эндотелий был сохранен, обнаруживалось изменение его формы, истончение и деформация. Наблюдались небольшие набухшие участки, содержащие множество мельчайших везикул, а также участки с крупными полостными

образованиями. Также отмечалось очаговое нарушение целостности ядерной оболочки (рис. 8).



Рис. 8. Ультраструктурная организация венозной стенки через 5 суток тромбоза. В цитоплазме эндотелиальной клетки содержится множество везикул.

Таким образом, при экспериментальном моделировании острого венозного тромбоза наблюдаются ярко выраженные изменения динамики эндотелиоцитов вены. Клетки эндотелия подвергаются дистрофическим изменениям: в ранние сроки наблюдается деструкция плазмолеммы и кариолеммы, а к 5-м суткам увеличивается площадь десквамации эндотелия.

Выводы

1. Изменение функции эндотелия играет важную роль в развитии острого нарушения венозного оттока и острого тромбоза глубоких вен.
2. При экспериментальном моделировании острого нарушения венозного оттока и острого тромбоза глубоких вен выявляются ярко выраженные динамические изменения количества ЦЭК и содержания NO_2/NO_3 : в первые пять суток отмечается увеличение количества ЦЭК и содержания NO_2/NO_3 , с последующим их снижением к 15 суткам.
3. Отмечаются также динамические структурные изменения эндотелия вен при экспериментальном моделировании венозного тромбоза.
4. Определение концентрации продуктов деградации монооксида азота, малоново-

го диальдегида, числа циркулирующих эндотелиоцитов может служить дополнительным диагностическим критерием для оценки тяжести патологического процесса при остром нарушении венозного оттока и остром тромбозе глубоких вен.

Литература

1. Баешко, А. А. Послеоперационный тромбоз глубоких вен нижних конечностей и тромбоз легочной артерии / А.А. Баешко. - М., 2000. - 136 с.
2. Профилактика и лечение тромбоза глубоких вен: учеб. - метод. пособие : / авт. - сост. М.Т. Воевода, А.А. Баешко - Минск : Белпринт, 2006. - 48 с.
3. Флебология: руководство для врачей / Савельев В.С., [и др.]; под ред. В.С. Савельева. - М.: Медицина, 2001. - 664 с.
4. Суджаева, С.Г. Тромбоз легочной артерии. / С.Г. Суджаева. - Минск: Белпринт, 2004. - 128 с.
5. Stein, P.D. Acute pulmonary embolism / P.D. Stein // Dis. Mon. - 1994. - Vol. 40. - P. 467-523.
6. Константинова, Г.Д. Флебология. / А.Р. Зубарев, Е.Г. Градусов. - М.: Издательский дом Видар, - 2000. - 160 с.
7. Zanetti, M. Expression and function of recombinant endothelial nitric oxide synthase in human endothelial cells / M. Zanetti, Z.S. Katusic, T. O'Brien // J. Vasc. Res. - 2000. - Vol. 37, № 6. - P. 449-456.
8. Michiels, C. Interactions between endothelial cells and smooth muscle cells after their activation by hypoxia. A possible etiology for venous disease / C. Michiels, T. Arnould, D. Janssens // Int. Angiol. - 1996. - Vol. 15, № 2. - P. 124-130.
9. Michiels, C. Endothelial cell reponses to hypoxia: initiation of a cascade of cellular interactions / C. Michiels, T. Arnould, J. Remabe // J. Biophim. Biophys. Acta. - 2000. - Vol. 1497, № 1. - P. 1-10.
10. Баркаган, З.С. Основы диагностики нарушений гемостаза. / З.С. Баркаган, А.П. Момот. - Москва, 1999. - 246 с.
11. Количество циркулирующих эндотелиоцитов и базальный уровень NO кровеносных сосудов у пациентов с хронической венозной недостаточностью / А.Н. Косинец [и др.] // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: сб. тр. II-ой международной научно-практической конференции / Витебск. гос. мед. ун-т. - Витебск, 2002 г. - С. 175-179.
12. Концентрация стабильных продуктов деградации NO и число циркулирующих эндотелиоцитов как дополнительный диагностический критерий для оценки тяжести венозной патологии / С.А. Сушков [и др.] // Дисфункция эндотелия: сб. тр. 3-ей международной научно-практической конференции / Витебск. гос. мед. ун-т. - Витебск, 2004. - С. 247-251.
13. Зубарев, А.Р. ультразвуковая диагностика заболеваний вен нижних конечностей / А.Р. Зубарев, В.Ю. Богачев, В.В. Митьков. - Москва: Видар, 1999. - 104 с.
14. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiologia bohemoslovaca. - 1978. - Vol. 27. - P. 400.
15. Модифицированный метод определения NO₃ и NO₂ с помощью цинковой пыли в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И.С. Веремей [и др.] // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: сб. тр. республиканской научно-практической конференции / Витебск. гос. мед. ун-т. - Витебск, 2000. - С. 112-115.
16. Гаврилов, В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. - 1998. - № 2. - С. 60-64.

Поступила 15.02.2007 г.
Принята в печать 20.06.2007 г.

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ IgG ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ КОЖНОМ ПСОРИАЗЕ, ПСОРИАТИЧЕСКОЙ ОНИХОДИСТРОФИИ И АРТРОПАТИЧЕСКОМ ПСОРИАЗЕ

КУНДЕР Е.В., ЛИТВЯКОВ А.М., ЗЫКОВА О.С., ГЕНЕРАЛОВ И.И., ВОЛКОВА М.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. В статье приводятся результаты обследования больных с различными клиническими формами псориаза (изолированным кожным псориазом, псориатической ониходистрофией и артропатическим псориазом) на наличие каталитической активности препаратов поликлональных иммуноглобулинов G, выделенных из сыворотки крови. Исследовалась абзимная деполимеризующая (ДНК-азная и БАПНА-амидазная) и оксидоредуктазная (супероксиддисмутазная) активность. Выполнены эксперименты, подтверждающие принадлежность изучаемых видов активностей непосредственно препаратам иммуноглобулинов, выделенных из крови больных и доноров крови. Установлено, что уровни ДНК-азной, БАПНА-амидазной и супероксиддисмутазной активности при различных клинических формах псориаза достоверно превышают аналогичные показатели у доноров. Полученные величины различных уровней каталитической активности были сопоставлены с клиническими данными и результатами лабораторного и инструментального обследования пациентов. Результаты проведенного исследования доказывают роль абзимов в патогенезе изучаемых заболеваний, а также могут служить основой для разработки новых иммунологических критериев их диагностики.

Ключевые слова: псориаз, псориатическая ониходистрофия, псориатическая артропатия, поликлональные IgG, абзимная активность.

Abstract. The results of polyclonal IgG catalytic activity assessment in patients with different clinical variants of psoriasis (isolated skin psoriasis, onychodystrophy and psoriatic arthropathy) are summarized in this work. The DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities of IgG were evaluated. We performed the experiments that proved the abzyme activity to be the essential quality of polyclonal IgG derived from patients' and blood donors' sera. The levels of DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities were significantly higher in patients with different clinical variants of psoriasis in comparison with those in healthy controls. The received values of DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities levels were compared with some clinical and laboratory findings. The detection of high IgG catalytic activities levels in patients with psoriasis confirms autoimmune origin of this disease and proves the role of abzymes in the pathogenesis of the studied diseases. The evaluation of catalytic activity levels may have additional diagnostic significance.

Псориаз представляет собой хронический рецидивирующий папулезный дерматоз мультифакториальной природы, который характеризуется гиперпролиферацией и нарушением дифференцировки эпидермоцитов, воспалительной реакцией дермы. Псориаз относится к группе наиболее распространенных в популяции дерматозов и имеет внушительный удельный вес в структуре дер-

матологической заболеваемости. Клиническая картина поражения кожного покрова при псориазе разнообразна. За медицинской помощью к врачу-дерматовенерологу обращаются, как правило, больные с распространенным и диссеминированным, а также часто рецидивирующим поражением кожи, которое в свою очередь может иметь различные клинические варианты: обыкновенный, экссудативный, эритродермический, пустулезный, каплевидный и другие. Однако клиника псориаза не ограничивается только лишь поражением кожного

Адрес для корреспонденции: 10023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра госпитальной терапии. - Кундер Е.В.

покрова. В настоящее время в клинической и научной ревматологии по-прежнему является актуальной проблема псориатического артрита в разделе воспалительных поражений опорно-двигательного аппарата в группе серонегативных артритов. По данным Gladman D.D. [12], распространенность поражения суставов при псориазе колеблется от 13,5% до 47%. Широко известно поражение ряда внутренних органов и систем при псориазе. В этой связи псориаз является заболеванием, который не только существенно ухудшает качество жизни пациента, но и нередко является инвалидизирующим состоянием.

В настоящее время считается, что причиной возникновения и развития псориаза являются как генетические, так и средовые факторы [15]. Наряду с наличием в геноме ряда характерных антигенов гистосовместимости, у больных псориазом установлен ряд иммунологических сдвигов: активация Т-лимфоцитов, изменение продукции многочисленных цитокинов – регуляторов воспаления, Т- и В-клеточного иммунного ответа, интерлейкинов – регуляторов саногенеза [18]. Установлено наличие специфических изменений сосудов микроциркуляторного русла [9]. В реализации патогенетических факторов заболевания большую роль могут играть травмы, инфекции, стрессовые ситуации, особенности профессиональной деятельности и другие внешнесредовые воздействия [11].

Согласно современным представлениям псориаз рассматривается как системное аутоиммунное заболевание, при котором происходят нарушения клеточного и гуморального иммунитета [18], что сопровождается образованием большого спектра иммунных комплексов и аутоантител. При псориазе и псориатическом артрите изучается содержание антиперинуклеарных антител [15], антител к глиадину [5], отмечено повышение уровней IgA антител к цитокератину 18 и эпидермальному кератину [13].

При артропатическом псориазе выявлены такие аутоантитела, как антинуклеарные (14%), антитела к двухспиральной ДНК (3%), антитела к РНП (1%) [14], антиперинуклеарные антитела [7].

Несмотря на достигнутые успехи, нельзя определить те аутоантитела, которые были бы специфичны и могли бы стать определяющими иммунологическим и маркерами различных клинических форм псориаза и псориатического артрита. До настоящего времени при данном заболевании остаются неизученными некоторые свойства антител, а именно каталитическая активность, существование которой доказано при разнообразной аутоиммунной патологии [3].

Целью настоящей работы являлась оценка роли каталитических антител в патогенезе псориаза и возможность использования абзимной активности для иммунологической диагностики данного заболевания.

Методы

Обследована группа больных псориазом в количестве 39 человек, из которых мужчин было 34 (87%), женщин – 5 (13%). Средний возраст всех обследованных пациентов составил $36,95 \pm 2,14$ лет, мужчин – $36,8 \pm 2,26$, женщин – $38 \pm 7,15$ лет.

Группу больных с установленным диагнозом артропатического псориаза из 18 человек составили 3 женщины (17%) и 15 мужчин (83%) в возрасте от 30 до 59 лет. Средний возраст в группе составил $44,79 \pm 2,02$ года. Стаж псориаза колебался от 8 до 39 лет и в среднем составил $20,63 \pm 2,06$ года. Обыкновенная клиническая форма псориаза установлена у 7 пациентов, что составило 37%. У 63% больных диагностированы особые и осложнённые клинические формы поражения кожи: крупнобляшечная – у 1, экссудативная – у 2, экссудативная крупнобляшечная – у 4, субэритродермическая – у 2 пациентов (в том числе у 1 больного – с ладонно-подошвенным пустулёзом), эритродермическая – у 1, лентикулярная – у 1 больного. Значения индекса PASI варьировали от 4,8 до 70,8, составив в среднем $30,08 \pm 4,02$. У подавляющего большинства пациентов (84%) ониходистрофия развивалась на фоне кожного синдрома в среднем через $12,21 \pm 2,6$ года. Наиболее часто регистрировались дефекты типа «масляных пятен» и пунтиформные, наряду с которыми встречались

койлонихии, гипертрофия в дистальных зонах, продольная исчерченность и шелушение поверхности, а также очаговые дефекты, напоминающие поверхностные перфорации или расслоение ногтевых пластин. Появление болей в суставах 15 пациентов группы отметили в сроки от 9 и до 23 лет после появления первых признаков поражения ногтей (в среднем – через $3,06 \pm 2,06$ лет). У 3 больных боли в суставах предшествовали изменению ногтевых пластин на 2-9 лет. У 3 больных со стадией «кожного» псориаза признаки ониходистрофии и артралгии возникли синхронно. У 15 больных (84%) артралгии возникали в сроки от 1 до 35 лет после появления папул. У всех больных установлена синовиально-костная форма поражения суставов с минимальной (16 больных) или умеренной (2 больных) активностью 1-2 степени и 0-1 степенью нарушения функции, в том числе у 14 – полиартритическая, у 4 – олигоартритическая. Из них у 3 больных (16%) установлена рентгенологически подтверждённая безболевого форма артропатии на фоне распространённого поражения кожи и ногтевых пластин.

В группу больных псориазом с псориазической ониходистрофией вошли 9 мужчин в возрасте от 18 до 63 лет ($41,1 \pm 4,66$ года) с длительностью псориаза от 1 до 32 лет ($12,00 \pm 3,57$ лет). Обыкновенный псориаз установлен у 3 больных (37%), у остальных пациентов (63%) – экссудативный, экссудативный крупнобляшечный, интертригинозный и крупнобляшечный, каплевидный, себорейный, себорейный в сочетании с обыкновенным. Ногти были поражены по типу «масляного пятна» и пунктиформно, иногда в сочетании с гипертрофией дистальных зон на нижних конечностях или исчерченностью и шелушением. У одного больного установлено наличие единичных петехий. Ониходистрофия развивалась на фоне поражения кожи у 4 больных (55%), одновременно с ним – у 2 (22,5%), предшествовала таковому у 2 больных (22,5%). На умеренные непостоянные боли в суставах коленей и кистей жаловались 2 больных, у которых рентгенологически обнаружены явления остеоартроза и посттравматические изменения соответственно.

Группу больных с изолированным псориазом составили 12 пациентов – 10 мужчин и 2 женщины в возрасте от 18 до 38 лет ($22,69 \pm 1,63$ года). У 5 больных (38%) псориаз был выявлен впервые, у остальных длительность заболевания составляла от 1 до 15 лет. Средний возраст пациентов в группе – $22,69 \pm 1,63$ года. У большинства пациентов (9 больных или 70%) диагностирован обыкновенный псориаз, у остальных – соответственно лентикулярный, каплевидный, себорейный, себорейный в сочетании с обыкновенным псориазом.

Контрольной группой послужили 39 доноров Витебской областной станции переливания крови, из которых мужчин было 23 (59%), женщин – 16 (41%). Средний возраст доноров составил $37 \pm 1,38$ лет, мужчин – $36,4 \pm 1,88$ лет, женщин – $38,6 \pm 1,86$ лет.

Материалом для исследования послужили IgG подклассов 1, 2 и 4. Препараты поликлональных иммуноглобулинов получали из сыворотки крови больных и доноров комбинированным риванол-аффиннохроматографическим методом [2]. Концентрацию белка в препарате определяли спектрофотометрически на длине волны 280 нм. Контроль чистоты полученных иммуноглобулинов проводили с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в системе буферов по Laemmli с использованием 10% или 12% разделяющего геля в присутствии додецилсульфата натрия по методам, изложенным в [2].

Изучались следующие виды абзимной активности: деполимеризующая (ДНК-азная и БАПНА-амидазная) и окислительно-восстановительная (супероксиддисмутазная (СОД)). Постановка реакций ДНКазной, БАПНА-амидазной и СОД активностей осуществлялась согласно методикам, разработанным и апробированным нами при оценке абзимной активности у больных с различной аутоиммунной патологией [2,3,4].

Величины ДНК-азной активности выражали в баллах, при этом сгусток ДНК оценивался как 0 баллов; рыхлый сгусток – 1 балл; рыхлый сгусток, хлопья, нити – 2 балла; хлопья, нити – 3 балла; хлопья, нити, распад – 4 балла; полный распад – 5 баллов.

Уровни СОД активности выражали в условных единицах (УЕ), БАПНА-амидазной – в единицах оптической плотности (ЕОП). Результаты определения абзимной активности выражали следующим образом:

для СОД реакции формула расчета активности имела следующий вид:

$$A = (E_k - E_o) / E_k * 100\%,$$

где А - активность препарата, Ек - средняя оптическая плотность контрольных проб, Ео - средняя оптическая плотность опытных проб.

для БАПНА-амидазной реакции формула расчета активности имела следующий вид:

$$A = E_o - E_k,$$

где А - активность препарата, Ек - средняя оптическая плотность контрольных проб, Ео - средняя оптическая плотность опытных проб.

Для обработки результатов использовались параметрические (Стьюдента) и непараметрические (Манна-Уитни) критерии статистики.

Результаты и обсуждение

Результаты определения абсолютных уровней и частот встречаемости каталитической активности антител при различных клинических формах псориаза представлены в таблицах 1-2.

Таким образом, у больных с различными клиническими формами псориаза уровни

и частоты встречаемости каталитической активности поликлональных иммуноглобулинов достоверно превышают аналогичные показатели у здоровых лиц. ДНКазная активность у больных артропатическим псориазом превышает донорские значения в 14 раз, у пациентов с ониходистрофией – в 18 раз, у лиц с изолированным кожным псориазом – в 11,5 раза. Уровень ДНК-азной активности у пациентов с ониходистрофией достоверно ($p < 0,05$) отличается от величины данной активности у больных артропатическим и изолированным кожным псориазом ($3,55 \pm 0,31$; $n=9$ по сравнению с $2,77 \pm 0,2$; $n=18$ и $2,2 \pm 0,39$; $n=12$ соответственно).

Выявление высоких значений ДНК-азной активности антител подтверждает представление о псориазе как о прогрессирующем системном аутоиммунном заболевании, при котором наблюдаются выраженные иммунопатологические сдвиги. Принимая во внимание данные о выявлении при псориазе антинуклеарных антител, антител к двухспиральной ДНК, к РНП, а также антиперинуклеарных антител, нельзя исключить, что абзимы с ДНКазной активностью, появляясь на ранних этапах заболевания, имеют приспособительное значение, разрушая избыток нуклеиновых кислот, появляющихся в процессе цитолиза. На дальнейших этапах развития заболевания обладающие ДНК-азной активностью антите-

Таблица 1

Уровни абзимной активности у обследованных больных

Виды каталитической активности	ДНК-азная активность, баллы	БАПНА-амидазная активность, ЕОП	СОД активность, УЕ
Все обследованные больные	$2,78 \pm 0,21$; $n=39$ ($p < 0,001$)	$0,019 \pm 0,0025$; $n=39$ ($p < 0,05$)	$12,6 \pm 1,27$; $n=39$ ($p < 0,001$)
Пациенты с артропатическим псориазом	$2,77 \pm 0,2$; $n=18$ ($p < 0,001$)	$0,022 \pm 0,0045$; $n=18$ ($p < 0,05$)	$11,24 \pm 1,94$; $n=18$ ($p < 0,001$)
Пациенты с псориазической ониходистрофией	$3,55 \pm 0,31$; $n=9$ ($p < 0,001$)	$0,014 \pm 0,0043$; $n=9$ ($p > 0,05$)	$14,1 \pm 3,19$; $n=19$ ($p < 0,001$)
Пациенты с изолированным кожным псориазом	$2,2 \pm 0,39$; $n=12$ ($p < 0,001$)	$0,019 \pm 0,0034$; $n=12$ ($p < 0,05$)	$13,52 \pm 1,88$; $n=12$ ($p < 0,001$)
Здоровые лица	$0,19 \pm 0,0725$; $n=39$	$0,01 \pm 0,0009$; $n=39$	ИГ не влияют на дисмутацию супероксида

Таблица 2

Частоты встречаемости абзимной активности у обследованных больных

Виды каталитической активности	ДНК-азная активность	БАПНА-амидазная активность	СОД активность
Все обследованные больные	87,18%±0,054; n=39 (p<0,001)	64%±0,078; n=39 (p<0,05)	69,2%±0,075; n=39 (p<0,001)
Пациенты с артропатическим псориазом	88,9%±0,076; n=18 (p<0,001)	66,7%±0,114; n=18 (p<0,05)	66,7%±0,114; n=18 (p<0,001)
Пациенты с псориатической ониходистрофией	100%±0,0001; n=9 (p<0,001)	55,6%±0,175; n=9 (p<0,05)	66,7%±0,167; n=19 (p<0,001)
Пациенты с изолированным кожным псориазом	75%±0,13; n=12 (p<0,001)	83,3%±0,112; n=12 (p<0,001)	75%±0,13; n=12 (p<0,001)
Здоровые лица	5,13%±0,036; n=39	12,8%±0,054; n=39	19%±0,067; n=36

ла могут оказывать непосредственное повреждающее воздействие на ткани, реализуя свои цитотоксические эффекты. Кроме того, фрагменты антител могут достигать ядра клетки и, связываясь с нуклеопротеидами, непосредственно влиять на внутриклеточный метаболизм. Существует также версия о том, что каталитические антитела могут регулировать клеточное развитие, участвуя в процессах апоптоза, что особенно интересно, принимая во внимание нарушения апоптотического процесса, происходящие при псориазе и являющиеся одной из причин гиперпролиферации в эпидермисе [1].

БАПНА-амидазная активность при изученных клинических формах псориаза хоть и достоверно отличается от значений у здоровых лиц, однако демонстрирует однообразные и достаточно низкие значения, вследствие чего, на наш взгляд, не может претендовать на диагностическую значимость до проведения дальнейших экспериментов.

Что касается окислительно-восстановительной активности, то прежде всего надо упомянуть о результатах многочисленных исследований, доказывающих значительные нарушения в окислительной и противокислительной системе при псориазе [16]. Обнаружено повышение функциональной активности Mn-SOD, а также Cu, Zn-SOD в фибробластах кожи, пораженной псориатической процес-

сом [8], выявлены высокие уровни сывороточной каталазной активности в крови пациентов, снижение уровней СОД и глутатионпероксидазы в эритроцитах, а также каталазной активности в эритроцитах [6].

Обнаружено снижение СОД активности в клетках кожи [17] и в полиморфноядерных лейкоцитах [10].

У обследованных больных нами выявлена супероксиддисмутазная активность иммуноглобулинов, на порядок превышающая донорские уровни. Антитела, обладающие СОД активностью, могут являться акцептором свободных кислородных радикалов, осуществляя торможение перекисного окисления липидов и белков. Следовательно, данные абзимы способны защитить клетку от свободно радикального повреждения. Вероятно, при псориазе СОД активность имеет протективное значение, разрушая избыточное количество супероксида. Основными источниками супероксидных радикалов являются лейкоциты в процессе фагоцитоза, цепи переноса электронов (митохондрии), некоторые флавиносодержащие оксидоредуктазы, а также процессы автоокисления белков и метаболитов. При разнообразной патологии (в том числе и при псориазе) увеличение активности СОД может рассматриваться как защитный противовоспалительный механизм. В настоящее время создан ряд лекарственных препаратов, содержа-

щих СОД, причем некоторые исследователи характеризуют данный фермент как возможную альтернативу глюкокортикоидным гормонам.

Таким образом, анализ уровней ДНК-азной, БАПНА-амидазной и СОД абзимной активности обнаруживает новые, ранее не изученные закономерности действия каталитических антител при псориазе, указывает на наличие у антител, кроме традиционного патогенетического значения, дополнительных регуляторных функций, модулирующих гомеостатические процессы, происходящие в организме при хроническом воспалительном процессе. Результаты проведенного исследования абзимной активности создают новые возможности для лабораторной диагностики псориаза (в частности с использованием методов определения ДНКазной и супероксиддисмутазной активности).

Заключение

1. При различных клинических формах псориаза в крови пациентов определяются ДНК-азная, БАПНА-амидазная и супероксиддисмутазная активности, уровни и частоты встречаемости которых достоверно превышают донорские значения.

2. Величина ДНК-азной активности и СОД активности антител при псориазе более чем на порядок превышают уровни данной активности у здоровых лиц.

3. Наибольшие уровни ДНК-азной и СОД активности характерны для больных псориазом с поражением кожи, но без суставного синдрома.

Литература

- Антилевский, В.В. Морфофункциональная характеристика кожи больных псориазом / В.В. Антилевский, О.Д. Мяделец, В.В. Саларев // Актуальная дерматология / под общ. ред. проф. В.П. Адаскевича. – М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд. НГМА, 2000. – С. 133-153.
- Генералов, И.И. Абзимная активность иммуноглобулинов / И.И. Генералов. – Витебск, 2000. – 167с.
- Генералов, И.И. Поликлональные каталитические иммуноглобулины: причины появления, механизмы действия, патогенетическое и клиническое значение / И.И. Генералов // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2002. – №2. – С. 19-37.
- Генералов, И.И. Абзимная активность препаратов IgG у больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / И.И. Генералов, Е.В. Сидорская // Иммунология. – 1998. – №3. – С. 54-56.
- Рахматов, А.Б. Взаимоотношение между обычной и артропатической формами псориаза / А.Б. Рахматов, Ш.И. Ибрагимов // Новости дерматологии и венерологии. – 1998. – №2. – С. 1-14.
- Activity of superoxide dismutase and catalase and the level of lipid peroxidation products reactive with TBA in patients with psoriasis / G. Drewa [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2002. – Vol.8. – P. 338-343.
- Calzavara-Pinton, P.G. Incidence of antiperinuclear factor in patients with psoriatic arthritis / P.G. Calzavara-Pinton, F. Franceschini, C. Manera // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – Vol. 455. – P. 215-220.
- Creamer, D. Angiogenesis in psoriasis / D. Creamer, D. Sullivan, R. Bicknell // Angiogenesis. – 2002. – Vol. 5. – P. 231-236.
- Differential regulation of Cu, Zn- and Mn-superoxide dismutases by retinoic acid in normal and psoriatic human fibroblasts // P. Gerbaud [et al.] // J. Autoimmun. – 2005. – Vol.24. – P. 69-78.
- Dogan, P. Superoxide dismutase and myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes, and serum ceruloplasmin and copper levels, in psoriasis / P. Dogan, U. Soyuer, G. Tanrikulu // Br. J. Dermatol. – 1989. – Vol. 120. – P. 239-244.
- Fearon, U. Pathogenesis of psoriatic arthritis // U. Fearon, D.J. Veale // Clin. Exp. Dermatol. – 2001. – Vol. 26. – P. 333-337.
- Psoriatic arthritis: epidemiology, clinical features, course, and outcome // D. D. Gladman [et al.] // Ann Rheum Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 1114-1117.
- Helliwell, P.S. Classification and diagnostic criteria for psoriatic arthritis / P.S. Helliwell, W.J. Taylor // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 113-118.
- Johnson, S.R. Autoantibodies in biological agents naive patients with psoriatic arthritis / S.R. Johnson, C.T. Schentag, D.D. Gladman // Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64, №5. – P. 770-772.
- Mease, P. Diagnosis and treatment of psoriatic arthritis / P. Mease, B.S. Goffe // J. Am. Acad. Dermatol. – 2005. – Vol. 52, №1. – P. 1-19.
- Oxidant / antioxidant status in patients with psoriasis / K. Baz [et al.] // Yonsei Med. J. – 2003. – Vol.44. – P. 987-990.
- Superoxide dismutase in psoriasis, squamous cell carcinoma and basal cell epithelioma: an immunohistochemical study / T. Kobayashi [et al.] // Br J. Dermatol. – 1991. – Vol.124, №6. – P. 555-559.
- Veale, D.J. Immunopathology of psoriatic arthritis / D.J. Veale, C. Ritchlin // Ann. Rheum Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 2126-2129.

Поступила 07.12.2006 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

**ИЗУЧЕНИЕ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ,
ОБУСЛОВЛЕННОЙ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ, В СОПОСТАВЛЕНИИ
С РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ НОСИТЕЛЬСТВА АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ
CHLAMYDIA PNEUMONIAE, HELICOBACTER PYLORI, HERPES SIMPLEX VIRUS**

ЩУПАКОВА А.Н., ЛАГУТЧЕВ В.В., КОНЕВАЛОВА Н.Ю.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Обследовано 152 больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей, клинически проявляющимся хронической абдоминальной ишемией, в возрасте $53,2 \pm 5,72$ года и 20 практически здоровых лиц, средний возраст $49 \pm 4,6$ года. Всем выполнено определение антител к *C. pneumoniae*, *H. pylori* и *V. herpes simplex*, исследование липидного состава сыворотки крови. Произведен кластерный и дискриминантный анализ холестеринového профиля обследованных.

Полученные результаты свидетельствуют, что у больных хронической абдоминальной ишемией с серопозитивной реакцией на АТ к *C. pneumoniae* имеет место нарушение прямого транспорта холестерина, у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *H. pylori* имеет место нарушение прямого и обратного транспорта холестерина.

Наименьшие отличия холестеринového профиля сыворотки крови по уровню общего ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП от здоровых лиц и от больных хронической абдоминальной ишемией с серонегативной реакцией на АТ к *C. pneumoniae*, *H. pylori*, *H. simplex virus* имеют больные с серопозитивной реакцией на АТ только к вирусу простого герпеса.

Ключевые слова: атеросклероз, хроническая абдоминальная ишемия, *C. pneumoniae*, *H. pylori*, *H. simplex virus*, холестеринový профиль, кластерный, дискриминантный анализ.

Abstract. We examined 152 patients at the age of $53,2 \pm 5,72$ with atherosclerosis of abdominal aorta and its unpaired visceral branches clinically shown as chronic abdominal ischemia and 20 practically healthy persons, whose middle age was $49 \pm 4,6$ years. In all of them antibodies to *C. pneumoniae*, *H. pylori* and *V. herpes simplex* were determined, lipids structure of blood serum was investigated. Cluster and discriminant analyses of cholesterol structure of the examined persons were made.

The received results evidence, that in patients with chronic abdominal ischemia with positive reaction of AT to *C. pneumoniae* the disturbance of cholesterol direct transport takes place, in patients with positive reaction of AT to *H. pylori* the disturbance of direct and return transport of cholesterol takes place.

According to the level of total cholesterol, HDL cholesterol, VLDL-cholesterol from healthy persons and from patients with chronic abdominal ischemia with negative reaction of AT to *C. pneumoniae*, *H. pylori*, *H. simplex virus* patients with positive reaction of AT only to herpes simplex virus have the slightest differences in cholesterol structure of blood serum.

Адрес для корреспонденции: 2210023, Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра госпитальной терапии. – Щупакова А.Н.

Известно, что общепризнанные факторы риска атеросклероза, такие, как гиперлипидемия, гипертензия, курение, гипергликемия, ожирение, гиподинамия и отягощенная наследственность, лишь частично позволяют объяснить механизмы атерогенеза. Атеросклероз может развиваться и при отсутствии указанных условий [11].

В недавних исследованиях установлено, что атеросклероз подобен хроническому воспалительному процессу [2, 16]. На протяжении последнего столетия на роль возможного связующего звена между воспалением и процессами атерогенеза предлагались различные возбудители инфекции, в том числе стрептококки, вирус Коксаки, микоплазмы, аденовирус, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, легочная хламидия и др. Наибольшее число доказательств причинной связи с атеросклерозом имеется для *Chlamydia pneumoniae* (*C.pn*), *Helicobacter pylori* (*HP*), *Herpes simplex virus* (*HSV*) [8, 12-15, 18]. Более того, эксперименты *in vitro* и *in vivo* позволяют объяснить вероятные патофизиологические механизмы усиления под действием этих инфекционных агентов локального отложения липидов.

По мнению ряда авторов, хроническая инфекция *C.pn* изменяет липидный профиль крови больных путем увеличения концентрации в сыворотке крови триглицеридов и общего холестерина (ОХС), снижения уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и отношения ХС ЛПВП к ОХС [6, 14].

Некоторые авторы отмечают, что у пациентов с сероположительной реакцией к *HP* имеют место выраженные изменения профиля липидов в крови, проявляющиеся увеличением содержания триглицеридов и общего холестерина [14]. Вместе с тем отдельные авторы не находят отчетливой связи даже между инфицированием *HP* и повышенным уровнем общего холестерина, фибриногена, СРБ [10].

Установлены выраженные липидемические нарушения в виде повышения содержания общего холестерина, холестерина ли-

попротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), триглицеридов (ТГ) при офтальмогерпесе [1].

Висцеральный атеросклероз возникает латентно у молодых людей 20-25 лет, формируя с возрастом синдром хронической абдоминальной ишемии (ХАИ). Данные об особенностях функции липидтранспортной системы у больных с атеросклерозом брюшной аорты и непарных висцеральных артерий немногочисленны и противоречивы [3, 5]. Ранее нами была установлена возможная роль *C.pn*, *HP*, *HSV* в формировании атеросклероза брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей у больных ХАИ.

Учитывая приведенные обстоятельства целью нашего исследования было установить особенности холестерина профиля сыворотки крови у больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей, клинически проявляющимся хронической абдоминальной ишемией, в сопоставлении с распространенностью носительства антител к антигенам *C.pn*, *HP*, *HSV*.

Методы

В исследование включили 152 больных ХАИ (68 мужчин и 84 женщины) в возрасте от 40 до 60 лет (средний возраст $53,2 \pm 5,72$ лет), у которых по результатам комплексного обследования с учетом анамнестических, клинических, лабораторных, инструментальных методов диагностирована ХАИ. У всех больных периодически возникали приступы болей в животе, в эпигастрии или неопределенной локализации, связанные с приемом пищи, физической нагрузкой. Боли не купировались приемом спазмолитиков, блокаторов протоновой помпы, несколько ослабевали после приема нитратов, антагонистов кальция. 67 человек страдали ИБС (стенокардия напряжения II-III ФК), 56 - артериальной гипертензией II-III степени, 11 - облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей. Все больные хронической абдоминальной ишемией имели эхоангиографические признаки атеросклероза артерий брюшной полости. Контрольная группа состояла из 20 практически здоровых лиц (12 мужчин, 8 женщин), средний возраст $49 \pm 4,6$ года.

Всем выполнено исследование липидного состава сыворотки крови. Материалом для исследования явилась сыворотка крови, полученная после 12-часового голодания. Для определения содержания ОХС, ХС ЛПВП, ТГ использовались ферментные наборы и полуавтоматический спектрофотометр фирмы «Cormau». В присутствии ионов марганца методом преципитации гепарином получали липопротеины высокой плотности и определяли содержание холестерина в них. Стандартными расчетными методами определяли количество холестерина ХС ЛПНП, холестерина на липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП).

Определение специфических антител (АТ) к отдельным возбудителям инфекции проводили иммуноферментным методом: АТ класса *IgM* и *IgG* к антигенам *C.pn* (тест-системы «ХламиБест-IgG», «ХламиБест-IgM» ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), суммарные АТ к АГ *HP* (тест-система ХеликоБест-антитела», ЗАО «Вектор-Бест» Новосибирск), АТ класса *IgM* к антигенам герпеса 1 типа и 2 типа (тест система HSV1 IgM и HSV2 IgM, Sentinel, Италия), АТ к вирусам простого герпеса 1 и 2 типа («Герпес-скрин», «Биосервис», Россия).

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием прикладных программ «Statistica 6,0». Использованы были следующие методы: описательная статистика, расчет коэффициента корреляции Пирсона, дискриминантный анализ, кластерный анализ.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований антихламидийные АТ класса *IgM* были выяв-

лены лишь у 12 (7,9%) больных ХАИ. При этом титр антихламидийных АТ 1:100 был обнаружен у 7 человек, 1:200 - у 3; 1:400 - у 2 больных ХАИ. Антихламидийные антитела класса *IgG* зарегистрированы у 65 (42,8%) больных ХАИ, что может отражать серологический ответ на перенесенную в прошлом инфекцию. При этом титр антител к *C.pn* 1:5 был обнаружен у 7, 1:10 - у 24, 1:20 - у 25; 1:40 - у 6, 1:80 - у 3 больных ХАИ.

В результате проведенных исследований повышенные титры антител к *HP* обнаружены у 73 из 152 обследованных больных ХАИ. При этом титр антител к *HP* у больных ХАИ 1:10 был обнаружен у 9, 1:20 - у 36, 1:40 - у 7, 1:80 - у 13, 1:160 - у 5, 1:320 - у 3 больных ХАИ.

В результате проведенных исследований антихламидийные АТ класса *IgM*, служащие маркером острой стадии инфекции, в контрольной группе обнаружены не были. Наличие АТ класса *IgG* было зарегистрировано у 2 (10%) здоровых лиц, что может отражать серологический ответ на перенесенную в прошлом инфекцию. Титр антител класса *IgG* к *C. pneumoniae* 1:10–1:20 оказался у 3 человек, 1:40 у – 1. Повышенные титры антител к *H. pylori* были обнаружены только у 4 (20%) из здоровых людей. При этом титр антител к *H. pylori* 1:10–1:20 был обнаружен у 3 (15%) человек, 1:40–1:80 – у 1 (5%). Антитела к Herpes simplex virus 1 типа обнаружены у 13 (65%) здоровых лиц, антитела к Herpes simplex virus 2 типа – у 10 (50%) человек. У 5 (25%) человек не было выявлено антител к вирусу простого герпеса. Антитела одновременно к двум типам вируса простого герпеса были выявлены у 8 (40%).

Таблица 1

Липидный состав сыворотки крови у больных ХАИ в зависимости от наличия антител к *C. pneumoniae*

Показатель, (ммоль/л)	Больные с серопозитивной реакцией на АТ к <i>C. pneumoniae</i> n=65	Больные с серонегативной реакцией на АТ к <i>C. pneumoniae</i> n=87	<i>P</i>
ОХС	6,72±1,6	5,9±1,16	<i>p</i> <0,01
ХС ЛПНП	4,55±1,58	3,66±1,0	<i>p</i> <0,001
ХС ЛПВП	1,17±0,15	1,27±0,31	<i>P</i> >0,05
ТГ	2,14±1,14	2,15±1,45	<i>P</i> >0,05

Антитела к *HSV 1* типа (*HSV-1*) были обнаружены у 122 (80,3%) из 152 больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей, АТ к *HSV 2* тип (*HSV-2*) - у 101 (66,4%) больных. АТ одновременно к двум типам вируса простого герпеса были выявлены у 93 (61,2%) больных ХАИ. Только у 19 больных ХАИ не было выявлено АТ к *HSV*. С целью диагностики первичной герпетической инфекции сыворотку исследовали на содержание АТ класса IgM к *HSV-1* и *HSV-2*. АТ класса Ig M к *HSV-1* были обнаружены только в 7,9% случаев, к *HSV-2* в 4,6%. Клинических проявлений герпетической инфекции у обследованных больных ХАИ не было.

В группе здоровых людей показатели уровня общего ХС ($4,64 \pm 0,93$ ммоль/л), ХС ЛПНП ($2,75 \pm 0,82$ ммоль/л) ХС ЛПВП ($1,34 \pm 0,30$ ммоль/л), триглицеридов ($1,19 \pm 0,45$ ммоль/л) находились в пределах общепринятых показателей нормы.

При сопоставлении результатов исследования липидного состава сыворотки крови больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* (n=65) и больных ХАИ с серонегативной реакцией (n=87) были обнаружены достоверные различия в виде повышения уровня ОХС ($6,72 \pm 1,6$ ммоль/л против $5,9 \pm 1,16$ ммоль/л, $p < 0,01$) и ХС ЛПНП ($4,55 \pm 1,58$ ммоль/л против $3,66 \pm 1,0$ ммоль/л, $p < 0,001$) (табл. 1). В целом у больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* изменения липидного профиля сыворотки крови были зарегистрированы у 62 (95,4%) человек. При этом у 53 (81,5%) человек была гиперхолестеринемия, у 61 (93,8%) - гипербетапопротеинемия, у 27 (41,5%) - гипоальфахолестеринемия, у 24 (36,9%) - гипертриглицеридемия. О возможном влиянии хронической инфекции *C.pn* на изменение липидного профиля сыворотки крови указывают и другие авторы [4,14]. У больных ХАИ с серонегативной реакцией на АТ к *C.pn* группе изменения в липидном составе сыворотки крови были зарегистрированы у 74 (85,1%) больных. Однако при этом у 44 (50,5%) превалировала гипертриглицеридемия, у 37 (42,5%) -

гипоальфахолестеринемия. Вместе с тем реже, чем у больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*, встречалась гипербетахолестеринемия (74 (85,1% против 62 (95,4%), $p < 0,05$).

Обнаружена прямая корреляционная зависимость между уровнем ОХС и титром АТ класса IgM к *C.pn* $r = 0,15$ ($p < 0,05$), титром АТ класса IgG к *C.pn* $r = 0,17$ ($p < 0,03$).

Аналогичные данные получены в отношении ХС ЛПНП. Обнаружена положительная корреляционная зависимость между уровнем ХС ЛПНП и титром АТ класса IgM к *C.pn* $r = 0,15$ ($p < 0,04$), титром АТ класса IgG к *C.pn* $r = 0,17$ ($p < 0,03$).

При сопоставлении результатов исследования липидного состава сыворотки крови больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *HP* и больных ХАИ с серонегативной реакцией на АТ к *HP* нами были обнаружены достоверные различия ($p < 0,05$) в виде повышения уровня ТГ ($2,78 \pm 1,54$ ммоль/л против $1,59 \pm 0,70$ ммоль/л, $p < 0,0001$), снижения содержания ХС ЛПВП ($1,22 \pm 0,28$ ммоль/л против $1,35 \pm 0,28$ ммоль/л, $p < 0,005$), у больных ХАИ, носителей хеликобактерной инфекции в сравнении с больными с серонегативной реакцией на АТ (табл. 2). Это было обусловлено тем, что у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *HP* достоверно чаще встречалась гипертриглицеридемия (в 74% случаев против 31,6%, $p = 0,0003$), гипоальфахолестеринемия (в 50,7% случаев против 20,3%, $p < 0,004$). Некоторые авторы склонны объяснять повышенный риск ускоренного развития атеросклероза при наличии хронической инфекции именно гиперлипидемией [9].

Обнаружена отрицательная корреляционная зависимость между уровнем ХС ЛПВП в сыворотке крови и титром антител к *HP* $r = -0,21$ ($p < 0,01$). Данная корреляция сохранялась у лиц с уровнем ХС ЛПВП до 0,9 ммоль/л, $n = 17$ $r = -0,21$ ($p = 0,009$) и с уровнем ХС ЛПВП $> 0,9$, $n = 134$, $r = -0,20$ ($p = 0,02$).

Корреляции между уровнем холестерина и его фракций и инфицированием *HSV-1* и *HSV-2* у больных ХАИ обнаружено не было (табл. 3). Вместе с тем у больных ХАИ в сыворотке крови было повышенным содержание

Таблица 2

**Липидный состав сыворотки крови у больных ХАИ
в зависимости от наличия антител к *H.pylori***

Показатель, ммоль/л	Больные ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к <i>H.pylori</i> , n=73	Больные ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к <i>H.pylori</i> , n=79	<i>p</i>
ОХС	6,21 ± 1,04	6,09 ± 1,61	>0,5
ХС ЛПНП	4,01 ± 1,07	4,01 ± 1,51	1,0
ХС ЛПВП	1,22 ± 0,28	1,35 ± 0,28	<0,005
ТГ	2,78 ± 1,54	1,59 ± 0,70	<0,0001

Таблица 3

**Липидный профиль сыворотки крови у больных ХАИ
в зависимости от наличия антител к вирусу простого герпеса**

Показатель, (ммоль/л)	Больные с серонегативной реакцией на АТ к ВПГ, n=19	Больные с серопозитивной реакцией на АТ к ВПГ1, n=29	Больные с серопозитивной реакцией на АТ к ВПГ2, n=21	Больные с серопозитивной реакцией на АТ к ВПГ1 и ВПГ2, n=93
ОХС	6,14±1,49	6,46±1,44	5,38±1,04	6,13±1,52
ХС ЛПНП	4,00±1,46	4,22±1,32	3,50±0,81	3,91±1,31
ХС ЛПВП	1,16±0,29	1,18±0,33	1,23±0,24	1,23±0,29
ТГ	2,16±1,83	2,32±1,42	1,40±0,40	2,17±1,55

общего ХС (6,16±1,09 ммоль/л) за счет возрастания содержания холестерина в ЛПНП (4,06±0,99 ммоль/л), увеличения уровня ТГ (2,14±0,54 ммоль/л). Было обнаружено, что у больных ХАИ носительство *HSV-1*, *HSV-2* в сочетании с гиперлипидемией было ассоциировано с быстрым прогрессированием в 42,9% случаев. Некоторые авторы также склонны объяснять повышенный риск ускоренного развития атеросклероза при наличии хронической инфекции именно гиперлипидемией [9].

Для более детального анализа холестеринового состава сыворотки крови больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей, клинически проявляющимся ХАИ в зависимости от наличия серопозитивной реакции на АТ к *C.pn*, *HP*, *HSV*, был применен кластерный анализ с использованием интерактивного метода k-средних.

С этой целью 152 больных ХАИ, которым было проведено одновременное определение наличия повышенных титров АТ к *C.pn*, *HP*, *HSV*, и 20 здоровых лиц были разделены на группы. В первую группу вошло 20 практически здоровых лиц, во вторую -

37 больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV*, в третью - 6 человек с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*, в четвертую - 32 пациента с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и *C.pn*, в пятую - 5 обследованных с серопозитивной реакцией на АТ к *HP*, в шестую - 41 человек с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и *HP*, в седьмую - 4 больных с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* и *HP*, в восьмую - 23 пациента с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*, *HP* и *HSV*, в девятую - 4 человека с отрицательными результатами на наличие АТ к АГ всех указанных возбудителей.

В результате анализа было выделено 5 типов (кластеров) холестеринового профиля (рис.1). В первом кластере оказалось 12 человек с уровнем ОХС 6,3±0,64 ммоль/л, ХС ЛПНП - 2,96±0,71 ммоль/л, ХС ЛПВП - 0,92±0,2 ммоль/л, ХС ЛПОНП - 2,41±0,85 ммоль/л. В первом кластере холестериновый состав сыворотки крови соответствовал легкой гиперхолестеринемии.

Во 2 кластер вошло 54 пациента с уровнем ОХС 7,09±0,43 ммоль/л, ХС ЛПНП - 4,87±0,42 ммоль/л, ХС ЛПВП - 1,25±0,3 ммоль/л

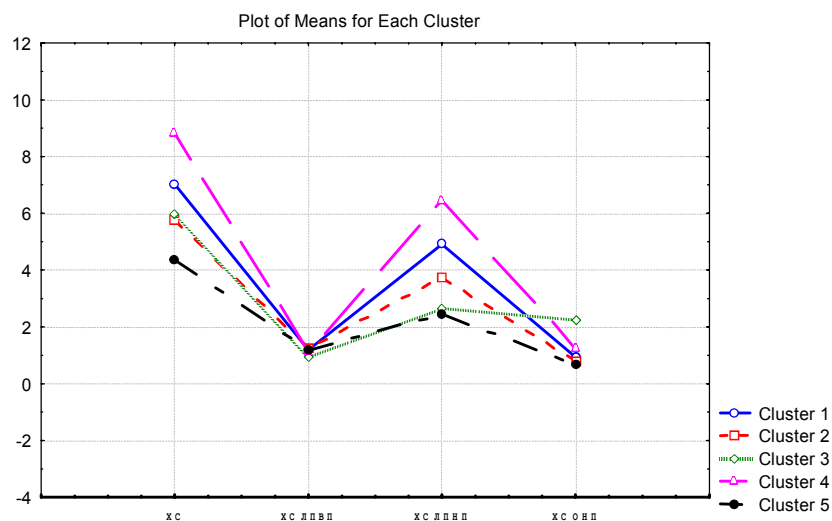


Рис.1. Выделенные кластеры по холестеринному профилю.

л, ХС ЛПОНП – $0,99 \pm 0,46$ ммоль/л. Данный холестеринный профиль соответствовал умеренной степени гиперхолестеринемии.

Третий кластер состоял из 8 обследованных с уровнем ОХС $9,47 \pm 1,67$ ммоль/л, ХС ЛПНП – $7,28 \pm 1,88$ ммоль/л, ХС ЛПВП – $1,16 \pm 0,17$ ммоль/л, ХС ЛПОНП – $1,00 \pm 0,3$ ммоль/л, что соответствовало высокой гиперхолестеринемии.

Четвертый кластер включал 60 человек с уровнем ОХС $5,75 \pm 0,4$ ммоль/л, ХС ЛПНП – $3,68 \pm 0,41$ ммоль/л, ХС ЛПВП – $1,24 \pm 0,28$ ммоль/л, ХС ЛПОНП – $0,83 \pm 0,27$ ммоль/л. Холестеринный профиль сыворотки крови в этом кластере соответствовал умеренной гипербетакхолестеринемии.

Пятый кластер объединил 38 человек с уровнем ОХС $4,25 \pm 0,57$ ммоль/л, ХС ЛПНП – $2,41 \pm 0,49$ ммоль/л, ХС ЛПВП – $1,27 \pm 0,26$ ммоль/л, ХС ЛПОНП – $2,41 \pm 0,48$ ммоль/л, липидный профиль соответствовал общепринятым показателям «нормы».

Первый кластер объединял показатели холестеринного профиля только шестой, седьмой, восьмой групп, ядро его составили показатели больных 6 группы – с серопозитивной реакцией на АТ к *HP* и *HSV* (66,7%) и 8 группы – больных с серопозитивной реакцией на АТ к трем возбудителям (25%), 8,3% – больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* и к *HP*. Остальные группы представлены не были.

Второй кластер в основном был представлен показателями холестеринного профиля больных ХАИ 6 группы (27,8%) с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и к *HP* (32,0%), 4 группы (22,2%) с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и *C.pn*, 8 группы (20,4%) – с серопозитивной реакцией на АТ к АГ всех трех возбудителей. Во 2 кластере оказалось 9,3% больных 2 группы и по 7,4% обследованных 1, 3 групп.

Третий кластер в подавляющем большинстве случаев (62,5%) объединял показатели холестеринного профиля обследованных 4 группы – больных с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* и *HSV*, а также по 12,5% больных 3 группы (с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*), 6 группы (с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и к *HP*), 8 группы (с серопозитивной реакцией на АТ к АГ всех трех возбудителей). Первая, вторая, пятая, седьмая, девятая группы в данном кластере представлены не были.

Четвертый кластер был представлен больными всех групп. Ядром его явились больные 2 группы с серопозитивной реакцией на АТ только к *HSV* (30%). Практически одинаково часто встречались показатели холестеринного профиля обследованных четвертой (20%) и шестой (23,3%) групп, в 10% случаев – больные с серопозитивной реакцией к трем возбудителям (8 группа).

Основу пятого кластера составил холестеринный профиль обследованных первой (36,8%) и второй (36,8%) групп. Одинаково часто (7,9%) в нем были представлены показатели пациентов четвертой, шестой групп. Не оказалось в пятом кластере холестеринного профиля больных с серопозитивной реакцией на АТ к АГ *C.pn* (3 группа), одновременно к *C.pn* и *HP* (7 группа).

Оценивая распределение больных различных групп по кластерам, можно было отметить, что наибольшее количество практически здоровых лиц (70%) имели холестеринный профиль, соответствующий общепринятым показателям «нормы». У 20% была умеренная гиперхолестеринемия, у 10% - умеренная гипербетахолестеринемия.

Среди обследованных больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* (2 группа) почти половина больных (48,6%) имели умеренную гипербетахолестеринемия и 36,8% холестеринный соответствовал общепринятым показателям «нормы». Только у 9,3% человек регистрировалась умеренная гиперхолестеринемия.

Больные с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* (3 группа) имели холестеринный профиль в большинстве случаев (66,7%), соответствующий второму кластеру (умеренная гиперхолестеринемия), по 16,7% - третьему (высокая гиперхолестеринемия) и четвертому кластеру (умеренная гипербетахолестеринемия). Холестеринный профиль соответствующий общепринятым показателям «нормы», легкую гиперхолестеринемия больные третьей группы не имели ни в одном из представленных случаев.

Больные с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и *C.pn* (4 группа) по 37,5% случаев имели холестеринный профиль, соответствующий умеренной гиперхолестеринемии, умеренной гипербетахолестеринемии, в 15,6% - высокую гиперхолестеринемия. В 9,4% случаев холестеринный профиль соответствовал общепринятым показателям «нормы».

У большинства (60%) больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *HP* (5 группа) была обнаружена умеренная гипербетахолестеринемия, одинаково часто (20%) у них

была умеренная гиперхолестеринемия, холестеринный профиль, соответствующий общепринятым показателям «нормы».

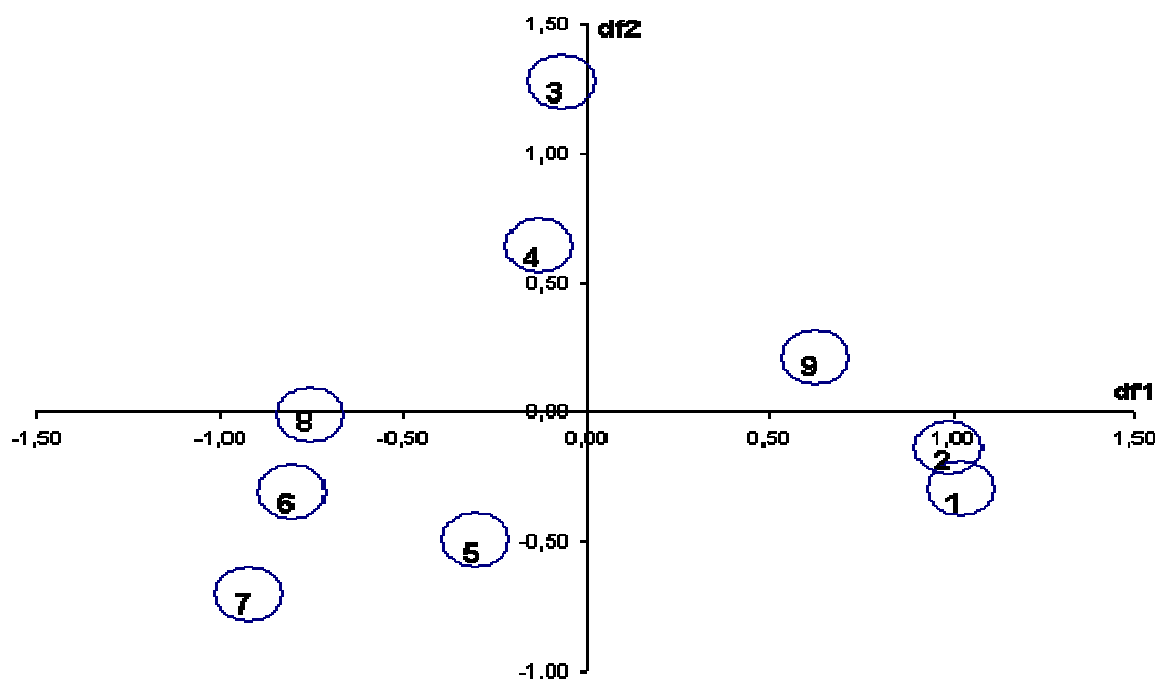
При положительной серологической реакции на наличие у больных ХАИ АТ к АГ *HP* и *HSV* (6 группа) практически одинаково часто встречалась умеренная гиперхолестеринемия (36,6%), умеренная гипербетахолестеринемия (34,1%). У 19,5% больных была легкая гиперхолестеринемия. Только 2,4% больных 6 группы имели высокую гиперхолестеринемия. У 7,3% больных 6 группы холестеринный профиль соответствовал общепринятым показателям «нормы».

В седьмой группе у больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* и *HP* у половины больных (50%) холестеринный профиль соответствовал четвертому кластеру - умеренной гиперхолестеринемии. Вместе с тем одинаково часто встречалась (25%) легкая и умеренная гиперхолестеринемия. Не было случаев выявления холестеринного профиля, соответствующего 3 кластеру (высокой гиперхолестеринемии), 5 кластеру - общепринятым показателям «нормы».

У больных восьмой группы с серопозитивной реакцией на АТ к АГ трех возбудителей в большинстве случаев (47,8%) регистрировалась умеренная гиперхолестеринемия, в 26,1% - умеренная гипербетахолестеринемия, в 13% легкая гиперхолестеринемия, в 8,7% - холестеринный профиль соответствующий общепринятым показателям «нормы».

В девятой группе с серонегативной реакцией на наличие антител к антигенам трех возбудителей у половины больных выявлялась умеренная гипербетахолестеринемия, у 25% - умеренная гиперхолестеринемия, у 25% - холестеринный профиль соответствующий общепринятым показателям «нормы».

Методом главных компонент было определено, что в качестве классифицирующих признаков для разделения обследованных групп следует взять все показатели холестеринного профиля сыворотки крови - по первой дискриминантной функции ХС ЛПВП и ХС ЛПОНП, по второй дискриминантной функции - общий ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП (рис.2).



$$df1 = 0,433 + 2,221(\text{ХС ЛПВП}) - 0,976(\text{ХС ЛПОНП})$$

$$df2 = -2,973 + 1,404(\text{ОХС}) - 2,033(\text{ХС ЛПОНП}) - 0,692(\text{ХС ЛПНП})$$

Рис.2. Средние значения дискриминантных функций по холестеринному профилю.

По df_1 , характеризующей состояние прямого и обратного транспорта холестерина, наиболее отличались от здоровых лиц пятая, шестая, седьмая и восьмая группы, общим для которых было наличие серопозитивной реакции на АТ к АГ *HP*. Несколько меньшие отличия по уровню ХС ЛПВП и ХС ЛПОНП были у обследованных 3 и 4 групп, общим свойством данных больных было наличие серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*. Наименьшие отличия по df_1 от здоровых оказались у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *HSV* и с серонегативной реакцией на АТ ко всем определяемым возбудителям (9 группа).

По второй дискриминантной функции, характеризующей состояние прямого транспорта холестерина, можно было выделить шесть групп: 1) больные с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* (3 группа); 2) больные с серопозитивной реакцией на АТ одновременно к *C.pn* и *HSV* (4 группа); 3) больные с серонегативной реакцией на АТ к трем возбудителям (9 группа); 4) общая группа, объединившая холестеринный профиль обследованных с серопозитивной реакцией на антитела к трем возбудителям (8 группа), с серопозитивной реакцией на антитела только к *HSV*

(2 группа), на антитела к *HSV* и к *HP*; 5) общая группа, объединившая холестеринный профиль обследованных 1 и 6 групп; 6) общая группа, объединившая холестеринный профиль обследованных с серопозитивной реакцией на антитела только к *HP* (5 группа) и на антитела к *HP* и к *C.pn* (7 группа).

У больных с серопозитивной реакцией на АТ только к *HSV* (2 группа) холестеринный профиль отличался от других групп и был близок к холестеринному профилю здоровых лиц и больных ХАИ с серонегативной реакцией на АТ к трем возбудителям по всем показателям холестеринного профиля сыворотки крови.

Наибольшие отличия по атерогенным липопротеинам ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, характеризующим нарушение прямого транспорта холестерина от здоровых лиц были у больных ХАИ с серопозитивной реакцией на АТ только к *C.pn* (3 группа), а также к *C.pn* и *HSV* (4 группа). Вместе с тем у данных групп были одинаковые отличия холестеринного профиля сыворотки крови от здоровых лиц по уровню ХС ЛПВП и ХС ЛПОНП. В 3 (62,5%) и 4 (75%) группах превалировала умеренная гиперхолестеринемия, умеренная ги-

перхолестеринемия, умеренная гипербетахолестеринемия.

Наибольшие отличия от здоровых лиц по уровню ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП, характеризующих нарушение прямого и обратного транспорта холестерина, были у больных 6,7,8 групп, больные с серопозитивной реакцией на антитела к *HP* и *HSV* (6 группа), к *HP* и *C.pn* (7 группа), одновременно к трем возбудителям (8 группа). Эти лица составили основу второго кластера, характеризующегося умеренной гиперхолестеринемией. Общим для данных групп было наличие у всех больных повышенного титра антител к *HP*.

Таким образом, по df_1 , которая характеризует опрямого и обратного транспорта холестерина можно было выделить пять обособленных групп: 1) практически здоровые лица (1 группа); 2) больные ХАИ, с серопозитивной реакцией на антитела только к *HSV* (2 группа); 3) больные с серонегативной реакцией на АТ к трем возбудителям (9 группа); 4) общая группа, объединившая холестеринный профиль больных с серопозитивной реакцией на АТ только к *C.pn* (3 группа), на АТ одновременно к *HSV* и *C.pn* (4 группа), на АТ к *HP* (5 группа); 5) общая группа, включившая холестеринный профиль больных шестой, седьмой, восьмой - общим для данных групп было наличие у всех больных повышенного титра антител к *HP*.

По df_2 , в которую вошли показатели общего ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, характеризующие нарушение прямого транспорта ХС значительно отличались от здоровых лиц и от больных ХАИ с серонегативной реакцией на антитела ко всем трем возбудителям инфекции показатели холестеринного профиля 3, 4 групп, общим для которых было наличие повышенных титров антител к антигенам *C.pn*.

У больных с атеросклерозом брюшной аорты и ее непарных висцеральных ветвей с серопозитивной реакцией на антитела к *C.pn*, *HP* липидтранспортная система функционирует в условиях атерогенного сдвига. При этом обнаружена прямая корреляционная зависимость между уровнем общего ХС, ХС ЛПНП и

титром АТ класса *IgM* и *IgG* к *C.pn*, отрицательная корреляционная зависимость между уровнем ХС ЛПВП в сыворотке крови и титром антител к *HP*.

Основные различия холестеринного профиля сыворотки крови у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn*, на АТ к *HSV*, на АТ к *HP* обусловлены уровнем общего холестерина, холестерина ЛПНП, холестерина ЛПВП и особенно уровнем ХС ЛПОНП.

Заключение

Приведенные данные дают основание полагать, что у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *C.pn* имеет место нарушение, прежде всего, прямого транспорта холестерина. Вместе с тем у больных с серопозитивной реакцией на АТ к *HP* прослеживается нарушение прямого и обратного транспорта холестерина.

Наименьшие отличия холестеринного профиля сыворотки крови от здоровых лиц и от больных хронической абдоминальной ишемией с серонегативной реакцией на АТ к трем возбудителям по уровню общего ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП наблюдаются у больных с серопозитивной реакцией на АТ только к вирусу простого герпеса.

Литература

1. Амвросьева, Т. В. Вирусные инфекции как факторы риска в атерогенезе: автореф. дисс. ... д. м. н. / Т. В. Амвросьева. – М., 1994.
2. Жданов, В. С. Роль гиперплазии интимы артерий в атерогенезе у человека / В. С. Жданов // Арх. пат. – 1998. – № 6. – С. 8-13.
3. Лазебник, Л. Б. Хроническая ишемическая болезнь органов кровообращения / Л. Б. Лазебник, Л. А. Звенигородская. – М.: «Анахарсис», 2003. – 136 с.
4. Липовецкий, Б. М. Клиническая оценка сниженного и повышенного уровня липопротеидов высокой плотности в плазме крови / Б. М. Липовецкий, Г. А. Чураков // Кардиология. – 2001. – № 3. – С. 33-35.
5. Хроническая абдоминальная ишемия: клинические проявления, диагностические возможности и тактика лечения / А. С. Логинов [и др.] // Тер. архив. – 2000. – № 2. – С. 36-40.
6. Ишемическая болезнь сердца, хламидийная и хеликобактерная инфекции (популяционное исследование) / Ю. П. Никитин [и др.] // Кардиология. – 2000. – № 8. – С. 4-7.

7. Viruses in the etiology of atherosclerosis / E. P. Benditt [et al.] // Proc. nat. Acad. Sci. USA. – 1983. – Vol. 80. – P. 6386-6389.
8. Detection of Chlamydia pneumoniae but not Helicobacter pylori in atherosclerotic. Plaques of Aortic aneurisms / F. Blasi [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1996. – Vol. 34, N 11. – P. 2766-2769.
9. Chlamydia pneumoniae infection accelerates hyperlipidemia induced atherosclerotic lesion development in C57BL / E. Blessing [et al.] // 6J mice Ather. – 2001. – Vol. 158, N 1. – P. 13-17.
10. Risk factors for coronary heart disease and infection with Helicobacter pylori; meta-analysis of 18 studies / J. Danesh [et al.] // Br. Med J. – 1998. – Vol. 316. – P. 1130-1132.
11. Rabbit model for Chlamydia pneumoniae infection / I. W. Fong [et al.] // J. Clin. Microb. – 1997. – Vol. 35. – P. 48-52.
12. Grayston, J. T. Infections caused by Chlamydia pneumoniae strain TWAR / J. T. Grayston // Clin. Infect. Dis. – 1992. – Vol. 15. – P. 757-763.
13. Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries / C. C. Kuo [et al.] // J. Infect. Dis. – 1993. – Vol. 167. – P. 841-849.
14. Chlamydia pneumoniae antibodies and serum lipids in Finnish men: cross sectional study / A. Laurila [et al.] // Br. Med. J. – 1997. – Vol. 314. – P. 1456-1457.
15. Chlamydia pneumoniae-specific circulating immune complexes in patients with chronic heart disease / E. Linnanmaki [et al.] // Circulation. – 1993. – Vol. 87. – P. 1130-1134.
16. Manten, A. // Cardiovasc. Res. – 1998. – Vol. 40. – P.389-395.
17. Could Helicobacter pylori infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentrations? / S. Niemela [et al.] // Heart. – 1996. – Vol. 75, N 6. – P. 573-5.
18. Saikku, P. Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor in acute myocardial infarction / P. Saikku // Eur. Heart. – 1993. – Vol. 14. – P. 62-65.

*Поступила 11.04.2007 г.
Принята в печать 20.06.2007 г.*



АБЗИМНАЯ АКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

СЕНЬКОВИЧ С.А.

Витебская городская центральная клиническая больница

Резюме. Наша работа посвящена исследованию собственной ферментной активности иммуноглобулинов у лиц с хирургической инфекцией, а также изучению зависимости активности от вида микроорганизма, вызвавшего патологический процесс. Очистка иммуноглобулинов проводилась риванол-сульфатным методом с использованием афинной хроматографии на стафиллакокковом протеине А. Были исследованы БАПНА-амидазная и ДНК-азная активность иммуноглобулинов. В результате исследования было выявлено достоверное повышение уровня собственной ферментной активности иммуноглобулинов у хирургических больных с гнойными процессами в сравнении с контрольной группой. Не было выявлено зависимости уровня абзимной активности от вида микроорганизма – возбудителя хирургической инфекции. Таким образом, в результате нашего исследования получены данные, которые могут вносить новое понимание в патогенез гнойной хирургической инфекции.

Ключевые слова: хирургическая инфекция, ферментная активность иммуноглобулинов.

Abstract. Our research is devoted to the investigation of immunoglobulins enzyme activity in patients with surgical infection and dependence of this activity on the type of microorganism that causes pathological process. The purification of immunoglobulins was carried out with rivanol sulphate including affinity chromatography on staphylococcal protein A. In our research we also studied BAPNA-amidase and DNA-se activities of immunoglobulins. As a result of the investigation we revealed reliable increase in the level of immunoglobulins abzyme activity in surgical patients with suppurative processes in comparison with the control group. We didn't reveal any dependence of abzyme activity level on the type of microorganism – causative agent of surgical infection. Thus it can be concluded that the results of our investigation may help to understand from a new angle pathogenesis of suppurative surgical infection.

Изучение механизмов реакции макроорганизма на инвазию инфекционного агента не утрачивает актуальности, т.к. знание этих механизмов необходимо для понимания патогенеза различных заболеваний и разработки эффективных схем их лечения. Иммунная система воспринимает микроорганизм как набор антигенов и отвечает выработкой соответствующих иммуноглобулинов и иммунных Т-клеток. На ферменты, продуцируемые микроорганизмами, вырабатываются антитела, активный центр которых является как бы зеркальным отражением активного центра фермента. Далее за счет реализации иди-

отип-антиидиотипического механизма (согласно теории иммунной сети Ерне) [1, 2] образуются антитела второго порядка, активный центр которых подобен активному центру фермента. Такие антитела могут обладать свойством катализировать химические реакции. Помимо описанного варианта, образование антител с собственной ферментной активностью (абзимов) может происходить при иммунизации организма стабильными аналогами переходных состояний химических реакций, при ковалентном присоединении единичных молекул ферментов к шарнирным участкам молекул иммуноглобулинов, а также за счет модификации активного центра иммуноглобулина при взаимодействии с катионами различных металлов (магния, кальция, цинка,

меди), являющихся ко-ферментами различных реакций [3, 4, 5].

Впервые антитела с собственными ферментными свойствами были описаны в начале 80-х годов XX века [4, 6]. На сегодняшний день доказано возникновение высокоактивных абзимов у лиц с системными заболеваниями соединительной ткани (системная красная волчанка, склеродермия, ревматоидный артрит и т.п.), геликобактерных гастродуоденитах [4, 6, 7, 8]. Доказано участие абзимов в патогенезе системных заболеваний соединительной ткани [4]. В то же время, существует мнение, что каталитическая инактивация антигенов представляется гораздо более эффективной, чем обычное образование иммунного комплекса, в результате чего абзимы могут оказывать положительное или отрицательное влияние на развитие инфекционного процесса [9].

При возникновении гнойного процесса происходит массивный выброс различных ферментов в кровеносное русло, что в соответствии с теорией иммунной сети может привести к возникновению антител с собственной ферментативной активностью.

Таким образом, целью нашего исследования явилось изучение абзимной активности у лиц с хирургической инфекцией и ее связь с видом микроорганизма, вызвавшего гнойный процесс.

Методы

Выделение Ig (иммуноглобулинов) проводилось в несколько этапов. Первый этап - осаждение сыворотки крови 0,75% раствором риванола с последующей обработкой надосадка активированным углем [10]. Далее проводилась аффинная хроматография полученного материала на агарозе, конъюгированной с протеином А золотистого стафилококка. Этот белок селективно сорбирует на себе иммуноглобулины G подклассов 1, 2, 4. Хроматографическую колонку последовательно отмывали 0,01 М фосфатным буферным раствором pH 7,4, содержащим 1% раствор твин 20 и 0,01 М фосфатным буферным раствором с pH 7,4 без детергента до исчезновения белка в элюенте,

что контролировали методом Бредфорда. Элюцию связавшихся с конъюгированным протеином А IgG вели 0,1 М глицин-HCl буфером, pH 2,8. Элюция контролировалась по выходу белка с использованием метода Бредфорда [11]. Полученные Ig концентрировали и дополнительно очищали переосаждением в 40% растворе сульфата аммония, растворяли в 2 мл дистиллированной воды и проводили диализ против 2,5 л 0,9% NaCl четыре раза.

Проверку чистоты Ig проводили с помощью электрофореза в 10% и градиентном от 4 до 20% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях, а гель окрашивали Кумасси R250 или нитратом серебра. Контроль стерильности материала осуществлялась посевом проб иммуноглобулинов на кровяной агар.

Определение бензоиларгинин-р-нитроанилид (БАПНА) - амидазной активности иммуноглобулинов проводили по методу Эрлангера в нашей модификации [12]. В качестве субстрата протеолиза использовали бензоиларгинин-р-нитроанилид. Распад этого субстрата происходит только в результате расщепления амидной (аналога пептидной) связи по аминокислотам аргинин-лизин. Реакционная смесь содержала Ig G в концентрации 0,75 мг/мл и БАПНА в концентрации 0,4 мг/мл. Концентрацию иммуноглобулинов определяли спектрофотометрически по степени поглощения при длине волны 280 нм. Учет результатов реакции осуществлялся после 20-ти часовой инкубации при температуре 37,6°C на иммуноферментном анализаторе при длине волны 410 нм. В качестве отрицательного контроля вместо Ig использовался стерильный физиологический раствор.

Для пересчета полученного результата в пикокаталы использовалась формула $Y = 0,028 + 11 \times E_{оп}$, где Y – искомый результат, $E_{оп}$ – оптическая плотность пробы минус оптическая плотность контроля. Формула была выведена на основе определения зависимости оптической плотности от молярной концентрации р-нитроанилида в растворе (при распаде 1 молекулы БАПНА образуется 1 молекула р-нитроанилида). Т. о. был получен калиб-

ровочный график, представляющий собой линейную зависимость с коэффициентом корреляции 0,998.

Для определения ДНК-азной активности IgG сыворотки крови в качестве субстрата использовали дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК, Sigma). Активность иммуноглобулинов определяли в условных единицах по уменьшению образования сгустка ДНК [13]. Опыт проводили следующим образом: после суточной инкубации при температуре 37,6°C реакционной смеси, содержащей ДНК в концентрации 0,166 мг/мл, IgG в концентрации 0,25 мг/мл, 0,001 М $Mg(Cl)_2$ на трис-HCl буфере, pH 7,4, 0,02 М в пробирки добавляли по 0,02 мл 0,75% раствора риванола и встряхивали их. Образовавшийся сгусток отмывали дистиллированной водой и растворяли в 0,5 мл 1 N HCl (подогревая на спиртовке до полного растворения). Объем пробы доводили до 2 мл дистиллированной водой и измеряли ее оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 410 нм. В качестве отрицательного контроля вместо раствора иммуноглобулинов использовался стерильный физиологический раствор.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При исследовании БАПНА-амидазной и ДНК-азной активности иммуноглобулинов

все обследованные были разделены на пять групп: больные хроническим остеомиелитом, больные с различными острыми хирургическими гнойно-воспалительными процессами (панариции, абсцессы, флегмоны различной локализации и т. п.), лица с инфекцией челюстно-лицевой области, больные с различными заболеваниями щитовидной железы (тиреозит, токсический зоб) и контрольная группа – лица, прооперированные по поводу хирургической патологии без гнойно-воспалительных процессов. В результате исследования выявлено, что у лиц с гнойно-воспалительными процессами уровень БАПНА-амидазной активности иммуноглобулинов был достоверно выше, чем в контрольной (табл. 1). Выделение группы лиц с заболеваниями щитовидной железы связано с тем, что в литературе имеются данные о повышенном уровне БАПНА-амидазной и ДНК-азной активности у таких больных [4].

При исследовании зависимости БАПНА-амидазной активности от вида микроорганизма, вызвавшего гнойный процесс, достоверных отличий не получено (табл. 2). Деление на группы было связано с уровнем БАПНА-амидазной активности микроорганизмов: в первой группе активность высокая, во второй средняя, в третьей отсутствует [12].

При исследовании ДНК-азной активности иммуноглобулинов было установлено, что у лиц с остеомиелитом средний уровень ДНК-азной активности был достоверно выше, чем у лиц контрольной группы и лиц с инфекцией

Таблица 1

БАПНА-амидазная активность иммуноглобулинов

N	Группа	n	Активность средняя	Достоверность отличия
1	Хронический остеомиелит	39	0,316±0,063	P1-5<0,05 P2-5<0,05 P3-5<0,05 P4-5>0,05
2	Острые гнойные заболевания	52	0,379±0,075	
3	Инфекция челюстно-лицевой области	28	0,278±0,036	
4	Заболевания щитовидной железы	15	0,176±0,042	
5	Контроль	32	0,199±0,029	

*Между остальными группами достоверных отличий не выявлено ($p>0,05$).

Таблица 2

БАПНА-амидазная активность иммуноглобулинов в зависимости от этиологического фактора гнойно-воспалительного процесса

N	Группа	n	Активность средняя	Достоверность отличия
1	Синегнойная палочка	11	0,210±0,058	P>0,05
2	Грамотрицательные палочки	11	0,210±0,104	
3	Стафилококки	11	0,227±0,046	

Таблица 3

ДНК-азная активность иммуноглобулинов

N	Группа	n	Активность средняя	Достоверность отличия
1	Хронический остеомиелит	30	33,76±6,23	P1-5<0,01 P1-3<0,01
2	Острые гнойные заболевания	25	22,28±4,33	
3	Инфекция челюстно-лицевой области	27	13,29±2,54	
4	Заболевания щитовидной железы	17	18,64±3,88	
5	Контроль	19	12,36±3,31	

*Между остальными группами достоверных отличий не выявлено (p>0,05).

Таблица 4

Частота лиц с достоверно положительной ДНК-азной активностью

N	Группа	Достоверно положительная активность	Достоверность отличия
1	Хронический остеомиелит	17 (56,666%)	P1-5<0,001 P1-3<0,05 P2-5<0,05 P4-5<0,01
2	Острые гнойные заболевания	9 (36%)	
3	Инфекция челюстно-лицевой области	7 (25,925%)	
4	Заболевания щитовидной железы	9 (52,941%)	
5	Контроль	2 (10,5%)	

*Между остальными группами достоверных отличий не выявлено (p>0,05).

челюстно-лицевой области. Между остальными группами достоверных отличий не обнаружено (табл.3).

При анализе частоты встречаемости лиц с достоверно положительной ДНК-азной активностью, т. е. с такой активностью, уровень которой достоверно превышает уровень спон-

танного распада субстрата в контрольных пробах, были получены следующие результаты. В группах больных с гнойными процессами (за исключением группы больных с инфекцией челюстно-лицевой области) и заболеваниями щитовидной железы она оказалась достоверно выше, чем в контрольной (табл. 4).

Таблица 5

ДНК-азная активность иммуноглобулинов в зависимости от вида микроорганизмов

Группа	n	Активность средняя	Достоверность отличия	Достоверно положительные	
S. aureus	17	38,71±7,61	P>0,05	10 (58,82%)	P>0,05
Все остальные	11	27,27±7,34		5 (45,45%)	

При изучении зависимости уровня ДНК-азной активности иммуноглобулинов от вида микроорганизма, вызвавшего патологический процесс, достоверных отличий выявлено не было (табл. 5). Выбор групп для сравнения был обусловлен тем, что наиболее частым возбудителем хирургической инфекции остается золотистый стафилококк, который обладает наиболее высокой ДНК-азной активностью из распространенных этиологических факторов гнойно-воспалительных заболеваний.

Заключение

1. БАПНА-амидазная активность иммуноглобулинов у лиц с хирургической инфекцией (во всех исследованных группах) достоверно выше, чем в контрольной группе.

2. Средний уровень ДНК-азной активности иммуноглобулинов, а также частота встречаемости лиц с достоверно положительной ДНК-азной активностью в группе больных с хроническим остеомиелитом были достоверно выше, чем в контрольной группе и в группе лиц с инфекцией челюстно-лицевой области. В группах больных с острой хирургической инфекцией и заболеваниями щитовидной железы частота лиц с достоверно положительной ДНК-азной активностью оказалась достоверно выше, чем в контрольной группе.

3. В настоящее время не выявлено достоверных отличий абзимной активности от вида микроорганизма, вызвавшего патологический процесс.

Литература

- Иммунология: в 3 т. / У. Пол [и др.]; под ред У. Пола. – Москва. – Мир, 1988. – Т. 2. – С. 456.
- Monroe, J. G. Anti-idiotypic antibodies and disease / J. G. Monroe, M. I. Green // Green Immunol. Invest. – 1986. – Vol. 15, N 3. – P. 263-286.
- Усиление абзимной активности поликлональных IgG при взаимодействии с катионами металлов / И. И. Генералов [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2000. – № 1. – С. 40-43.
- Генералов, И. И. Абзимная активность иммуноглобулинов / И. И. Генералов. – Витебск: издательство ВГМУ, 2000. – С.151.
- Щуров, Д. В. Каталитические антитела / Д. В. Щуров // Молекулярная биология. – 1997. – № 1. – С. 5-15.
- DNA hydrolyzing autoantibodies / A. M. Shuster [et al.] // Science. – 1992. – Vol. 256, N 5057. – P. 665-667.
- ДНК- и РНК-гидролизующие антитела из крови пациентов с различными формами вирусных гепатитов / А. Г. Барановский [и др.] // Биохимия. – 1997. – Т.62, № 12. – С. 1358-1366.
- Ферментативный спектр IgG антител к Helicobacter pylori / М. Р. Конорев [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 1999. – № 1. – С. 119-125.
- Proteolytic activity of an antibody light chain / M. Sun [et al.] // J. Immunol. – 1994. – Vol.153, N 11. – P. 5121-5126.
- Иммунологические методы: пер. с нем. / под ред. Г. Фримеля. – Москва. Мир. – 1987. – С. 472.
- Шишкин, С. С. Использование связывания красителей для количественного определения содержания белка в растворах / С. С. Шишкин // Вопросы медхимии. – 1982. – № 5. – С. 134-141.
- Определение БАПНА-амидазной активности микроорганизмов, сывороток крови и иммуноглобулинов класса G: инструкция на метод, Рег. № 6-0101 / В. К. Окулич [и др.], – 2002.
- Способ определения ДНК-азной активности: пат. 1066 Респ. Беларусь, МС1С12Q 1/34, С12N 9/22. / М. - Р. Конорев, К. С. Азаренок, И. И. Генералов, А. Г. Голубева (РБ); заявитель Вит. гос. мед. ун-т. – № 243 А; заявл. 06.04.93; опубл. 14.08.96.

Поступила 25.01.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПОТЕНЗИВНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ГЕСТОЗА

КИСЕЛЕВА Н.И.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;
кафедра акушерства и гинекологии*

Резюме. Целью настоящей работы явилось проведение сравнительной оценки эффективности использования в комплексном лечении гестоза различных комбинаций гипотензивных препаратов и препаратов, обладающих антиоксидантным действием.

В зависимости от проводимой терапии все беременные с гестозом были разделены на 3 группы: I группа - 15 пациенток, которые получали общепринятую терапию; II группа - 18 пациенток, у которых в комплексной терапии гестоза использовали амлодин и актовегин; III группа - 31 пациентка, в комплексном лечении которой применяли молсидомин и ликоред.

Установлено, что включение в комплекс лечебных мероприятий молсидомина и ликореда с целью коррекции состояния эндотелия и процессов свободнорадикального окисления является патогенетически обоснованным. Отмечается снижение повышенных показателей ПОЛ (ДК - на 21,3%; МДА - на 17,5%) и возрастание АО потенциала плазмы крови (на 14,4%); нормализация уровней маркеров эндотелиальной дисфункции (повышение нитратов/нитритов в 1,4 раза, снижение количества ЦЭК в 2 раза); восстановление вазорегулирующей функции эндотелия (увеличение диаметра плечевой артерии после РГ $9,7 \pm 1,9\%$) и положительное влияние на клиническое течение гестоза: снижение случаев резистентного течения в 2,1 раза; частоты оперативного и досрочного родоразрешения в связи с нарастанием тяжести патологии и фетоплацентарной недостаточности в 5,6 раза; заболеваемости новорожденных в 1,4 раза.

Ключевые слова: гестоз, перекисное окисление липидов, дисфункция эндотелия, лечение.

Abstract. The aim of this study was to make the comparative analysis of the effectiveness of the use of different combinations of hypotensive preparations and preparations possessing antioxidant action in complex therapy for gestosis.

Depending on the used therapy all pregnant women with gestosis were divided into 3 groups: I group - 15 patients who received standard therapy; II group - 18 patients who received complex therapy (amlodine and actovegin); III group - 31 patients receiving complex therapy (molsidomin and lycored).

Complex therapy including molsidomin and lycored to correct endothelial state and processes of free radical oxidation was determined to be pathogenetically grounded. We observed the reduction of the elevated indices of LPO (DC-by 21,3%, MDA-by 17,5%) and increase of antioxidant potential of blood plasma (by 14,4%), normalization of the marker level of endothelial dysfunction (1,4 fold increase of nitrates/nitrites, 2 fold decrease in the number of BCE); restoration of vasoregulating function of endothelium (the increase of humeral artery diameter after RH $9,7 \pm 1,9\%$) and positive influence on gestosis clinical course: 2,1 fold decrease of treatment-resistant course cases, 5,6 fold decrease in the frequency of operative and pre-term deliveries due to increase of pathology severity and feto-placental failure; 1,4 fold decrease in newborns morbidity.

*Адрес для корреспонденции: 210038, г. Витебск, ул.
П. Бровки, д. 19, корп. 4, кв. 73, р. тел. 23-01-07, д. тел.
64-39-67. – Киселева Н.И.*

Высокая частота гестоза, тенденция к росту тяжелых, атипично протекающих форм, нередко являющихся причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, свидетельствуют о недостаточной эффективности существующих лечебно-профилактических мероприятий и побуждают исследователей к поиску новых патогенетически обоснованных методов терапии.

Известно, что ключевым звеном патогенеза гестоза является дисфункция эндотелия [10], которую рассматривают сегодня, прежде всего, как нарушение продукции и /или действия монооксида азота (NO) в эндотелиоцитах, поскольку NO принимает участие в регуляции практически всех функций эндотелия и является фактором, наиболее чувствительным к повреждению [7, 9].

Одной из главных причин нарушения образования и/или биодоступности NO является избыточное образование свободных радикалов [14]. В ряде исследований показано, что NO, синтезируемый в достаточных количествах, может разрушаться супероксиданион-радикалом с образованием конечных метаболитов NO - нитратов и нитритов [11].

Исходя из современных взглядов на патогенез гестоза, требует пересмотра гипотензивная терапия: предпочтение следует отдавать препаратам, позволяющим не только эффективно контролировать артериальное давление, но и уменьшать выраженность эндотелиальной дисфункции, способствовать ее обратному развитию. Вместе с тем, влияние на функциональное состояние эндотелия относительно небольшого количества простых и хорошо переносимых гипотензивных препаратов, разрешенных к применению во время беременности, изучено недостаточно. С учетом роли свободнорадикальных процессов в развитии дефицита эндогенного NO, гипотензивная терапия должна сочетаться с применением антиоксидантных препаратов, способных улучшать эндотелиальную функцию за счет влияния на продукты окислительного стресса.

В связи с этим целью настоящей работы явилось проведение сравнительной оценки эффективности использования в комплексном

лечении гестоза различных комбинаций гипотензивных препаратов и препаратов, обладающих антиоксидантным действием.

Методы

В зависимости от проводимой терапии все беременные с гестозом были разделены на 3 группы: I (контрольная) группа - 15 пациенток, которые получали общепринятую терапию (седативная, гипотензивная (магния, допегит) и инфузионная терапия); II группа - 18 пациенток, у которых в комплексной терапии гестоза использовали антагонист кальция амлодин по 5 мг в сутки и антигипоксанта актовегин, обладающий антиоксидантными свойствами, по 5 мл в 250 мл физиологического раствора внутривенно капельно; III группа - 31 пациентка, в комплексном лечении которой применяли антиангинальный препарат молсидомин по 2 мг 2 раза в сутки и антиоксидант ликоред по 2 мг 3 раза в сутки. Все пациентки были сопоставимы по возрасту, наличию сопутствующей соматической и гинекологической патологии, акушерскому анамнезу, времени возникновения, длительности течения и степени тяжести гестоза. Беременные хорошо переносили назначаемые препараты, случаев необходимости прерывания курса лечения в связи с побочными действиями препаратов не наблюдалось.

Эффективность оценивали по клиническому анализу течения беременности и родов: выраженности изменений показателей функционального состояния эндотелия (эндотелийзависимая вазодилатация плечевой артерии, содержание нитратов/нитритов, циркулирующих эндотелиальных клеток), процессов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид) и антиоксидантной защиты (суммарная антиоксидантная активность плазмы крови).

Обследование проводили до начала терапии (на момент поступления в стационар) и в динамике (через 5-7 дней от начала лечения). Диеновые конъюгаты (ДК) в плазме крови определяли по методу Гаврилова В.Б. и соавт.[4] после экстракции липидов смесью гептана в изопропиловом спирте; малоновый

диальдегид (МДА) - по методу Стального И.Д., Гаришвили Т.Г. [8] в модификации Андреевой Л.И. и соавт. [2] при помощи 0,6% тиобарбитуровой кислоты; суммарную антиоксидантную активность (АОА) плазмы крови – по методу Клебанова Г.И. и соавт. [5]. Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота (нитратов/нитритов) в плазме крови определяли по методу Грисса в модификации Веремей И.С. и соавт. [3]. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в крови беременных определяли по методу Hladovec J. et al. [12]. Изучение вазорегулирующей функции эндотелия проводили, используя пробы с реактивной гиперемией (временная окклюзия сосуда) и нитроглицерином методом доплерографии с применением линейного датчика 7,5 МГц ультразвукового аппарата «Ultramark-9» [13].

Статистическую обработку полученного в ходе исследования материала проводили с помощью персональной компьютерной техники с использованием стандартных пакетов прикладных программ («Statistica for Windows – 6» и др.).

Результаты и обсуждение

Клиническую эффективность терапии в группах женщин с различными вариантами лечебных мероприятий оценивали по исчезновению клинических симптомов гестоза, срокам и методам родоразрешения, частоте осложнений родов, состоянию здоровья новорожденных.

Сравнительная оценка терапевтического эффекта использованных комбинаций лекарственных препаратов в комплексной тера-

пии гестоза показала, что при применении молсидомина и ликореда полный эффект отмечался в 1,5 раза чаще, чем при назначении общепринятого лечения, и в 1,2 раза чаще, чем при использовании амлодина и актовегина (таблица 1).

Почти у каждой четвертой пациентки с гестозом при использовании стандартной терапии отмечался частичный эффект: на фоне применения лекарственных препаратов наблюдалось снижение артериального давления, уменьшение и исчезновение отеков, протеинурии. При их отмене вновь появлялись клинические симптомы патологии. У беременных II группы частичный эффект от терапии наблюдался в 1,6 раза, а у беременных III группы – в 4,1 раза реже, чем у беременных с общепринятой терапией гестоза. Отсутствие эффекта от терапии у пациенток контрольной группы регистрировалось в 2,1 раза чаще, чем у пациенток с включением в комплекс лечебных мероприятий молсидомина и ликореда, и в 1,2 раза чаще, чем у беременных, получавших амлодин и актовегин.

При наличии положительного эффекта от терапии в случае недоношенной беременности пациентки выписывались домой под наблюдение врача женской консультации. Процент женщин, выписанных домой, статистически значимо не отличался во II и III группах (22,2% и 25,8% соответственно), в то время как был значительно выше, чем в I группе (13,3%): в 1,7 и в 1,9 раз соответственно.

Пациентки с общепринятой терапией гестоза были родоразрешены в среднем через $5,3 \pm 2,9$ дня после поступления в стационар; пациентки, принимавшие амлодин с актове-

Таблица 1

Сравнительная оценка терапевтического эффекта использованных вариантов сочетания лекарственных препаратов

Группы обследованных пациенток	Терапевтический эффект					
	Полный		Частичный		Отсутствие эффекта	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа (n=15)	9	60,0	4	26,7	2	13,3
II группа (n=18)	13	72,2	3	16,7	2	11,1
III группа (n=31)	28	87,0	2	6,5	2	6,5

гином - через $6,9 \pm 4,7$ дня; пациентки III группы – через $8,9 \pm 6,2$ дней. Средняя продолжительность беременности до родоразрешения в I группе составила $37,7 \pm 1,5$ недели; во II группе – $38,3 \pm 0,9$ недели; в III группе – $39,0 \pm 1,3$ недели.

Преждевременные роды в контрольной группе отмечались в 2 раза чаще, чем в III группе ($13,1\%$ и $6,5\%$ соответственно), и в 1,2 раза чаще, чем во II группе ($13,1\%$ и $11,1\%$ соответственно), что обусловлено необходимостью досрочного родоразрешения в связи с нарастанием тяжести патологии на фоне неэффективности проводимого лечения.

Частота оперативного родоразрешения была самой высокой в группе беременных, получавших традиционную терапию гестоза, и самой низкой в группе беременных, принимавших в комплексной терапии гестоза амлодин и актовегин (рисунок 1).

Несмотря на то, что использование молсидомина и ликореда не оказало существенного влияния на снижение частоты оперативного родоразрешения, в исследуемых группах пациенток значительно различались показания к операции кесарева сечения. У пациенток с общепринятой терапией в 2,8 раза чаще, чем в группе женщин, принимавших молсидомин и ликоред, осуществлялось родоразрешение операцией кесарева сечения в связи с

отсутствием эффекта и нарастанием тяжести гестоза: $40,0\%$ и $14,3\%$ соответственно. В $40,0\%$ случаев оперативное родоразрешение произведено в связи с острой асфиксией плода, обусловленной декомпенсированной хронической фетоплацентарной недостаточностью. При использовании в комплексной терапии гестоза молсидомина с ликоредом случаев острой асфиксии внутриутробного плода не зарегистрировано. Следовательно, при применении предложенного нами комплекса терапии утяжеление гестоза не являлось ведущим показанием к оперативному родоразрешению.

При родоразрешении через естественные родовые пути у рожениц контрольной группы чаще, чем у рожениц II и III групп, отмечались осложнения: несвоевременное излитие околоплодных вод (в 1,5 и 4 раза соответственно), аномалии родовой деятельности (в 12 раз), угрожающий разрыв промежности (в 1,5 и 2 раза соответственно), патологическая кровопотеря в родах (в 12 раз).

Косвенным показателем эффективности терапии является состояние детей, родившихся от матерей с гестозами. По средней массе тела новорожденные от матерей всех трех групп практически не отличались друг от друга: I группа – $3326,5 \pm 410,0$ г; II группа – $3284,3 \pm 703,1$ г; III группа – $3488,7 \pm 701,4$ г. Сред-

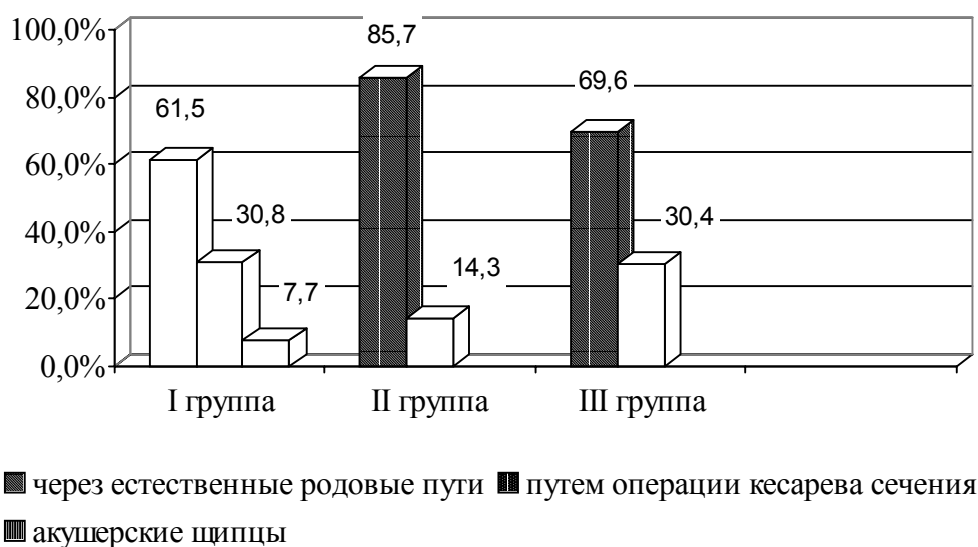


Рис. 1. Методы родоразрешения обследованных пациенток.

няя оценка по шкале Апгар у пациенток контрольной группы составила на первой минуте $7,8 \pm 0,4$ балла, на пятой минуте – $8,1 \pm 0,8$ балла; у пациенток II группы соответственно – $7,1 \pm 2,1$ балла и $8,2 \pm 0,8$ балла; у пациенток III группы – $7,8 \pm 2,1$ балла и $8,2 \pm 0,8$ балла.

Перинатальная заболеваемость новорожденных у беременных, получавших общепринятую терапию гестоза, была в 1,4 раза выше, чем при назначении в комплексной терапии молсидомина и ликореда (786% и 565% соответственно), и в 1,1 раза выше, чем при включении амлодина и актовегина (786% и 733% соответственно). У одной беременной, принимавшей амлодин и актовегин, имел место случай перинатальной смертности, обусловленный декомпенсированной фетоплацентарной недостаточностью на фоне отсутствия эффекта от лечения и нарастания тяжести гестоза.

При изучении влияния использованных комбинаций лекарственных препаратов в комплексной терапии гестоза на процессы свободнорадикального окисления было установлено, что на фоне приема ликореда и молсидомина снижается содержание ДК на 21,3% ($p=0,012394$) по сравнению с исходным уровнем; МДА – на 17,5% ($p=0,029599$), а антиоксидантная активность плазмы крови повышается на 14,4 % ($p=0,001814$) (таблица 2).

У пациенток, принимавших амлодин с актовегином, отмечается тенденция к снижению уровня промежуточных и конечных про-

дуктов перекисного окисления липидов ($p=0,606954$ и $p=0,085944$ соответственно) и повышению АОА плазмы крови ($p=0,003026$).

У беременных с традиционной терапией гестоза нормализация показателей перекисного окисления липидов не происходила, хотя наблюдается незначительное статистически не значимое повышение АОА плазмы крови ($p=0,393925$).

Таким образом, применение в комплексной терапии гестоза ликореда, обладающего антиоксидантным действием, снижает активность процессов свободнорадикального окисления, приближая ее к таковой у женщин с нормально протекающей беременностью; повышает антиоксидантный потенциал плазмы крови и тем самым улучшает функциональное состояние клеточных мембран.

В группах обследованных женщин до начала терапии содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота ($p>0,05$) и эндотелийзависимая вазодилатация (ЭЗВД) плечевой артерии статистически значимо не различались ($p>0,05$) (рисунок 2 и рисунок 3).

При назначении традиционной терапии не наблюдались положительные сдвиги в изменении вазорегулирующей функции эндотелия: количество нитратов/нитритов в крови оставалось практически на уровне до начала лечения ($p=0,375159$), прирост ЭЗВД также был незначительным ($6,4 \pm 2,0\%$, $p=0,145521$).

У беременных, принимавших амлодин, параллельно с нормализацией АД отмечалось

Таблица 2

Содержание ДК, МДА и АОА плазмы крови у обследованных пациенток

Показатели		Группы обследованных пациенток		
		I группа (n=15)	II группа (n=18)	III группа (n=31)
ДК, нмоль/г липидов	До лечения	$102,31 \pm 42,39$	$102,53 \pm 53,93$	$107,16 \pm 22,19$
	На фоне лечения	$99,83 \pm 41,08$ $p^*=0,875001$	$95,36 \pm 43,83$ $p^*=0,606954$	$84,35 \pm 32,69$ $p^*=0,012394$
МДА, нмоль/г белка	До лечения	$121,8 \pm 39,45$	$113,98 \pm 35,09$	$104,32 \pm 34,76$
	На фоне лечения	$141,92 \pm 35,08$ $p^*=0,085748$	$97,6 \pm 37,93$ $p^*=0,085944$	$86,12 \pm 30,50$ $p^*=0,029599$
АОА, %	До лечения	$40,68 \pm 11,42$	$37,73 \pm 10,48$	$40,43 \pm 7,91$
	На фоне лечения	$45,39 \pm 15,61$ $p^*=0,393925$	$44,73 \pm 8,11$ $p^*=0,003026$	$46,27 \pm 6,01$ $p^*=0,001814$

Примечание: p^* - достоверность различий по отношению к показателям до лечения

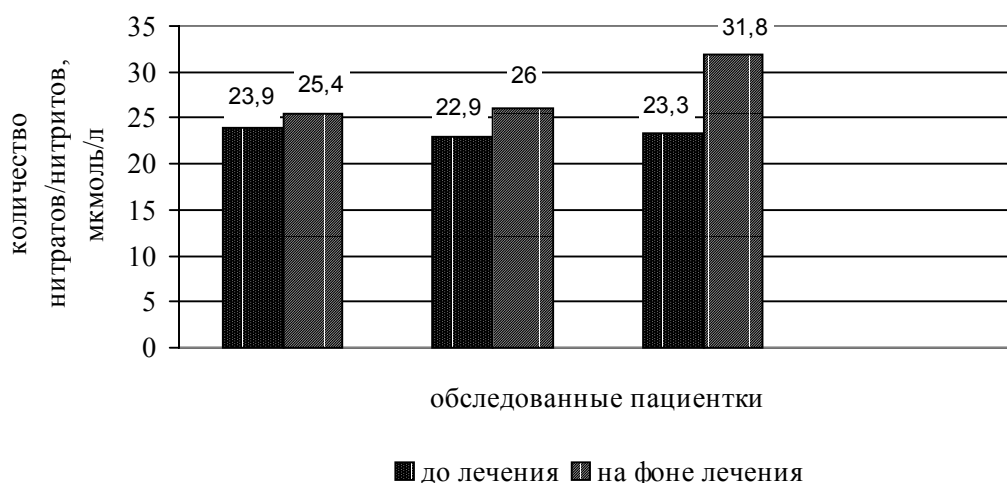


Рис.2. Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови на фоне различных вариантов терапии.

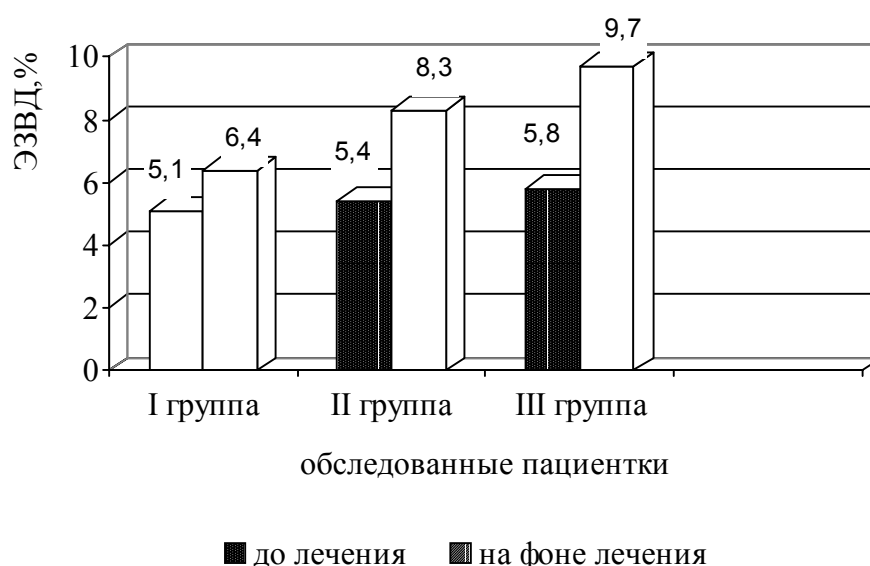


Рис.3. Средние значения ЭЗВД в обследованных группах пациенток.

увеличение прироста ЭЗВД до $8,3 \pm 2,6\%$ ($p=0,014890$), при том, что статистически значимого изменения содержания нитратов/нитритов в плазме крови не наблюдалось ($p=0,056382$). У пациенток, получавших в комплексной терапии молсидомин в дозе 4 мг в сутки, при достижении нормотензии отмечен значительный прирост ЭЗВД (до $9,7 \pm 1,9\%$, $p=0,004638$) и нитратов/нитритов (на $36,5\%$, $p=0,002698$), что свидетельствует об улучшении вазорегулирующих свойств эндотелия за счет коррекции эндотелиальной дисфункции.

Следовательно, традиционно используемые гипотензивные препараты (сульфат магния и допегит) не вызывали нормализацию эндотелиальной дисфункции: не происходило повышение уровня вазодилатора NO в крови и увеличения прироста ЭЗВД.

У антагониста кальция дигидропиридинового ряда амлодина имелся некоторый положительный эффект в снятии периферического спазма сосудов при отсутствии существенного влияния на содержание NO. Очевидно, здесь работает другой механизм воз-

действия на вазоактивный компонент. Позитивное влияние амлодина на функцию эндотелия у беременных с гестозом отмечали и другие авторы [1].

У молсидомина отмечено положительное влияние на содержание нитратов/нитритов и ЭЗВД: на фоне статистически значимого их повышения наблюдалось восстановление близкой к физиологической реакции плечевой артерии на постокклюзионную гиперемию, что говорит о патогенетическом влиянии препарата на механизмы развития гипертензивного синдрома при гестозе. Эффект обусловлен очевидно NO-донаторной способностью молсидомина. В доступной литературе мы нашли единичные сведения по использованию вазодилататоров с целью коррекции дисфункции эндотелия при гестозе [6].

Об улучшении состояния эндотелия на фоне применения в комплексной терапии гестоза амлодина с актовегином и молсидомина с ликоредом свидетельствует статистически значимое снижение количества циркулирующих в крови эндотелиальных клеток ($p=0,019169$ и $p=0,000002$ соответственно) (рисунок 4).

Отсутствие уменьшения количества ЦЭК в крови беременных с гестозом при назначении общепринятой терапии, по-видимому, связано с недостаточно эффективным воздействием используемых препаратов на эндотелий.

Установлено, что прекращение лечения в зависимости от клинического выздоровления до наступления нормализации изучаемых показателей у 25% пациенток через 3-5 суток и у 75% пациенток через 6-8 суток вызывает рецидив гестоза. Следовательно, продолжительность лечения патологии должна определяться не клиническими симптомами заболевания, а уровнем показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной активности плазмы крови, функционального состояния эндотелия.

Таким образом, коррекция функционального состояния эндотелия и процессов свободнорадикального окисления является необходимым компонентом патогенетической комплексной терапии гестоза, поскольку позволяет повысить эффективность лечения, уменьшить число осложнений родов, улучшить исходы беременности и родов как для матери, так и для плода.

Заключение

1. Сочетанное применение в комплексной терапии гестоза донатора монооксида азота молсидомина и антиоксиданта ликореда оказывает положительное влияние на клиническое течение гестоза: снижает количество случаев резистентного течения в 2,1 раза; частоту оперативного и досрочного родоразре-

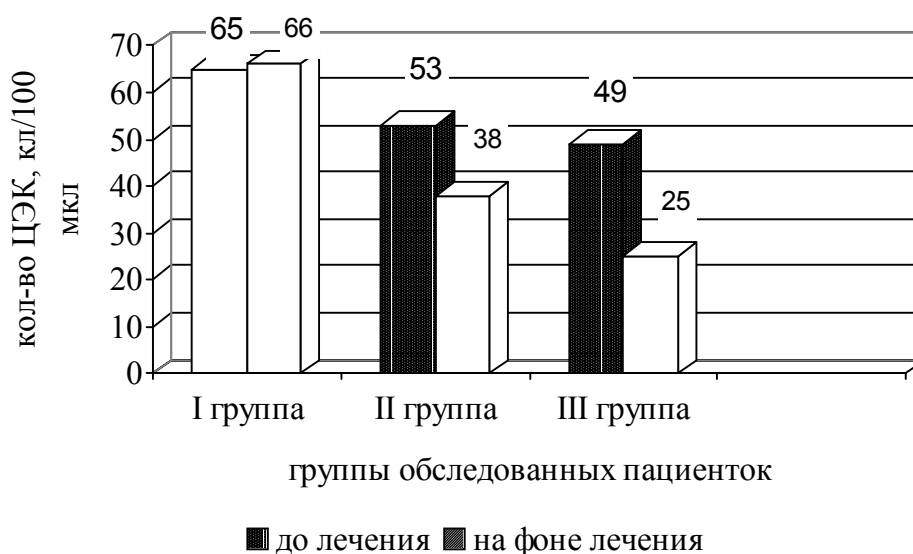


Рис.4. Уровень циркулирующих эндотелиоцитов при различных вариантах терапии.

шения в связи с нарастанием тяжести гестоза и фетоплацентарной недостаточности в 5,6 раза; заболеваемость новорожденных в 1,4 раза.

2. Назначение пациенткам с гестозом молсидомина и ликореда является патогенетически обоснованным, так как приводит к улучшению функционального состояния эндотелия и клеточных мембран. На фоне терапии снижается количество циркулирующих эндотелиальных клеток в 2 раза; содержание диеновых конъюгатов - на 21,3%; малонового диальдегида - на 17,5%; повышается уровень нитратов/нитритов в 1,4 раза; антиоксидантная активность плазмы крови на 14,4%; восстанавливается эндотелийзависимая вазодилатация плечевой артерии (увеличение диаметра ПА после РГ $9,7 \pm 1,9\%$).

3. Альтернативой сочетанному применению молсидомина и ликореда в комплексной терапии гестоза может быть назначение антагониста кальция амлодина и антигипоксанта актовегина, совместное применение которых также способно улучшать функциональное состояние эндотелия.

4. Продолжительность терапии гестоза должна определяться не клиническими симптомами заболевания, а уровнем показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной активности плазмы крови, функционального состояния эндотелия.

Литература

1. Артериальная гипертония и беременность: механизмы формирования, эффективность амлодипина (нормодипина) / И. М. Давидович [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11, № 4. – С. 1–7.
2. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
3. Веремей, И. С. Модифицированный метод определения NO^{3-} и NO^{2-} с помощью цинковой пыли в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И. С. Веремей [и др.] // Дисфункции эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: труды респ. науч.-практ. конф., Витебск, 16–17 ноября 2000 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: А. П. Солодков [и др.]. – Витебск, 2000. – С. 112–115.
4. Изменение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В. Б. Гаврилов [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
5. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов [и др.] // Лабораторное дело. – 1998. – № 5. – С. 12–16.
6. Медведев, Б. И. Нитроксидергические процессы и их коррекция при гестозе / Б. И. Медведев, А. М. Черепанова // Мать и дитя: материалы VI Рос. форума, Москва, 12–15 октября 2004 / МЗ и соц.разв. РФ, РАМН, научн. центр акуш. гинец. и перинат. РАМН; редкол.: В. И. Кулаков [и др.]. – Москва, 2004. – С. 129–130.
7. Петрищев, Н. Н. Дисфункция эндотелия и методы ее коррекции / Н. Н. Петрищев, Т. Д. Власов // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: труды III междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 18–20 мая 2004 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: Г. И. Сидоренко [и др.]. – Витебск, 2004. – С. 25–30.
8. Стальной, Д. М. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Д. М. Стальной, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович; под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
9. Шебеко, В. И. Эндотелий и система комплемента / В. И. Шебеко. – Витебск: ВГМУ, 1999. – 149 с.
10. Эндотелиальная дисфункция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика: методические рекомендации / Е. В. Мозговая [и др.]; под ред. Е. В. Мозговой. – СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2003. – 32 с.
11. Darley-Usmar, V. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system / V. Darley-Usmar // Pharm. Res. – 1996. – Vol. 13. – P. 649–662.
12. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiologia bohemoslovaca. – 1978. – Vol. 27. – P. 140–144.
13. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D. S. Celermajer [et al.] // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111–1115.
14. The role of endothelial function for ischemic manifestations of coronary atherosclerosis / M. Britten [et al.] // Herz. – 1998. – Vol. 23, №2. – P. 97–105.

Поступила 14.02.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СИСТЕМУ АНТИПЕРЕКИСНОЙ ЗАЩИТЫ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

СТЕНЬКО А.А., ЖУК И.Г., ЗИНЧУК В.В., БРАГОВ М.Ю.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»;
кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии

Резюме. Целью работы было изучение состояния ПОЛ-антиоксидантной защиты и системы микроциркуляции при резекции поджелудочной железы и исследование влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и фотодинамической терапии (ФДТ) на эти системы.

Установлено, что одновременно со снижением показателей ПОЛ наблюдалась активация антиоксидантной защиты в ткани поджелудочной железы начиная с 3 суток эксперимента. В крови к 7 суткам, параллельно с нарастанием окислительной деструкции липидов, снижалась активность антиоксидантной системы. К 14 суткам прослеживалась обратная связь в динамике показателей ПОЛ и антиоксидантной системы. При этом применение НИЛИ и ФДТ ведет к меньшему дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантной системе и тем самым корректирует микроциркуляторные нарушения при резекции поджелудочной железы.

Ключевые слова: резекция поджелудочной железы, ПОЛ, НИЛИ, ФДТ.

Abstract. The purpose of this investigation was to study lipid peroxidation-antioxidant and microcirculation system in case of pancreas resection and to research the influence of low level laser therapy (LLLT) and photodynamic therapy (PDT) on these systems.

It was determined, that simultaneously with the reduction of lipid peroxidation parameters activation of antioxidant defense was observed in pancreas tissue beginning with the 3rd day of the experiment. In the blood by the 7th day, in parallel with the increase of oxidizing lipid destruction, the activity of antioxidant system decreased. By the 14th day the feedback in the dynamics of LP-antioxidant system parameters was observed. Thus the application of LLLT and PDT results in smaller disbalance in prooxidant-antioxidant system and thereby prevents microcirculatory disorders in case of pancreas resection.

Ведение послеоперационного периода у больных, перенесших оперативные вмешательства на поджелудочной железе, является, по мнению большинства авторов, наиболее проблемным разделом абдоминальной хирургии, что связано, с одной сто-

роны, с высокими показателями летальности и частотой фатальных осложнений, с другой стороны, с неуклонным ежегодным ростом числа случаев хронического панкреатита [6, 8]. Благодаря проведенным научным изысканиям последних лет были получены новые сведения о патогенетических механизмах неблагоприятного течения послеоперационного периода при операциях на этом органе.

Адрес для корреспонденции: 230025, г. Гродно, ул. Свердлова, 3; р. тел. (80152) 72-11-72, моб. тел. 7809021, e-mail: profstenko@yandex.ru. – Стенько А.А.

Одним из звеньев патогенеза в развитии деструктивно-дегенеративных изменений, а также осложнений при резекции поджелудочной железы являются мембранные нарушения [3, 4, 5, 7]. Следствием дестабилизации клеточных мембран является продолжающийся аутолиз железы и системные органые нарушения. Доказано, что значительная роль в патологии клеточных мембран при резекции органа принадлежит процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. Увеличение количества продуктов ПОЛ приводит к развитию необратимых изменений, являющихся основой фрагментации и разрушения мембран, гибели клеток.

В ряде экспериментальных и клинических исследований была установлена прямая зависимость между активностью свободнорадикального окисления и степенью системных микроциркуляторных нарушений. Процессы ПОЛ имеют универсальный характер, и один из уровней реализации патологических эффектов – это система микроциркуляции [2].

Статистический анализ проведен процедурами пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Параметры подсчитаны с помощью описательной статистики (среднее значение, стандартная ошибка среднего). При определении значимости различий между средними величинами признаков использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

Методы

Мы попытались изучить состояние микроциркуляции и ПОЛ-антиоксидантной защиты при резекции поджелудочной железы и исследовать влияние низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и фотодинамической терапии (ФДТ) на эти системы. Исследования проводились на 60 белых беспородных крысах самцах массой 200-250 г. с чистой и гладкой шерстью и нормальной поведенческой активностью, находившихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде, с естественным световым режимом. Под внутримышечным калипсоловым наркозом выполняли срединную лапаротомию. Производили мобилизацию поджелу-

дочной железы с сохранением кровоснабжения селезенки, выполняли дистальную резекцию органа. Культю железы ушивали П-образными швами (полипропилен 5/0). Животные были разделены на три группы (по 20 в каждой): контрольная и две опытные. У животных первой опытной группы после выполнения резекции производили однократное интраоперационное облучение культи поджелудочной железы гелий-неоновым лазером (продолжительность облучения 5 мин), после чего передняя брюшная стенка ушивалась наглухо. В послеоперационном периоде этим животным выполняли чрезкожное в зоне проекции культи органа облучение лазером в течение 6 дней 1 раз в сутки. Во второй серии эксперимента (у крыс второй опытной группы) после оперативного вмешательства в брюшную полость вводился 1 мл раствора фотосенсибилизатора нильский синий концентрацией 10^{-6} моль/л и через 3 минуты интраоперационно активизировался низкоинтенсивным лазерным излучением в течение 5 минут. Ведение послеоперационного периода не отличалось от предыдущей серии эксперимента. Лазеротерапию в опытных группах осуществляли аппаратом «Родник 1» с длиной волны 0,637 мкм, мощностью датчика излучения 20 Вт.

Животных выводили из опыта на 3, 7, 14, 30 сутки после операции. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы оценивали с помощью определения концентрации диеновых конъюгатов, оснований Шиффа, токоферола и каталазы в крови и ткани поджелудочной железы по стандартным методикам. Оценку изменений в системе микроциркуляции железы при ее резекции проводили, выполняя наливку сосудистого русла через сердце черной тушью, по методу Н. А. Джавахишвили и М. Э. Комахидзе. Плотность сосудистого русла определяли по отношению количества проконтрастированных сосудов к площади кадра.

Результаты и обсуждение

Изучение показателей прооксидантной системы показало, что в послеоперационном периоде после резекции поджелудочной же-

лезы вслед за первоначальной активацией их значений к 3 суткам заболевания имеется тенденция к снижению их в ткани органа. При этом к 14 суткам наблюдения значения показателей диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) достоверно были ниже уровня, наблюдавшегося в 3 сутки на 5,5% ($p<0,001$) и 7% ($p<0,05$) (контроль), на 6,25% ($p<0,01$) и 16% ($p<0,001$) (опытная группа 1), на 9,6% ($p<0,05$) и 18% ($p<0,001$) (опытная группа 2) соответственно. Одновременно со снижением показателей перекисного окисления липидов наблюдалось повышение показателей антиоксидантной защиты. На 14 сутки по сравнению с 3 прирост значений каталазы и токоферола составил 38% ($p<0,001$) и 11,4% ($p<0,001$) (контроль), 25,6% ($p<0,01$) и 14,1% ($p<0,001$) (опытная группа 1), 38% ($p<0,001$) и 14,5% ($p<0,001$) (опытная группа 2) соответственно.

В послеоперационном периоде на 7-е сутки по сравнению с 3-ми отмечалось некоторое прогрессирование липопероксидации в гемолизатах эритроцитов во всех сериях эксперимента. Так, в контрольной группе наблюдалось достоверное увеличение показателей ДК на 15,5% ($p<0,05$) и ОШ на 17,6% ($p<0,001$), в первой опытной группе – 7,8% ($p<0,05$) и 13% ($p<0,01$) соответственно. Во второй – отмечали достоверное прогрессирование лишь ОШ на 7,9 % ($p<0,05$), в показателях ДК наблюдался регресс вплоть до 14 суток на 5,9% ($p<0,001$). Одновременно с увеличением показателей прооксидантной системы наблюдалось угнетение каталазы и токоферола во всех группах к 7-м суткам (контроль на 44,8% ($p<0,01$) и 4,1% ($p<0,001$), первая серия на 4,4% ($p<0,05$) и 4,1% ($p<0,001$), вторая серия на 4,7% ($p<0,05$) и 3,4% ($p<0,001$) соответственно), т.е. истощение антиоксидантной системы.

Таблица 1

Изменение показателей ПОЛ и АОС в поджелудочной железе крыс при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	12,42±0,45	14,7±0,24	11,8±0,16	12,42±0,31	13,48±0,12*	11,2±0,14*	11,16±0*	11,02±0,34***	10,5±0,03**
							#	##	##
ОШ, ЕД/мл	949,5±8,84	1153,3±5,03	1111,8±14,2	955,66±10,64	1098,1±18,33*	944,4±3,21***	741,6±2,08***	804,9±21,68***	773,1±9,6***
							####	####	####
Катал мкМ H ₂ O ₂ /сг Нв	5,67±0,29	3,13±0,28	4,915±0,22	5,296±0,27	5,065±0,35*	5,645±0,002*	7,705±0,1**	7,345±0,05***	7,405±0,07**
							##	##	###
Токоф мкМ	129,99±0,29	124,68±0,07	126,36±0	133,14±0,24**	127,68±0,28***	129,38±0,12***	139,83±0,16***	135,28±0,3***	138,96±0,16***
							####	####	####

Примечание: * $p<0,05$ – достоверность при сравнении с контролем;
 ** $p<0,01$ – достоверность при сравнении с контролем;
 *** $p<0,001$ – достоверность при сравнении с контролем;
 # $p<0,05$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ## $p<0,01$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ### $p<0,001$ – достоверность при сравнении с НИЛИ.

Таблица 2

**Изменение показателей ПОЛ и АОС в гемолизатах эритроцитов крыс
при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ**

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	12,42± 0,45	14,7± 0,24	11,8± 0,16	12,42± 0,31	13,48± 0,12 *	11,2± 0,14 *	11,16± 0 *	11,02± 0,34 ***	10,5± 0,03 **
ОШ, ЕД/мл	949,5± 8,84	1153,3± 5,03	1111,8±14,2	955,66± 10,64	1098,1± 18,33 *	944,4± 3,21 ***	741,6± 2,08 ***	804,9± 21,68 ***	773,1± 9,6 ***
Катал. мкМ H ₂ O ₂ /с г Нб	5,67± 0,29	3,13± 0,28	4,915± 0,22	5,296± 0,27	5,065± 0,35 *	5,645± 0,002 *	7,705± 0,1 **	7,345± 0,05 ***	7,405± 0,07 **
Токоф. мкМ	129,99± 0,29	124,68± 0,07	126,36± 0	133,14± 0,24 **	127,68± 0,28 ***	129,38± 0,12 ***	139,83± 0,16 ***	135,28± 0,3 ***	138,96± 0,16 ***

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность при сравнении с контролем;
 ** $p < 0,01$ – достоверность при сравнении с контролем;
 *** $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с контролем;
 # $p < 0,05$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ## $p < 0,01$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ### $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с НИЛИ.

К 14 суткам наблюдалось угнетение процессов ПОЛ и восстановление антиоксидантной системы во всех группах. Уменьшение в показателях ДК и ОШ в контрольной группе составило 19,7% ($p < 0,001$) и 3,6% ($p < \text{нед}$), в первой опытной группе 16,9% ($p < 0,001$) и 14% ($p < 0,001$) соответственно. Во второй опытной группе отмечали недостоверное убывание ОШ на 4%. Показатели каталазы и токоферола увеличивались к 14 суткам по сравнению с 7 на 36,3% ($p < 0,01$) и 1,3% ($p < 0,001$) в контрольной группе, 10,3% ($p < \text{нед}$) и 1,3% ($p < 0,01$) в первой серии, 0,8% ($p < \text{нед}$) и 2,7% ($p < 0,01$) во второй серии эксперимента. Причем самые низкие показатели прооксидантной и наиболее высокие антиоксидантной систем были во второй серии эксперимента и достоверно отличались от контроля и первой серии.

В плазме крови к 7 суткам по сравнению с третьими наблюдалась активация свободно-

радикальных процессов. Показатели ДК и ОШ в контрольной группе увеличивались на 51,4% ($p < 0,001$) и 13,1% ($p < \text{нед}$), в группе с применением НИЛИ – на 26,7% ($p < 0,001$) и 8,8% ($p < 0,01$), с применением ФДТ – на 27,6% ($p < 0,05$) и 9,9% ($p < \text{нед}$) соответственно. К 14 суткам в показателях ПОЛ в плазме крови отмечалась обратная тенденция: свободнорадикальные процессы затухали. Убывание ДК и ОШ в контрольной группе составило 59,5% ($p < 0,001$) и 19,3% ($p < 0,01$), в первой серии 77,8% ($p < 0,001$) и 14,3% ($p < 0,05$), во второй серии 89,7% ($p < 0,001$) и 15,3% ($p < 0,01$) соответственно.

При резекции поджелудочной железы в плазме, как и в эритроцитах к 7 суткам, одновременно с нарастанием окислительной деструкции липидов снижается активность антиоксидантной системы (АОС). К 14 суткам также прослеживается обратная связь в динамике

Таблица 3

**Изменение показателей ПОЛ и АОС в плазме крови крыс
при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ**

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	0,36± 0	0,74± 0,01	0,3± 0,009	0,33± 0,006 ***	0,45± 0,006 ***	0,1± 0,009 ***	0,21± 0,006 *** ###	0,29± 0,02 *** ###	0,03± 0,004 *** ###
ОШ, ЕД/мл	203,05± 2,86	233,7± 11,27	188,6± 2,68	146,95± 1,47 ***	161,05± 1,53 **	137,95± 5,16 ***	141,6± 5,2 ***	157,15± 3,5 **	133,05± 1,81 ***
Токоф. мкМ	22,025± 0,25	20,685± 0,14	20,73± 0,01	21,025± 0,17	21,01± 0,15	21,375± 0,02 ***	23,715± 0,009 *** ###	23,41± 0,13 *** ###	23,595± 0,04 *** ###

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность при сравнении с контролем;
 ** $p < 0,01$ – достоверность при сравнении с контролем;
 *** $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с контролем;
 ### $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с НИЛИ.

показателей ПОЛ и АОС: первые уменьшаются, вторые увеличиваются. Так, значения токоферола в контрольной группе уменьшились на 6,1% ($p < 0,01$), увеличение произошло на 0,2% ($p < \text{нед}$). В группах с применением НИЛИ и ФДТ колебания показателей Vit E были менее выражены по сравнению с контролем и недостоверны, составили 0,07% и 1,7% в первой, 1,3% и 0,8% во второй серии эксперимента.

Анализ морфометрических показателей, отражающих состояние микроциркуляторно-

го русла при резекции поджелудочной железы, показал, что применение НИЛИ вызвало достоверное на 30 сутки, а ФДТ на 14 и 30 сутки повышение плотности сосудистого русла в паренхиме культи органа в сравнении с животными, по отношению к которым данные методы лечения не применяли.

Механизмы антиоксидантной протекции организма при резекции поджелудочной железы в силу определенной хрупкости неспособны выполнять свою защитную функцию.

Таблица 4

**Морфометрические показатели плотности сосудистого русла
культи поджелудочной железы после резекции органа**

Сутки	Вид опыта	Плотность сосудистого русла
14	Контроль	4,52±0,23
	НИЛИ	4,75±0,11
	ФДТ	5,33±0,1*
30	Контроль	5,7±0,14
	НИЛИ	7,0±0,29*
	ФДТ	9,16±0,29** #

Примечание: * - $p < 0,05$ по отношению к контролю данного срока;
 ** - $p < 0,001$ по отношению к контролю данного срока;
 # - $p < 0,01$ по отношению к НИЛИ данного срока.

Так, к 7 суткам после резекции наблюдалось увеличение показателей липопероксидации и уменьшение АОС, которые были наиболее выражены в контрольной группе животных. Это объяснялось прогрессированием деструктивного процесса в ткани поджелудочной железы, переходом заболевания в фазу гнойно-некротических осложнений с активацией фагоцитоза, что стимулирует усиление процессов ПОЛ. Менее выраженные показатели прооксидантной и более значительные АОС систем, а также незначительные их колебания в крови в группе животных с применением ФДТ обусловлены более благоприятным, без тяжелых осложнений, течением послеоперационного периода.

Также необходимо учесть, что обнаруженного накопления продуктов ПОЛ (ДК и ОШ) и депрессии антиоксидантных ферментов в периферической крови на 7 сутки в поджелудочной железе не происходило, то есть при резекции железа оказывалась длительно подвержена влиянию оксидантного стресса.

Таким образом, активация антиоксидантной системы и торможение перекисного окисления липидов при резекции поджелудочной железы происходят не сразу, а лишь после первоначальной стимуляции ПОЛ. Уровень продуктов перекисного окисления липидов возрастает, что в конечном итоге и приводит к активации АОС организма и торможению процессов ПОЛ. Воздействие НИЛИ и применение ФДТ способствуют повышению утилизации кислорода и снижению потребления его тканями, что ведет к меньшему дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантной системе и тем самым предотвращает развитие мембранных нарушений при резекции поджелудочной железы.

Более выраженное снижение активности процессов ПОЛ и активизация АОС в результате применения НИЛИ и ФДТ обуславливает более значительное увеличение количества функционирующих сосудов по сравнению с контрольной группой. Механизм активации регионарных микроциркуляторных процессов заключается в увеличении количества функционирующих капилляров, ранее находившихся в резервном состоянии, а так-

же в улучшении реологических свойств крови. При этом в результате действия НИЛИ и ФДТ не происходит слипания эритроцитов между собой, и последние способны проникать в капилляры, которые были закрыты для них в результате некроза, патологической закупорки сосудов, состояния ишемии.

Заключение

Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения и применение фотодинамической терапии в послеоперационном периоде при резекции поджелудочной железы тормозят процессы перекисного окисления липидов и повышают уровень антиоксидантной защиты организма, способствуя тем самым ускорению восстановления структуры и функции микроциркуляторного русла, усилению образования новых микрососудов в культе поджелудочной железы.

Литература

1. Владимиров, В. Г. Острый панкреатит. Экспериментально-клиническое исследование / В. Г. Владимиров, В. И. Сергиенко. – М: Медицина, 1986. 240 с.
2. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на микроциркуляцию и систему антиперекисной защиты при экспериментальном панкреатите / Ю. С. Винник [и др.] // Методология флоуметрии. – 1999. – С. 69–79.
3. Волков, В. Е. Резекция поджелудочной железы / В. Е. Волков, Е. С. Катанов; под ред. В. В. Амосова. – Саранск: Изд-во Сарат. ун-та, 1990. – 132 с.
4. Нерешенные вопросы в лечении больных острым деструктивным панкреатитом / С. Р. Добровольский [и др.] // Анналы хирургии. – 2004. – № 1. – С. 15–20.
5. Ермолов, А. С. Комплексное лечение острого панкреатита с применением современных технологий / А. С. Ермолов, Д. А. Благовестнов, С. Н. Новосел // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – № 3. – С. 64–66.
6. Выбор рациональной тактики лечения острого панкреатита / П. А. Иванов [и др.] // Хирургия. – 1998. – № 9. – С. 50–53.
7. Шугаев, А. И. Малоинвазивные методики в комплексном лечении больных с острым панкреатитом и его осложнениями / А. И. Шугаев, А. Л. Андреев // Вестник хирургии. – 1999. – № 5. – С. 85–89.
8. Kloppel, G. Pathomorphology of acut pancreatitis / G. Kloppel // Ann. Ital. Chir. – 1995. – Vol. 66, N 2. – P. 149–154.

Поступила 25.05.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СПЕКТРА МОЩНОСТИ ЭЭГ У БОЛЬНЫХ С ТРАНЗИТОРНЫМИ ИШЕМИЧЕСКИМИ АТАКАМИ В КАРОТИДНОМ БАССЕЙНЕ

БЕЛЯВСКИЙ Н.Н.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. С целью выявления динамики изменений спектральной мощности различных частотных диапазонов ЭЭГ обследовано 18 больных 49-66 лет с транзиторными ишемическими атаками (ТИА) в левом каротидном бассейне и 24 практически здоровых добровольца аналогичного возраста. Выявлено распространенное повышение мощности дельта и тета диапазона с небольшой межполушарной асимметрией и некоторым акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения на 2-4 день после перенесенных ТИА, отчетливая положительная динамика к 10-14 дню после перенесенной атаки и отсутствие локальных очагов медленной активности. Наблюдалось снижение мощности альфа колебаний на 2-4 день после перенесенных ТИА в большинстве отведений, за исключением затылочных и теменных, что указывало на снижение активности глубинных мозговых генераторов альфа колебаний, отличных от генераторов физиологического альфа ритма, а также положительная динамика к 10-14 дню после перенесенных атак. Выявлено снижение мощности субдиапазонов альфа-2 и альфа-3 колебаний на 2-4 день после перенесенных ТИА с межполушарной асимметрией и акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения, а также слабо выраженная динамика изменений мощности альфа-3 субдиапазона к 10-14 дню после перенесенных атак. Снижение мощности бета-1 колебаний отличалось отчетливой межполушарной асимметрией (с акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения). Тенденция к распространению по поверхности головы зоны со сниженными значениями мощности бета-1 колебаний к 10-14 дню после перенесенных атак, вероятно, являлась отражением стадийности компенсаторных реакций со стороны восходящей активирующей системы головного мозга.

Ключевые слова: спектр мощности ЭЭГ, транзиторные ишемические атаки, каротидный бассейн

Abstract. 18 patients aged 49-66 with transient ischemic attacks (TIA) in the region supplied by the left carotid artery were examined in order to determine the dynamics of EEG power spectrum changes. Control group included 24 practically healthy volunteers of the same age. An extensive increase in spectral power of delta and theta rhythm with a slight asymmetry between hemispheres and a certain accent at the affected side was revealed on the 2nd-4th day after TIA. Positive dynamics of spectral power of delta and theta rhythm was also observed by the 10th-14th day after TIA with the absence of focal lesions of slow wave activity. A decrease in power of alpha activity was observed in the majority of electrodes on the 2nd-4th day after TIA with the exception of occipital and parietal electrodes. It means that the decreasing of activity of the deep cerebral generators of alpha activity differs from the generators of physiological alpha rhythm. The positive dynamics of spectral power of alpha activity was also observed by the 10th-14th day after TIA. A decrease in power of alpha-2 and alpha-3 subdiapasons with a slight asymmetry between hemispheres and a certain accent at the affected side were revealed on the 2nd-4th day after TIA. A slightly positive dynamics of power changes of alpha-3 subdiapason was observed by the 10th-14th day after TIA. The decrease in power of beta-1 activity was characterized by a distinct asymmetry between hemispheres with an accent at the affected side. The region with decreased values of beta-1 activity power was characterized by the tendency to spread on the surface of the head by the 10th-14th day after TIA. It showed perhaps the presence of staged sanogenetic reactions on the part of ascending activating system of the brain.

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра неврологии и нейрохирургии. р.тел. 223995. - Белявский Н.Н.

С конца шестидесятых годов прошлого столетия практически до недавнего времени основным диагностическим признаком транзиторных ишемических атак (ТИА) считалось наличие очагового неврологического дефицита, соответствующего бассейну кровоснабжения одной из церебральных артерий и сохраняющегося в течение не более 24 часов после перенесенного приступа [1-3, 8, 11-13]. Последующее внедрение в клиническую практику нейровизуализационных методов исследования (КТ и МРТ) привело некоторых исследователей к подразделению транзиторных ишемических атак на ТИА без очаговых изменений при нейровизуализации и ТИА с фокальными поражениями [8, 11-13]. В соответствии с указанными представлениями трактовались и изменения на ЭЭГ у больных после перенесенных ТИА: допускалось наличие у таких пациентов фокальных очагов медленной активности, проводилось их сопоставление с резидуальными очаговыми изменениями в неврологическом статусе и соответствующими очаговыми поражениями, выявленными при проведении нейровизуализации [8, 11-13]. Проведенные в последующие годы экспериментальные исследования по вопросу обратимых очаговых ишемических поражений мозга, внедрение в клиническую практику современных методов функциональной нейровизуализации (диффузионной и перфузионной МРТ, позитронной электронной томографии) привели к некоторому изменению диагностических критериев ТИА [6-7, 9-10]. В настоящее время диагностические критерии ТИА, помимо указанного временно-го, включают отсутствие у больных объективных признаков острого инфаркта мозга по данным как неврологического, так и рутинного нейровизуализационного (рутинной КТ или МРТ) обследования [13]. С учетом этих данных представляется необходимым пересмотр некоторых результатов электроэнцефалографического обследования пациентов после перенесенных ТИА. При этом количественный спектральный анализ ЭЭГ, в отличие от рутинного ее анализа, по данным большинства исследователей, отличается значительно большей чувствительностью и информативностью в

диагностике нарушений функционального состояния ЦНС, в особенности при отсутствии грубой патологии [4-6, 11-12].

Целью настоящего исследования явился анализ изменений спектра мощности различных частотных диапазонов ЭЭГ у больных с ТИА в каротидном бассейне (КБ) в динамике течения заболевания.

Методы

Обследовано 18 больных с ТИА в левом каротидном бассейне 49-66 лет и 24 практически здоровых добровольца аналогичного возраста. Отбор пациентов с ТИА в одном бассейне кровообращения был произведен с целью выявления статистически значимых межполушарных различий спектра мощности различных частотных диапазонов ЭЭГ. Всем пациентам проведено нейровизуализационное исследование головного мозга (КТ или МРТ), ультразвуковая доплерография и дуплексное сканирование церебральных артерий. Больные с ТИА получали медикаментозную патогенетическую терапию, которая включала прием дезагрегантов, нейропротекторов, по показаниям проводилась гипотензивная терапия.

Исследование производили на компьютерном электроэнцефалографе Нейрон-Спектр-4/ВП фирмы Нейрософт (г. Иваново, Россия). Регистрацию ЭЭГ осуществляли в 21 монополярном отведении с расположением электродов в соответствии с международной схемой «10-20%», референтные электроды располагались на мочках ушей ипсилатерально, заземляющий электрод – в лобной области [4-6, 11-12]. Постоянная времени составляла 0,32 с, верхняя граница полосы пропускания частот – 35 Гц. Пациенты находились в положении сидя. Регистрация ЭЭГ производилась не менее 5 минут. Спектральный анализ ЭЭГ производился по методу быстрого преобразования Фурье по специальной компьютерной программе электроэнцефалографа. Выбирались безартефактные фрагменты ЭЭГ в виде эпох по 5,12 с (1024 такта). Анализировались 8-10 эпох общей продолжительностью 40-50 с. Расчет пара-

метров спектральной мощности производился для каждого стандартного диапазона ЭЭГ: дельта (0,5-3,9 Гц), тета (4,0-7,9 Гц), альфа (8,0-12,9 Гц), бета-1 (13,0-19,9 Гц) и бета-2 (20,0-40,0 Гц). Кроме того, проводился анализ спектральной мощности субдиапазонов тета ритма – тета-1 (4,0-5,9 Гц) и тета-2 (6,0-7,9 Гц), а также альфа ритма – альфа-1 (7,5-8,9 Гц), альфа-2 (9,0-10,5 Гц) и альфа-3 (10,5-12,9 Гц). При анализе полученных результатов, помимо оценки числовых значений мощности спектров ЭЭГ, с помощью специальной компьютерной программы электроэнцефалографа производилось их картирование. Исследования проводились утром, до приема медикаментозных препаратов, на 2-4 и 10-14 день после перенесенной ТИА.

Результаты

У 11 больных причиной ТИА была изолированная артериальная гипертензия. У 5 пациентов ТИА имели место на фоне гемодинамически значимого поражения внутренних

сонных артерий (ВСА) вследствие углового изгиба (кинкинга) одной из ВСА, иногда в сочетании с кинкингом другой ВСА или атеросклеротического поражения ВСА. У 2 больных с мерцательной аритмией был определен кардиоэмболический патогенез ТИА. На 2-4 день после перенесенной ТИА у обследованных пациентов при отсутствии в неврологическом статусе очаговых неврологических симптомов, указывающих на перенесенный инсульт, сохранялись жалобы на: периодическую головную боль (у 72,2%), тяжесть в голове (у 38,9%), общую слабость (у 27,8%), шум в голове (у 22,2%), нарушение сна (у 22,2%). По окончании курса терапии, на 10-14 день после перенесенной ТИА у больных сохранялись жалобы на: периодическую головную боль (у 33,3%), тяжесть в голове (у 16,6%), шум в голове (у 15%), нарушение сна (у 5,6%). У 33,3% больных по данным нейровизуализационных исследований (КТ или МРТ головного мозга) имелись признаки церебральной микроангиопатии, свидетельствующие о наличии дисциркуляторной энцефалопатии.

Таблица 1

Мощность основных диапазонов ЭЭГ у лиц контрольной группы, мкВ², M±m

Отведения	Основные диапазоны ЭЭГ				
	дельта	тета	альфа	бета-1	бета-2
Fp1A1	86,6±8,8	18,8±2,0	26,4±2,1	13,5±1,7	16,1±2,3
Fp2A2	79,8±9,4	18,8±1,8	27,4±2,7	13,4±1,6	16,1±2,2
FpzA2	85,8±11,0	21,4±2,2	31,6±3,4	14,9±1,6	15,7±2,1
F3A1	67,6±7,5	26,1±3,1	37,2±4,5	15,3±1,7	13,3±1,2
F4A2	61,7±5,7	25,2±3,9	42,8±7,0	14,3±1,8	13,1±1,2
FzA1	64,0±5,3	27,8±3,6	39,0±4,6	16,6±1,9	13,0±1,2
C3A1	53,8±5,5	25,5±3,6	48,8±9,0	16,1±1,7	12,6±1,3
C4A2	51,1±5,5	26,6±4,4	52,1±10,5	16,6±2,1	13,5±1,5
CzA2	61,4±5,6	29,1±4,5	60,0±11,8	18,5±2,2	15,1±1,6
P3A1	53,9±6,1	25,5±3,7	57,8±11,0	17,6±1,9	13,2±1,6
P4A2	59,1±8,0	24,8±3,3	49,5±7,9	16,3±1,9	11,8±1,2
PzA1	57,7±4,7	31,3±4,7	57,7±9,1	19,3±1,9	13,9±1,4
O1A1	37,7±4,1	23,2±5,6	87,1±16,6	13,5±1,3	9,0±0,8
O2A2	35,3±3,3	18,8±3,0	76,4±14,8	13,6±1,2	9,9±0,7
OzA2	43,0±3,0	26,9±4,6	87,9±15,1	16,0±1,3	10,5±0,7
F7A1	54,3±3,8	22,5±3,0	38,1±5,6	14,1±1,6	11,7±1,1
F8A2	59,4±7,8	23,7±3,7	42,9±7,1	14,3±1,9	11,8±1,3
T3A1	53,5±4,7	25,5±3,5	48,2±9,3	15,7±1,6	12,4±1,2
T4A2	49,9±5,1	24,1±4,0	43,8±7,3	15,1±2,2	11,6±1,3
T5A1	46,2±4,9	23,6±3,7	51,1±10,7	15,6±1,7	11,6±1,4
T6A2	42,0±3,2	22,7±3,4	47,2±8,6	15,7±2,0	11,2±1,1

Как видно из таблицы 1, у лиц контрольной группы наблюдалось отчетливое доминирование спектральной мощности двух диапазонов ЭЭГ – дельта и альфа. При этом спектральная мощность альфа активности была максимальной в затылочных отведениях и уменьшалась по направлению к лобным. Аналогичная тенденция имела место и в отношении спектральной мощности субдиапазонов альфа колебаний, в особенности альфа-1 и альфа-2 (таблица 2). Противоположную направленность имела спектральная мощность дельта активности. Подобное распределение пиков спектральной мощности указанных диапазонов отмечается многими исследователями [4-5].

На 2-4 день после перенесенной ТИА у больных наблюдалось достоверное повышение мощности дельта колебаний во всех отведениях, несколько более выраженное в левом полушарии, в особенности в лобных отведениях (таблица 3). Достоверное повышение мощности тета ритма имело место в полюсных и сагиттальном лобном отведениях так-

же с некоторым акцентом слева. Как видно из таблицы 4, спектральная мощность всего диапазона тета ритма была повышена преимущественно за счет субдиапазона тета-1 (во всех использованных отведениях, в особенности в лобных полюсных). Спектральная мощность тета-2 субдиапазона была повышена в более ограниченном числе отведений (преимущественно лобных, отдельных центральных и теменных отведениях с некоторым акцентом в левом полушарии). Мощность альфа активности на 2-4 день после перенесенной ТИА оказалась достоверно ниже контрольных значений во многих отведениях, за исключением теменных и затылочных отведений. При этом наблюдалось достоверное снижение мощности субдиапазонов альфа-2 и альфа-3 активности (таблица 4) преимущественно в лобных и некоторых височных отведениях, также с некоторым акцентом слева. Спектральная мощность бета-1 колебаний оказалась достоверно ниже контрольных значений в отдельных лобных, центральных, теменных и затылочных отведениях преимущественно сле-

Таблица 2

Мощность субдиапазонов ЭЭГ у лиц контрольной группы, мкВ², M±m

Отведения	Субдиапазоны ЭЭГ				
	тета-1	тета-2	альфа-1	альфа-2	альфа-3
Fp1A1	9,3±1,0	9,8±1,1	10,3±1,5	10,7±1,2	8,3±1,1
Fp2A2	9,5±0,7	9,9±1,1	11,2±1,9	10,7±1,3	8,2±1,2
FpzA2	10,6±1,0	11,2±1,3	12,0±2,1	11,9±1,4	10,3±1,6
F3A1	11,9±1,0	13,6±2,2	15,0±3,0	14,3±1,8	10,8±1,7
F4A2	11,6±1,5	13,6±2,4	16,8±4,0	15,7±2,1	10,9±1,9
FzA1	13,1±1,4	15,2±2,4	16,5±3,0	15,0±1,8	12,0±2,0
C3A1	11,1±1,1	14,0±2,6	22,3±6,7	17,5±2,9	12,2±1,9
C4A2	12,4±1,7	14,6±2,6	24,8±7,9	18,6±3,0	12,0±1,9
CzA2	13,5±1,7	16,0±2,8	28,1±9,0	21,7±3,3	14,1±2,3
P3A1	10,9±1,2	14,3±2,6	23,9±7,4	23,4±5,2	13,9±2,4
P4A2	12,1±1,3	12,9±2,0	20,9±6,1	21,9±4,7	13,6±2,5
PzA1	13,7±1,4	16,2±2,9	31,3±10,7	32,1±6,9	16,2±2,3
O1A1	8,2±1,3	14,6±4,5	53,2±24,9	37,6±9,2	14,8±2,9
O2A2	8,3±1,1	15,0±4,4	39,5±18,3	28,4±4,7	15,0±3,6
OzA2	10,9±1,3	17,8±3,3	48,8±20,2	39,3±7,2	18,9±3,3
F7A1	10,5±1,0	11,8±2,1	13,7±2,9	13,6±1,7	10,1±1,7
F8A2	10,9±1,3	13,2±2,4	15,7±3,7	15,8±2,3	10,1±1,8
T3A1	11,4±1,1	13,8±2,6	22,4±6,9	17,3±2,9	12,0±1,9
T4A2	11,1±1,5	13,4±2,5	19,9±5,7	15,6±2,3	11,2±2,0
T5A1	9,9±1,2	13,5±2,6	22,5±7,3	17,0±3,0	11,5±2,0
T6A2	10,6±1,3	12,3±2,1	21,3±6,7	16,3±2,6	12,3±2,5

Таблица 3

**Мощность основных диапазонов ЭЭГ у больных на 2-4 день после перенесенной ТИА,
мкВ², M±m**

Отведения	Основные диапазоны ЭЭГ				
	дельта	тета	альфа	бета-1	бета-2
Fp1A1	300,1±58,3***	58,1±14,5***	19,1±3,0*	11,2±1,9	15,2±2,9
Fp2A2	228,3±32,4***	44,4±10,0**	19,6±2,9*	10,6±1,4	15,3±2,3
FpzA2	290,6±61,6***	48,4±8,8***	21,5±3,0*	11,7±2,6	13,3±3,3
F3A1	109,5±16,1**	44,3±14,4	21,6±3,9*	9,8±1,5*	10,2±0,4*
F4A2	100,7±13,1**	44,6±14,5	19,6±3,6*	10,7±2,1	11,8±0,9
FzA1	118,1±29,5*	58,0±21,9*	26,9±5,6	12,0±2,7	11,8±1,0
C3A1	95,0±18,9**	44,6±17,6	24,7±5,2*	11,2±2,4*	11,0±0,7
C4A2	83,1±14,5*	52,4±20,7	25,0±5,6*	13,7±3,4	14,0±1,6
CzA2	91,1±15,7*	50,6±17,6	36,0±7,5	14,0±3,4	13,0±1,5
P3A1	116,6±40,8*	66,4±33,0	44,2±13,1	11,3±2,3*	10,9±0,8
P4A2	92,9±16,1*	50,9±19,9	53,6±15,5	15,6±4,3	11,9±1,1
PzA1	145,3±42,1**	54,5±23,9	50,5±14,9	12,2±2,4*	12,3±1,3
O1A1	55,6±10,0*	26,2±9,4	47,6±12,4	9,8±2,7	8,8±0,9
O2A2	59,1±10,5**	53,0±25,6	62,5±18,8	12,1±2,3	9,9±1,0
OzA2	66,1±8,3**	67,4±31,9	76,1±23,0	12,1±2,3*	10,8±0,8
F7A1	103,4±17,3***	40,5±14,3	19,8±3,8*	9,5±1,4*	11,0±0,9
F8A2	90,0±8,9**	39,5±13,1	17,8±3,3**	10,6±1,9	11,8±0,9
T3A1	79,4±17,5*	44,4±17,9	23,8±5,3*	10,8±2,3	10,9±0,6
T4A2	78,0±13,2*	48,9±20,5	23,5±5,9*	12,2±2,7	13,4±1,4
T5A1	101,9±22,5**	45,7±18,5	31,2±6,4	12,8±2,9	10,9±0,7
T6A2	87,7±17,0**	46,4±18,1	39,1±11,6	15,4±4,3	12,3±1,4

Примечание: достоверность различий *– p<0,05; **– p<0,01; ***– p<0,001 при сравнении с контрольной группой.

Таблица 4

**Мощность субдиапазонов ЭЭГ у больных на 2-4 день после перенесенной ТИА,
мкВ², M±m**

Отведения	Субдиапазоны ЭЭГ				
	тета-1	тета-2	альфа-1	альфа-2	альфа-3
Fp1A1	33,2±8,5***	24,3±6,3**	14,2±4,0	8,5±1,4	6,0±1,3
Fp2A2	26,5±6,0***	17,9±4,1*	10,9±2,8	8,1±0,6	5,6±0,7
FpzA2	27,8±5,6***	18,2±3,4*	11,3±2,7	9,6±1,0	5,0±0,8**
F3A1	21,6±7,3*	21,6±7,2	13,7±4,6	9,2±1,3*	6,3±0,8*
F4A2	23,6±7,5*	21,0±6,9	11,9±3,6	9,8±1,2*	6,2±0,8*
FzA1	27,6±10,1*	30,1±11,8	18,1±7,2	11,8±1,9	8,5±1,1
C3A1	23,8±8,3*	25,1±9,1*	16,0±6,4	11,2±1,9	7,5±1,0*
C4A2	25,3±8,9*	27,7±11,6	15,8±6,5	11,5±1,9	8,6±1,6
CzA2	25,6±8,7*	24,8±8,9	15,2±4,7	18,4±4,2	11,1±1,9
P3A1	29,5±13,4*	36,8±19,6*	26,7±14,1	26,6±8,3	14,5±3,5
P4A2	25,7±9,7*	37,4±18,2*	26,7±13,4	25,0±6,7	13,9±2,9
PzA1	29,7±11,8*	34,8±18,0	26,1±13,3	26,3±8,1	15,3±3,5
O1A1	12,8±3,4*	15,2±6,1	23,1±5,4	21,6±8,4	11,7±3,2
O2A2	19,3±7,8*	33,9±17,8	32,9±17,7	30,9±6,9	14,0±2,4
OzA2	24,6±8,6*	42,7±23,4	37,4±20,4	42,1±12,5	21,0±4,9
F7A1	20,0±7,3*	20,4±7,0*	12,8±4,6	8,6±1,3*	5,8±0,7*
F8A2	20,4±6,5*	19,3±6,7	11,3±3,8	7,6±0,9**	5,8±0,7*
T3A1	21,5±8,5*	22,9±9,4	15,6±6,5	10,6±1,8*	7,3±1,0*
T4A2	22,9±8,6*	26,4±11,8	15,5±6,9	10,8±2,0	8,0±1,6
T5A1	23,0±8,6*	22,9±9,9	16,0±6,9	16,2±3,7	9,4±1,4
T6A2	24,2±9,9*	36,5±18,3	25,9±13,3	19,6±4,9	11,7±2,3

Примечание: достоверность различий *– p<0,05; **– p<0,01; ***– p<0,001 при сравнении с контрольной группой.

ва. Мощность же бета-2 колебаний была снижена только в одном отведении – F3A1.

На 10-14 день после перенесенной ТИА во многих использованных отведениях наступала нормализация средних значений спектральной мощности дельта колебаний (таблица 5). Повышенные значения спектральной мощности дельта колебаний сохранялись только в лобных (особенно полюсных) и сагиттальном теменном отведениях при достоверном снижении разницы средних значений по сравнению с контролем. Аналогичная тенденция, только менее отчетливая, имела место и в отношении спектральной мощности всего диапазона тета колебаний. При этом динамика изменений средней спектральной мощности субдиапазонов тета ритма была более заметной (таблица 6). Выраженные изменения касались тета-1 субдиапазона: в подавляющем большинстве отведений, за исключением лобных, отдельных теменных и затылочных отведений, происходила нормализация средних величин спектральной мощности. Аналогичную динамику изменений имели средние значения спектральной мощности тета-2 субдиапазона: достоверные различия по сравнению с контролем сохранялись только в отведении Fp1A1. Положительная динамика отмечалась также в отношении средней спектральной мощности всего диапазона альфа активности: достоверная разница по сравнению с контролем сохранялась в лобных отведениях и одном центральном – CzA2. При этом более отчетливые изменения наблюдались в отношении альфа-2 субдиапазона (нормализация средних значений во всех отведениях), в то время как изменения альфа-3 субдиапазона оказались менее выраженными (сохранялось снижение средней мощности в некоторых лобных, центральных и височных отведениях). Примечательной была динамика изменений бета активности. В то время как изменения средней мощности бета-2 колебаний были минимальными на протяжении всего периода наблюдения (только в одном из лобных отведений), снижение спектральной мощности бета-1 колебаний на 10-14 день после перенесенной ТИА наблюдалось в большем числе отведений, чем на 2-4 день после атаки.

Обсуждение

Распространенное повышение спектральной мощности медленной активности в обоих полушариях головного мозга у больных на 2-4 день после перенесенных ТИА может иметь несколько объяснений. Во-первых, подобное распространенное повышение медленной активности в остром периоде нарушений мозгового кровообращения многие исследователи трактуют как общемозговые изменения на ЭЭГ, возникающие вследствие ирритации неспецифических структур головного мозга. Во-вторых, распространенный характер повышения медленной активности связывают с перестройкой деятельности проекционных и ассоциативных систем мозга, возникающей даже при небольшом поражении одного из полушарий. Несмотря на некоторую асимметрию спектральной мощности дельта и тета колебаний, а также субдиапазонов тета ритма, полученные данные не свидетельствовали о наличии локальных очагов медленной активности в полушарии на стороне бассейна нарушения кровообращения. Подтверждением этому может служить отчетливая положительная динамика изменений спектральной мощности медленных колебаний к 10-14 дню после перенесенной ТИА. О повышении спектральной мощности медленных колебаний, не связанном с локальным поражением мозга, у больных после перенесенных ишемических нарушений мозгового кровообращения сообщается в других исследованиях [4-5]. В некоторых единичных ранее выполненных исследованиях сообщается о наличии очагов патологической дельта и тета активности у больных после перенесенных так называемых ТИА, при этом подчеркивается взаимосвязь спектральных параметров медленной активности со степенью выраженности неврологического дефекта и очаговых изменений на компьютерных томограммах [8, 11-13]. Полученные нами данные не подтверждают результатов указанных исследований, а также соответствуют современным представлениям о клинических проявлениях и патофизиологической сущности ТИА, характеризующихся полностью обратимым в течение суток неврологическим дефи-

Таблица 5

**Мощность основных диапазонов ЭЭГ у больных на 10-14 день после перенесенной ТИА,
мкВ², M±m**

Отведения	Основные диапазоны ЭЭГ				
	дельта	тета	альфа	бета-1	бета-2
Fp1A1	143,1±19,8**	36,5±8,6**	21,0±3,0	11,8±1,8	16,4±3,4
Fp2A2	145,2±21,4**	38,6±10,1**	21,8±2,7	10,4±1,2	15,3±2,4
FpzA2	151,4±19,7**	48,5±11,2**	23,6±3,3	13,7±2,5	18,7±3,5
F3A1	128,5±22,6**	40,2±11,1	25,9±4,0*	10,4±1,2*	11,0±0,7
F4A2	73,5±7,4	26,1±3,9	25,0±3,2*	11,1±1,6	11,6±1,4
FzA1	84,3±11,9*	32,9±7,6	32,4±5,5	10,3±1,5*	10,1±0,8*
C3A1	66,4±9,4	32,7±12,4	29,3±5,9	10,9±1,5*	11,0±1,0
C4A2	60,9±6,4	25,9±6,1	31,6±6,8	11,8±2,4	10,0±1,0
CzA2	64,9±7,3	29,9±6,1	31,8±4,5*	13,0±2,5	11,9±1,3
P3A1	78,1±20,3	40,6±23,8	39,2±11,1	12,6±2,1	10,7±0,9
P4A2	63,7±9,4	31,1±13,4	41,9±11,1	13,8±2,7	9,6±0,9
PzA1	84,3±23,4*	42,3±23,3	50,5±12,5	11,8±1,8**	10,7±1,2
O1A1	50,3±14,4	20,4±10,8	49,5±10,8	9,0±1,6*	7,7±0,5
O2A2	47,9±12,2	17,3±5,7	47,5±8,0	10,8±2,4	8,0±0,9
OzA2	48,1±6,7	40,7±22,5	55,1±12,2	12,3±1,8*	10,0±0,7
F7A1	63,7±8,0	31,3±11,5	23,1±4,3*	9,7±1,2*	12,2±1,3
F8A2	55,4±6,3	21,5±3,7	25,3±2,7*	10,3±1,5	9,6±0,9
T3A1	64,0±9,4	30,1±12,3	27,8±5,8	10,1±1,3*	10,7±0,9
T4A2	50,8±6,4	22,5±6,2	26,3±6,7	12,0±2,4	9,0±0,8
T5A1	60,1±7,5	36,0±20,3	32,4±8,1	12,1±2,1	10,6±1,0
T6A2	50,3±8,2	28,3±13,5	32,8±10,8	14,5±3,2	8,7±0,8

Примечание: достоверность различий *– p<0,05; **– p<0,01 при сравнении с контрольной группой.

Таблица 6

**Мощность субдиапазонов ЭЭГ у больных на 10-14 день после перенесенной ТИА,
мкВ², M±m**

Отведения	Субдиапазоны ЭЭГ				
	тета-1	тета-2	альфа-1	альфа-2	альфа-3
Fp1A1	23,1±5,4**	17,7±4,4*	11,3±2,5	10,5±1,8	8,6±2,6
Fp2A2	32,8±9,1**	14,0±3,2	9,9±2,1	9,5±1,4	5,4±0,5
FpzA2	28,0±5,6***	13,8±2,2	9,1±1,3	10,9±1,8	5,7±0,9*
F3A1	27,1±7,3**	20,9±6,9	14,4±3,6	13,5±2,4	7,4±0,6
F4A2	14,2±2,6	12,8±2,1	12,9±3,3	11,4±1,3	6,8±0,5
FzA1	17,3±4,1	18,8±5,5	15,8±5,2	14,4±2,2	7,6±0,7
C3A1	18,0±5,9	23,6±9,9	18,3±7,2	14,7±2,7	7,7±1,1
C4A2	13,2±2,6	16,3±5,1	22,6±10,3	12,7±1,8	7,5±1,1
CzA2	15,7±2,8	18,6±4,9	16,6±4,4	16,8±2,5	8,1±1,0*
P3A1	24,9±10,7*	36,7±19,7	33,4±17,8	18,9±3,7	10,0±2,1
P4A2	15,8±4,3	26,6±12,7	39,8±22,2	16,8±2,9	9,1±1,6
PzA1	26,9±11,3	35,5±18,5	39,3±21,7	23,3±4,1	11,7±2,1
O1A1	16,0±7,3	14,1±6,3	16,5±6,7	20,2±4,9	9,6±1,5
O2A2	8,6±1,8	13,0±5,3	21,1±9,0	28,8±5,0	9,1±1,5
OzA2	22,0±7,9*	39,5±20,9	41,9±22,1	27,1±4,9	13,0±2,2
F7A1	20,1±7,6*	19,1±7,2	12,8±3,7	12,4±2,5	5,9±0,6*
F8A2	12,0±2,5	10,9±2,1	11,1±3,4	10,6±1,3	5,7±0,5*
T3A1	17,4±5,8	22,9±9,9	18,1±7,2	14,2±2,7	7,1±1,0*
T4A2	12,1±2,8	15,0±5,1	21,2±10,4	12,2±1,8	6,5±1,0*
T5A1	22,1±9,4	31,3±16,6	24,0±11,8	14,9±2,8	9,3±2,0
T6A2	14,4±4,5	25,6±12,8	39,2±22,5	14,1±2,2	8,5±1,7

Примечание: достоверность различий *– p<0,05; **– p<0,01; ***– p<0,001 при сравнении с контрольной группой.

цитом и отсутствием очаговых изменений при нейровизуализации [6-7, 9-10]. Снижение средней спектральной мощности альфа колебаний в большинстве анализируемых отведений, за исключением затылочных и теменных, указывает на снижение активности глубинных мозговых генераторов альфа колебаний, отличных от генераторов физиологического альфа ритма, регистрируемого в затылочных отведениях [5]. Об этом же свидетельствуют изменения средней спектральной мощности альфа-2 и альфа-3 субдиапазонов. При этом изменения альфа-3 субдиапазона характеризовались более отчетливой межполушарной асимметрией с акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения. Положительная динамика клинических симптомов заболевания сопровождалась положительной динамикой изменений спектральной мощности как всего диапазона альфа активности, так и альфа-2 субдиапазона. В то же время, динамика изменений спектральной мощности альфа-3 субдиапазона оказалась менее значимой: сохранялось снижение средней мощности в некоторых лобных, центральных и височных отведениях. Аналогичная динамика имела место и в отношении примыкающего к альфа-3 частотному диапазону – диапазона бета-1 колебаний. Более того, к 10-14 дню после перенесенной ТИА имелась тенденция к большему распространению по поверхности головы зоны со сниженными значениями мощности бета-1 колебаний, что, по-видимому, явилось отражением стадийности компенсаторных реакций со стороны восходящей активирующей системы головного мозга. Кроме того, изменения спектральной мощности бета-1 колебаний обладали наибольшей межполушарной асимметрией на протяжении всего периода наблюдения (с акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения).

Заключение

Таким образом, выявлено распространенное повышение мощности дельта и тета диапазона с небольшой межполушарной асимметрией и некоторым акцентом в полушарии

на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения на 2-4 день после перенесенных ТИА, отчетливая положительная динамика к 10-14 дню после перенесенной атаки и отсутствие локальных очагов медленной активности. Наблюдалось снижение мощности альфа колебаний на 2-4 день после перенесенных ТИА в большинстве отведений, за исключением затылочных и теменных, что указывало на снижение активности глубинных мозговых генераторов альфа колебаний, отличных от генераторов физиологического альфа ритма, а также положительная динамика к 10-14 дню после перенесенных атак. Выявлено снижение мощности субдиапазонов альфа-2 и альфа-3 колебаний на 2-4 день после перенесенных ТИА с межполушарной асимметрией и акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения, а также слабо выраженная динамика изменений мощности альфа-3 субдиапазона к 10-14 дню после перенесенных атак. Снижение мощности бета-1 колебаний отличалось отчетливой межполушарной асимметрией (с акцентом в полушарии на стороне бассейна нарушения мозгового кровообращения). Тенденция к распространению по поверхности головы зоны со сниженными значениями мощности бета-1 колебаний к 10-14 дню после перенесенных атак, вероятно, являлась отражением стадийности компенсаторных реакций со стороны восходящей активирующей системы головного мозга.

Литература

1. Болезни нервной системы: руководство для врачей: в 2 т. / Н. Н. Яхно [и др.]. – М.: Медицина, 1995. – Т. 1. – 656 с.
2. Верещагин, Н. В. Патология головного мозга при атеросклерозе и артериальной гипертензии / Н. В. Верещагин, В. А. Моргунов, Т. С. Гулевская. – М.: Медицина, 1997. – 288 с.
3. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
4. Зенков, Л. Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии) / Л. Р. Зенков. – Таганрог: Из-во ТРТУ, 1996. – 358 с.
5. Иванов, Л. Б. Прикладная компьютерная электроэнцефалография / Л. Б. Иванов. – М.: Антидор, 2000. – 256 с.

6. Клиническая психология и психофизиология: учебное пособие / Г. М. Яковлев [и др.]; под. ред. Г. М. Яковлева. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. – 296 с.
7. Советов, А. Н. Восстановительные и компенсаторные процессы в центральной нервной системе / А. Н. Советов. – М.: Медицина, 1988. – 144 с.
8. A comparison of quantitative electroencephalography, computed tomography, and behavioral evaluations to localize impairment in patients with stroke and transient ischemic attacks / M. R. Nuwer [et al.] // J. Neuroimaging. – 1994. – Vol. 4, N 2. – P. 82–84.
9. Bach-y-Rita, P. Brain plasticity as a basis for recovery of function in humans / P. Bach-y-Rita // Neuropsychologia. – 1990. – Vol. 28, N 6. – P. 547–560.
10. Comparative study of nicardipine versus placebo in the prevention of cognitive deterioration in patients with transient ischemic attack / J. M. Molto [et al.] // Rev. Neurol. – 1995. – Vol. 23. – P. 54–58.
11. Logar, C. The value of EEG-mapping in focal cerebral lesions / C. Logar, M. Boswell // Brain Topogr. – 1991. – Vol. 3, N 4. – P. 441–446.
12. Taghavy, A. Parenchymal «damage» in transient ischemic attacks (TIAs) and prolonged reversible ischemic neurologic deficits (PRINDs): the role of cranial CT and EEG / A. Taghavy, H. Hamer // Int. J. Neurosci. – 1992. – Vol. 66, N 3–4. – P. 251–261.
13. Transient Ischemic Attack – Proposal for a New Definition / G. W. Albers [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol. 347. – P. 1713–1716.

*Поступила 22.09.2006 г.
Принята в печать 20.06.2007 г.*

Издательство Витебского государственного медицинского университета

Куряев, А.В. **Основы профилактики стоматологических заболеваний: курс лекций** / А.В. Куряев, О.А. Жаркова, В.М. Козьменко. – Витебск: изд-во ВГМУ, 2005г. – 122 с.

Мяделец, О.Д. **Морфофизиологические основы барьерно-защитной функции ротовой полости: учебное пособие** / О.Д. Мяделец, Т.Н. Кичигина, О.А. Бобр. – Витебск: изд-во ВГМУ, 2005. – 120 с.

Бекиш, О.-Я.Л. **Сборник тестов по биологии и общей генетике (с пояснениями) для проверки уровня знаний студентов 1 курса по специальности «стоматология»** / О.-Я.Л. Бекиш, В.Я. Бекиш. – Витебск: изд-во ВГМУ, 2005. – 55 с.

ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНФАРКТ В БАССЕЙНЕ СПИНАЛЬНОЙ АРТЕРИИ ДЕПРОЖ-ГОТТЕРОНА С НАЛИЧИЕМ РАДИКУЛО-ЭПИКОНУС-КОНУСНОГО СИНДРОМА

ПРОТАС Р.Н., КУБРАКОВ К.М., ВЫХРИСТЕНКО К.С.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Остеохондроз позвоночника среди лиц среднего и пожилого возраста встречается очень часто. Клинически он проявляется преимущественно корешковым синдромом, но в ряде случаев может привести к инфаркту спинного мозга, особенно в нижнем артериальном бассейне. Распознавание спинальных дизгемий, учитывая клинический полиморфизм, сопряжено с большими трудностями и требует широкого использования дополнительных методов исследования. Однако ни один отдельно взятый современный метод не позволяет разрешить дифференциально-диагностические трудности. Только анализ всех клинических и параклинических данных, наблюдение в динамике позволяют в итоге распознать заболевание и избрать адекватный способ лечения. Авторы статьи наблюдали ряд верифицированных случаев «парализующего ишиаса». Приводится выписка из истории болезни с иллюстрациями пациента, страдающего дискогенной пояснично-крестцовой радикуломиелоишемией.

Ключевые слова: *остеохондроз позвоночника, вертеброгенная радикуломиелоишемия, диагностика.*

Abstract. Osteochondrosis of the backbone occurs very frequently in persons of middle age and in the elderly. Radicular syndrome is its main clinical manifestation but in some cases it can lead to a heart attack of the spinal cord, especially by in the bottom arterial pool. The recognition of spinal dysgемias, taking into account clinical polymorphism, is associated with great difficulties and requires a wide use of additional methods of investigation, though no separately taken modern method allows to resolve differential-diagnostic difficulties. Only the analysis of all clinical and paraclinical data, observation in dynamics finally enable the recognition of the disease and the choice of an adequate method of treatment. The authors of this article observed a number of verified «paralysis ischias» cases. The illustrated extract from the case history of the patient suffering from discoid lumbosacral radiculomyeloischemia is presented.

Благодаря широкому применению высокоинформативных методов исследования (магнитно-резонансная томография (МРТ), рентгеновская компьютерная томография (КТ), церебральная ангиография (АГ), ультразвуковая доплерография (УЗДГ), эхоэнцефалоскопия (ЭхоЭГ) и др.), значительно улучшилась диагностика цереброваскулярных за-

болеваний. Использование лекарственных средств последнего поколения и применение малоинвазивных операций позволили достичь положительных результатов [6,8]. Однако этого нельзя сказать в отношении пациентов со спинальными дизгемиями, что обусловлено рядом объективных причин. Следует отметить, что нарушение спинальной гемодинамики встречается гораздо реже церебральной, поскольку масса спинного мозга в 8 раз меньше головного, кроме того, спинной мозг более устойчив к гипоксии [3, 5]. Он имеет ряд

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра неврологии и нейрохирургии. - Протас Р.Н.

вариантов кровоснабжения. Так, торако-люмбо-сакральный отдел (от Th₉ книзу) может получать питание из одной артерии Адамкевича, либо подпитываться верхней радикуло-медуллярной ветвью. У некоторых людей функционирует артерия Депрож-Готтерона, идущая с корешком L₅ и васкуляризирующая конус и эпиконус. Встречается и так называемый «рассыпной» вариант. Свои особенности имеет и венозный отток [11]. Знание особенностей спинальной гемодинамики имеет большое топоико-диагностическое и клиническое значение (рис. 1).

Ставилась задача, базируясь на собственных наблюдениях и данных литературы, показать пестроту симптоматики и трудность распознавания нарушений спинального кровообращения.

Методы

Под наблюдением находились десятки больных с так называемым «парализующим ишиасом». Кроме изучения соматического и

неврологического статуса, всем пациентам выполнялись спондилография, исследование спинномозговой жидкости, осуществлялись ликвородинамические пробы (Квеккенштедта, Стукея, Пуссепе), миелография, КТ, МРТ. Однако эти методы не позволяли достоверно распознавать спинальную дизгемию, а скорее использовались для дифференциальной диагностики [9]. Что же касается селективной спинальной ангиографии (ССАГ), то она имеет ограниченное применение – технические трудности выполнения, сложности в интерпретации полученных данных, возможность развития ятрогенных осложнений [7, 9].

Среди причин, приводящих к развитию геморрагических и ишемических спинальных инсультов, можно назвать атеросклероз, артериальную гипертензию, инфекционные и аллергические васкулиты, сердечно-сосудистые заболевания, сдавление артерий и вен, артериовенозные мальформации, позвоночно-спинномозговые травмы, сахарный диабет, заболевания крови и др. [11-15]. У лиц средне-

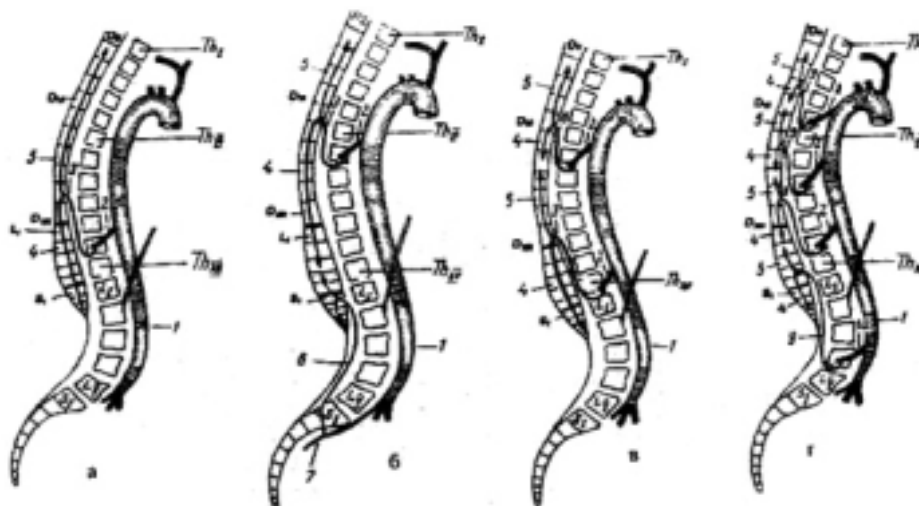


Рис. 1. Варианты васкуляризации торако-люмбо-сакральных сегментов спинного мозга (по Скоромцу А.А.).

1 - аорта; 2 - межреберные артерии; 3 - большая радикуло-медуллярная артерия Адамкевича; 4 - нисходящая ветвь передней радикуло-медуллярной артерии; 5 - восходящая ветвь передней радикуло-медуллярной артерии (артерия Депрож-Готтерона); 6 - нижняя дополнительная радикуло-медуллярная артерия; 7 - срединная артерия крестца; 8 - верхняя дополнительная радикуло-медуллярная артерия; 9 - радикуло-медуллярная артерии; 10 - поясничная артерия.

го и пожилого возраста на передний план выходит спондилогенный генез. В ряде случаев имеют место сочетание разнообразных патофизиологических факторов [5, 9, 16, 17].

К дискогенным пояснично-крестцовым радикулоишемиям относят расстройства кровообращения, возникшие в спинном мозге и корешках конского хвоста на фоне остеохондроза (чаще грыж межпозвонковых дисков). Неврологи и нейрохирурги накопили огромный опыт как консервативного, так и оперативного лечения этого столь распространенного недуга. В последние годы стали широко использоваться щадящие, малоинвазивные хирургические вмешательства. Предложены определенные организационные мероприятия, направленные на снижение временной нетрудоспособности и инвалидизацию пациентов [1, 2, 4, 10].

Приводим выписку из истории болезни.

Больной Н., 52 года, слесарь, жалуется на постоянные, жгучие боли в ногах, затруднение при ходьбе, недержание мочи и кала, импотенцию.

Заболевание развилось остро в конце 2006 г., после физической нагрузки (подъем тяжести) появились боли в пояснично-крестцовой области. Стал испытывать слабость в ногах, появилось онемение в промежности, наступило истинное недержание мочи и кала. Обращался к неврологу, урологу, проктологу. Назначенное лечение (аналгетики, вазодилататоры, витамины группы В, физиотерапия) не привело к улучшению. В начале февраля 2007 г. с диагнозом «опухоль спинного мозга?» госпитализирован в нейрохирургическое отделение Витебской областной клинической больницы.

Объективно: правильного телосложения, удовлетворительного питания. Температура тела 36,6°C, А/Д 130/80 мм рт. ст. На ЭКГ – гипертрофия левого предсердия и левого желудочка, умеренные изменения в миокарде. Осмотрен терапевтом, заключение: хронический бронхит, пневмосклероз, миокардиодистрофия, Н₁. В 1970 г. оперирован по поводу язвенной болезни желудка, в настоящее время болей в животе нет.

Неврологический статус. Интеллект сохранен. Черепно-мозговые нервы функционируют полноценно. Иннервация верхних конечностей не нарушена. Сглажен поясничный лордоз, мышцы спины напряжены, болезненность при перкуссии остистых отростков L₃-L₅. Симптомы Ласега, Бехтерева, Нери, Дежерина положительны. Диссоциированный тип нарушения чувствительности – гипестезия, переходящая в анестезию от уровня L₁ книзу. Глубокомышечное чувство сохранено. Анестезия в аногенитальной зоне. Истинное недержание мочи и кала. Снижена мышечная сила в ногах – слева до 3 баллов, справа – до 4-х. Коленные рефлексы оживлены, Д=S, ахиллов – слева не вызывается, справа – низкий. Анальный рефлекс отсутствует, кремастерные – снижены. Положительный симптом Бабинского с двух сторон (рис. 2).

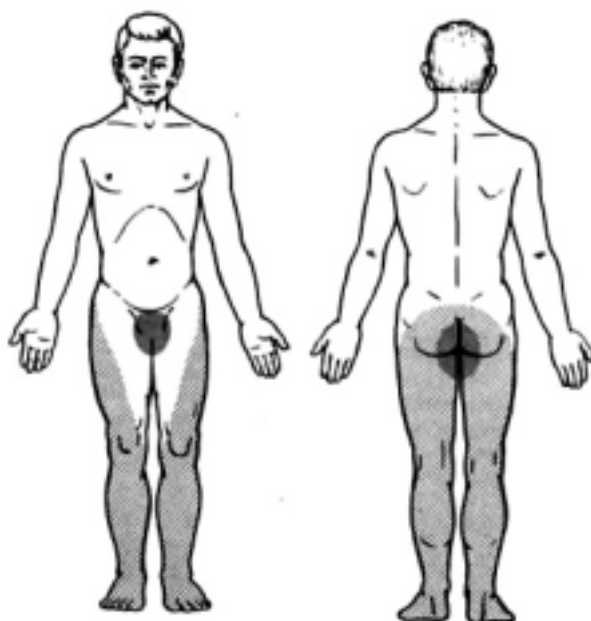


Рис.2. Схема расстройств чувствительности у больного Н.

При МРТ-исследовании грудного, верхнепоясничного отделов позвоночника определяется веретенообразное не резко выраженное утолщение конуса спинного мозга на уровне Th₉-Th₁₁ до 61 мм по протяжению, МР – сигнал равномерно повышен (в T₂). Зак-

лучение: интрамедуллярный объемный процесс на уровне Th₉-Th₁₁, распространенный остеохондроз.

Произведен поясничный прокол под L₃. Спинномозговая жидкость прозрачная, бесцветная, белок – 0,18 г/л, цитоз – 1 в 3 мкл. Исходное ликворное давление 140 мм водного столба. Выполнены пробы Квекенштедта, Стукея, Пуссепы – блока субарахноидального пространства не выявлено. ЭндOLUMбально введено 20 мл омнипака. Прослежено свободное движение контраста вверх. Сделаны рентгенограммы на уровне Th₉-Th₁₁. Констатирован распространенный остеохондроз, спондилоартроз грудного и поясничного отделов позвоночника. Заключение нейрорентгенолога: на миелограммах поясничного отдела позвоночника в двух проекциях компрессии дурального мешка не определяется, регистрируются краевые умеренно выраженные дефекты наполнения на уровне L₃-L₄, L₄-L₅, краевые экзостозы L₅-S₁ позвонков, выпрямленный лордоз. Рентгенологических данных за опухоль спинного мозга на уровне Th₉-Th₁₁ не получено.

При КТ-исследовании поясничного отдела позвоночника на уровне L₂-S₁ костно-деструктивных изменений не выявлено. Лордоз выпрямлен. Замыкательные пластинки тел позвонков уплотнены, субхондральный стеноз, краевые экзостозы. Определяется диффузная протрузия межпозвонковых дисков L₃-L₄, L₄-L₅ до 5-6 мм, а также левосторонняя парамедианная грыжа межпозвонкового диска L₅-S₁ 7x12 мм с компрессией дурального мешка. Сагиттальный размер позвоночного канала 12-13 мм. Заключение: остеохондроз, деформирующий спондилоартроз поясничного отдела позвоночника. Левосторонняя парамедианная грыжа диска L₅-S₁. Дегенеративно-конституциональный стеноз позвоночного канала поясничного отдела.

И все-таки оставались определенные сомнения в правильности диагноза. Было принято решение провести контрольное МРТ-исследование. Обнаружены изменения спинного мозга в нижнегрудном отделе (уровень Th₁₀-Th₁₁) позвоночника сосудисто-ишемического характера. Повторно констати-

вана картина дегенеративно-деструктивных изменений позвоночника и левосторонняя парамедианная грыжа L₅-S₁, узкий позвоночный канал. [рис.3]

Абсолютным показанием к хирургическому лечению остеохондроза позвоночника является радикуломиелоишемия – «парализующий ишиас» с наличием глубоких сенсорных и моторных расстройств, дисфункцией тазовых органов. Кроме того, при грубой неврологической симптоматике, обусловленной сдавлением конского хвоста, требуется дискэктомия [7, 9].

Однако от предложенной операции, направленной на удаление выпавшего межпозвонкового диска, декомпрессию корешка и радикуло-медуллярной артерии, больной отказался. Проведенное консервативное медикаментозное и физиотерапевтическое лечение оказалось неэффективным. При наличии согласия пациента на оперативное вмешательство показана повторная госпитализация в нейрохирургический стационар.

Таким образом, у мужчины среднего возраста после тяжелой физической нагрузки внезапно появились боли, слабость в ногах, наступило нарушение функции тазовых органов. Очевидно, вследствие проляпса диска развился не только диск-радикулярный, но и диск-васкулярный конфликт. В патогенезе заболевания определенную отрицательную роль сыграли дегенеративно-конституциональный стеноз поясничного отдела позвоночника, миокардиодистрофия, общий атеросклероз, пневмосклероз.

Было проведено полноценное клиническое и параклиническое обследование, хотя результаты последних подчас носили противоречивый характер. Дифференциальная диагностика проводилась прежде всего с опухолью спинного мозга и другой спинальной патологией. Наблюдение в динамике и использование современных методов обследования позволили обозначить заключительный клинический диагноз: дискогенная пояснично-крестцовая радикуломиелоишемия, остеохондроз позвоночника, проляпс грыжи L₅-S₁, ишемический инфаркт в бассейне артерии

Депрож-Готтерона с наличием радикуло-эпиконус-конусного синдрома.

Литература

1. Алексеенко, Ю. В. Лекции по неврологии и нейрохирургии / Ю. В. Алексеенко. – Витебск, 2003. – 199 с.
2. Антонов, И. П. Клиническая классификация заболеваний периферической нервной системы: методические рекомендации / И. П. Антонов. – Москва, 1987 – 14 с.
3. Богородинский, Д. К. Инфаркты спинного мозга / Д. К. Богородинский, А. А. Скоромец. – Л.: Медицина, 1973. – 222 с.
4. Вопросы сосудистой патологии головного и спинного мозга / Н. К. Боголепов [и др.]; под общ. ред. Н. К. Боголепова. – Кишинев, 1971 – 307 с.
5. Гарустович, Т. К. Прогнозирование возникновения и исхода дискогенной люмбо-сакральной радикуломиелоишемии с помощью вычислительных методов: автореф. ... дис. канд. мед. наук: 08.00.27 / Т. К. Гарустович. – Минск, 1990. – 27 с.
6. Ковальчук, В. В. Инсульт: эпидемиология, факторы риска и организация медицинской помощи / В. В. Ковальчук, А. А. Скоромец // Неврологический журнал. – 2006. – Т. 11, № 6. – С. 46-50.
7. Лившиц, А. В. Хирургия спинного мозга / А. В. Лившиц. – М.: Медицина, 1990 – 350 с.
8. Покровский, А. В. Первичная профилактика ишемического инсульта и возможности сосудистой хирургии / А. В. Покровский // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2003. – № 9. – С. 96-97.
9. Попелянский, Я. Ю. Болезни периферической нервной системы: руководство для врачей / Я. Ю. Попелянский. – М.: Медицина, 1989. – 464 с.
10. Практическая нейрохирургия: руководство для врачей / под ред. Б. В. Гайдара. – СПб.: Гиппократ, 2002. – 648 с.
11. Скоромец, А. А. Сосудистые заболевания спинного мозга / А. А. Скоромец [и др.]. – С.-Петербург: Sotis, 2002. – 525 с.
12. Шустин, В. А. Клиника и хирургическое лечение дискогенных пояснично-крестцовых радикуломиелоишемий / В. А. Шустин, А. И. Панюшкин. – Л.: Медицина, 1985 – 173 с.
13. Dunn, R. S. Anterior spinal artery syndrome caused by infarction of the conus medullaris / R. S. Dunn, S. N. Wiener // Amer. J. Roentgenol. – 1991. – Vol. 156, N 5. – P. 90-91.
14. Kelley, C. E. Nontraumatic abdominal aortic thrombosis presenting with anterior spinal artery syndrome and pulmonary edema / C. E. Kelley // J. Emerg. Med. – 1991. – Vol. 9, N 4. – P. 233-237.
15. Newcombe, D. S. Intermittent spinal ischemia. Areversible cause of neurologic dysfunction and back pain / D. S. Newcombe // Arthritis&Rheumatism. – 1994. – Vol. 37, N 1. – P. 142-144.
16. Ischemic complications of abdominal aortic surgery / P. Noizhomme [et al.] // J. cardiovasc. Surg. – 1991. – Vol. 32, N 4. – P. 451-455.
17. Salam, A. A. Spinal cord ischemic injury during thoracic aortic procedures: is previous colectomy a risk factor? / A. A. Salam, S. M. Sholkomy, E. L. Chaikof // J. Vasc. Surg. – 1993. – Vol. 17, N 6. – P. 1108-1110.

Поступила 11.04.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННЫХ ВОДНО-СОЛЕВЫХ РАСТВОРОВ НА УНИВЕРСАЛЬНОЙ УСТАНОВКЕ

МИКЛИС Н.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Для изготовления хлорсодержащих анолита нейтрального и католита щелочного широко используются электрохимические установки типа «Аквamed». В настоящее время нами разработана универсальная установка, позволяющая изготавливать (в зависимости от потребности) дезинфицирующие растворы анолита нейтрального, анолита кислого, анолита АНК, моющие растворы католита, католита щелочного и моюще-дезинфицирующие растворы АKN и САК. Однако технологические условия получения ЭХА растворов на универсальной установке окончательно не отработаны.

Целью работы было изучение особенностей технологии получения электрохимически активированных растворов на универсальной установке в зависимости от концентрации исходного раствора натрия хлорида, удельного расхода электричества и производительности.

Установлено, что увеличение содержания в исходных растворах NaCl с 1 до 5 г/дм³ обуславливает у анолитов смещение pH в кислую сторону, увеличение окислительно-восстановительного потенциала, повышение содержания активного хлора и снижение поверхностного натяжения, у католитов - pH смещается в щелочную сторону, окислительно-восстановительный потенциал и поверхностное натяжение снижаются, а общая щелочность нарастает. Увеличение удельного расхода электричества с 1312 до 2100 Кл/дм³ приводит у анолитов к смещению pH в кислую сторону, повышению окислительно-восстановительного потенциала и содержания активного хлора и снижению поверхностного натяжения. У католитов при увеличении удельного расхода электричества с 2100 до 5250 Кл/дм³ происходит смещение pH в щелочную сторону, снижение окислительно-восстановительного потенциала и поверхностного натяжения, повышение общей щелочности. При увеличении производительности установки с 24 до 56 дм³/ч отмечается у анолитов смещение pH в щелочную сторону, снижение окислительно-восстановительного потенциала и содержания активного хлора, повышение поверхностного натяжения, у католитов - смещение pH в кислую сторону, повышение окислительно-восстановительного потенциала и поверхностного натяжения, снижение общей щелочности.

Результаты исследования позволяют заключить, что оптимальными условиями для получения на универсальной установке анолита нейтрального, анолита кислого, католита и католита щелочного является концентрация натрия хлорида 3,0 г/дм³ при производительности 40 дм³/ч и удельном расходе электричества для анолита 1312 Кл/дм³, католита - 5250 Кл/дм³.

Ключевые слова: электрохимическая активация, электрохимически активированные растворы, анолит, католит, универсальная установка.

Abstract. For production of neutral anolite and alkaline katolite containing chlorine the electrochemical installations of «Akvmad» type are widely used. We have developed the universal installation, enabling us to make disinfectant solutions of neutral anolite, acid anolite, ANK anolite, detergent solutions of katolite, alkaline katolite and detergent-disinfectant solutions of AKN and MAK if needed. However technological conditions of ECA solutions production by means of universal installation are not, completely worked out.

The purpose of this work was to study technological features of obtaining electrochemically activated solutions by means of universal installation depending on concentration of an initial sodium chloride solution, intensity of electricity use and productivity.

The increase in the content of NaCl from 1 up to 5 g/dm³ in initial solutions was found to cause shift of pH toward the acid side, increase of oxidation-reduction potential, increase in the content of active chlorine and decrease in superficial tension in anolites, it also causes shift of pH towards the alkaline side, decrease in oxidation-reduction potential and

superficial tension and increase of general alkalinity in katolites. The increase in intensity of electricity use from 1312 up to 2100 Kl/dm³ in anolites results in shift of pH towards the acid side, increase of oxidation-reduction potential and content of active chlorine and decrease of superficial tension. The increase in intensity of electricity use from 2100 up to 5250 Kl/dm³ in katolites results in shift of pH towards the alkaline side, decrease in oxidation-reduction potential and superficial tension, increase in general alkalinity. The increase of installation productivity from 24 up to 56 dm³/h results in shift of pH towards the alkaline side, decrease in oxidation-reduction potential and content of active chlorine, increase of superficial tension in anolites, shift of pH towards acid side, increase in oxidation-reduction potential and superficial tension, decrease of general alkalinity in katolites.

The results of the research enable the conclusion that optimum conditions for obtaining neutral anolite, acid anolite, katolite and alkaline katolite by means of universal installation are concentration of sodium chloride 3,0 g/dm³, intensity of electricity use for anolites - 1312 Kl/dm³ and for katolites - 5250 Kl/dm³, productivity - 40 dm³/h.

Для своих нужд человек целенаправленно изменяет состав воды путем очистки, обеззараживания и специальных методов обработки - фторирования, обезжелезивания и др. Для получения воды и водных сред с определенными свойствами и составом в настоящее время ее подвергают омагничиванию, быстрому замораживанию и оттаиванию, механическому диспергированию и т.д. Технологии получения воды и водных сред с заранее заданными окислительно-восстановительными свойствами созданы на основе феномена электрохимической активации (ЭХА), которое в 1985 году официально признано новым самостоятельным научно-техническим направлением. Исследования феномена и технологий ЭХА имеют обширную географию, включая Российскую Федерацию, Беларусь, США, Германию, Англию и ряд других стран [1].

Сущность ЭХА состоит в униполярной обработке в диафрагменном электрохимическом реакторе разбавленных растворов минеральных солей, которые переходят в метастабильное состояние с аномальной физико-химической активностью, постепенно убывающей во времени. В качестве исходных для процессов ЭХА обычно используют водные растворы натрия хлорида с концентрацией до 10 г/дм³.

От известных химических и электрохимических процессов ЭХА отличается низкой

минерализацией исходных водно-солевых растворов, широким диапазоном окислительно-восстановительного потенциала и pH получаемых растворов, разделением во времени или пространстве процессов катодной и анодной обработки при малом времени электрохимического воздействия, значительной плотности тока, высоком электродном напряжении и низких удельных энергетических затратах.

Для изготовления ЭХА растворов в Российской Федерации используются установки типа СТЭЛ, позволяющие синтезировать или анолит «А», или анолит «АН», или анолит «АНК», или анолит «АНД», а также католит «К» и католит «КН» [2]. Для получения дезинфицирующих и моющих растворов в Республике Беларусь используются установки типа «БАВР», на которых вырабатывается кислотный анолит и католит щелочной [3]. Для изготовления хлорсодержащих анолита нейтрального и католита щелочного широко используются электрохимические установки типа «Аквamed» [4]. В настоящее время нами разработана универсальная установка, позволяющая изготавливать (в зависимости от потребности) дезинфицирующие растворы анолита нейтрального, анолита кислотного, анолита АНК, моющие растворы католита, католита щелочного и моюще-дезинфицирующие растворы АКН и САК. Однако технологические условия получения ЭХА растворов на универсальной установке окончательно не отработаны.

Цель - изучить особенности технологии получения электрохимически активирован-

ных растворов на универсальной установке в зависимости от концентрации исходного раствора натрия хлорида, удельного расхода электричества и производительности.

Методы

Выполнено 3 серии опытов. В 1-ой серии опытов изучали физико-химические свойства анолита нейтрального, анолита кислого, католита и католита щелочного в зависимости от концентрации исходного раствора натрия хлорида. Для этого водный раствор №1 с концентрацией натрия хлорида 1 г/дм³, №2 - с концентрацией натрия хлорида 3 г/дм³, №3 - с концентрацией натрия хлорида 5 г/дм³ подвергали электрохимической активации, при удельном расходе электричества для получения анолита 1312 Кл/дм³ и для католита 5250 Кл/дм³ и производительности установки 24 дм³/ч. Контролем служили исходные солевые растворы соответствующих концентраций.

Во 2-й серии изучали физико-химические свойства анолита нейтрального при удельном расходе электричества 1312, 1400, 1575 и 2100 Кл/дм³ и католита при удельном расходе электричества 2100, 3150, 4200 и 5250 Кл/дм³. Анолит нейтральный и католит получали из 0,3% водного раствора натрия хлорида при силе тока 7 А и производительности установки 24 дм³/ч. Контролем служил исходный солевой раствор.

В 3-й серии изучали физико-химические свойства анолита нейтрального и католита при производительности установки 24, 32, 40 и 56 дм³/ч. Анолит нейтральный и католит получали из 0,3% водного раствора натрия

хлорида при удельном расходе электричества для анолита 1312 Кл/дм³ и католита 5250 Кл/дм³. Контролем служил исходный солевой раствор.

У полученных ЭХА растворов исследовали рН (ед.) и окислительно-восстановительный потенциал (ОВП, мВ) потенциометрическим методом на рН-метре-милливольтметре рН-340 [5], концентрацию активного хлора (C_{ax} , мг/дм³) - йодометрическим методом [6], общую щелочность католита (ОЩ, мг-экв/дм³) – потенциометрическим методом [5], поверхностное натяжение (ПН, Дж/м²) – методом наибольшего давления в пузырьке (Рейбиндера) [7].

Результаты

Результаты исследования 1-ой серии опытов показали, что у исходных контрольных растворов натрия хлорида рН был близок к нейтральному, ОВП существенно не зависел от концентрации, а поверхностное натяжение закономерно уменьшалось с повышением концентрации солевых растворов от $74,17 \times 10^3$ до $72,57 \times 10^3$ Дж/м² (табл. 1.1).

Электрохимическая активация раствора №1 привела к получению анолита нейтрального с достоверно сниженным рН на 0,77 ед., повышенным ОВП в 3,2 раза, повышенным ПН в 1,02 раза по сравнению с контролем (табл. 1.2). Анолит кислый имел достоверно сниженный рН на 1,38 ед., повышенный ОВП в 3,6 раза, повышенное ПН в 1,01 раза по сравнению с контролем (табл. 1.3). Католит имел достоверно более щелочной рН на 3,84 ед., пониженный ОВП в 2,6 раза, повышенную в 4,3 раза ОЩ, сниженное ПН в 1,06 раз по срав-

Таблица 1.1

Физико-химические параметры исходного раствора натрия хлорида в зависимости от концентрации, n = 6

№ п/п	NaCl, мг/дм ³	Физико-химические параметры				
		рН	ОВП, (х.с.э.), мВ	ОЩ, мг-экв/дм ³	C_{ax} , мг/дм ³	ПН $\times 10^3$, Дж/м ²
1	1,0	$7,38 \pm 0,07$	290 ± 5	$5,6 \pm 0,2$	0	$74,17 \pm 1,7$
2	3,0	$7,3 \pm 0,05$	300 ± 5	$5,7 \pm 0,7$	0	$72,57 \pm 1,07$
3	5,0	$7,2 \pm 0,06$	310 ± 5	$6 \pm 0,12$	0	$72,57 \pm 1,07$

Таблица 1.2

**Физико-химические параметры анолита нейтрального в зависимости
от концентрации натрия хлорида, $n = 6$**

№ п/п	NaCl, мг/дм ³	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	С _{ак} , мг/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	1,0	6,61±0,01 (P<0,001)	+941,2±5,2 (P<0,001)	123,2±1,6	75,9±0,04 (P<0,05)
2	3,0	6,5±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	+ 961±1,03 (P<0,001) (P ₁ <0,01)	459±1,5 (P ₁ <0,001)	75,5±0,06 (P<0,05) (P ₁ <0,001)
3	5,0	6,43±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)	+968,8±1,4 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01)	825,2±2,5 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	75,2±0,06 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01)

Примечание: P – достоверность разницы по сравнению с контролем, P₁ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией NaCl 1 мг/дм³, P₂ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией NaCl 3 мг/дм³.

Таблица 1.3

**Физико-химические параметры анолита кислого в зависимости
от концентрации натрия хлорида, $n = 6$**

№ п/п	NaCl, мг/дм ³	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	С _{ак} , мг/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	1,0	6±0,02 (P<0,001)	+1042±2,12 (P<0,001)	93±1,06	75,37±0,06 (P>0,05)
2	3,0	5,88±0,03 (P<0,001) (P ₁ <0,01)	+1063±2,8 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	281±1,5 (P ₁ <0,001)	74,9±0,03 (P>0,05) (P ₁ <0,001)
3	5,0	5,8±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)	+1077±2,3 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01)	417,9±1,04 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	74,5±0,02 (P>0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)

Примечание: P – достоверность разницы по сравнению с контролем, P₁ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 1 мг/дм³, P₂ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 3 мг/дм³.

нению с контролем (табл. 1.4). Катодит щелочной имел достоверно более щелочной рН на 3,96 единиц, повышенный в 1,07 раза ОВП, повышенную в 4,6 раза ОЩ, сниженное ПН в 1,08 раз по сравнению с контролем (табл. 1.5).

При электрохимической обработке раствора № 2 был получен анолит нейтральный с рН на 0,8 единиц достоверно ниже, ОВП – достоверно выше в 3,2 раза, ПН – выше в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 1.2). Анолит кислый имел достоверно сниженный на 1,42 ед. рН, повышенный в 3,5 раза ОВП, повышенное в 1,03 раза ПН по сравнению с контролем (табл. 1.3). У католита был рН на 4,2 ед. достоверно выше, ОВП – ниже в 6,09

раза, ОЩ – выше в 4,9 раза, ПН ниже в 1,05 раза по сравнению с контролем (табл. 1.4). Катодит щелочной имел достоверно более щелочной рН на 4,75 ед., сниженный в 1,07 раза ОВП, повышенную в 6,2 раза ОЩ, сниженное в 1,07 раза ПН по сравнению с контролем (табл. 1.5).

Электрохимическая активация раствора № 3 обусловила получение анолита нейтрального с рН на 0,77 ед. достоверно ниже, ОВП – выше в 3,1 раза, ПН – выше в 1,03 раза по сравнению с контролем (табл. 1.2). Анолит кислый имел достоверно сниженный на 1,4 ед. рН, повышенный в 3,4 раза ОВП, повышенное в 1,02 раза ПН по сравнению с контролем

Таблица 1.4

**Физико-химические параметры католита в зависимости
от концентрации натрия хлорида, n =6**

№ п/п	NaCl, мг/дм ³	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	ОЩ, мг-экв/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	1,0	11,22±0,01 (P<0,001)	+110,8±3,7 (P<0,001)	24,08±0,1 (P<0,001)	69,5±0,04 (P<0,001)
2	3,0	11,49±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	+49,2±1,8 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	28,3±0,2 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	68,7±0,05 (P<0,01) (P ₁ <0,001)
3	5,0	11,7±0,13 (P<0,001) (P ₁ <0,01) (P ₂ >0,05)	-40,83±0,9 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	35±0,1 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	68,05±0,02 (P<0,01) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)

Примечание: Р – достоверность разницы по сравнению с контролем, Р₁ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 1 мг/дм³, Р₂ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 3 мг/дм³.

Таблица 1.5

**Физико-химические параметры католита щелочного в зависимости
от концентрации натрия хлорида, n =6**

№ п/п	NaCl, мг/дм ³	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	ОЩ, мг-экв/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	1,0	11,34±0,14 (P<0,001)	+312,5±2,8 (P<0,01)	25,9±0,05 (P<0,001)	68,45±0,04 (P<0,01)
2	3,0	12,05±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	+280±1,5 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	35,1±0,1 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	67,5±0,05 (P<0,001) (P ₁ <0,001)
3	5,0	12,2±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	+185,3±2,3 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	43,3±0,4 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	65,5±0,05 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)

Примечание: Р – достоверность разницы по сравнению с контролем, Р₁ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 1 мг/дм³, Р₂ – достоверность разницы по сравнению с концентрацией 3 мг/дм³.

(табл. 1.3). Католит характеризовался достоверно более щелочным рН на 4,5 ед., ОВП – сниженным в 7,6 раза, ОЩ – повышенной в 5,8 раза, ПН – сниженным в 1,07 раза по сравнению с контролем (табл. 1.4). Католит щелочной имел достоверно более щелочной рН на 5 ед., сниженный в 1,6 раза ОВП, повышенную в 7,2 раза ОЩ, сниженное в 1,1 раза ПН по сравнению с контролем (табл. 1.5).

Концентрация активного хлора в анолите нейтральном № 1 составила 123,2 мг/дм³. В анолите нейтральном № 2 С_{ак} была достоверно выше в 3,7 раза, № 3 – в 6,7 раза по сравнению с анолитом № 1 (табл. 1.2). Концентрация активного хлора в анолите кислом № 1 соста-

вила 93 мг/дм³. В анолите кислом № 2 С_{ак} была достоверно выше в 3,02 раза, № 3 – в 4,5 раза по сравнению с анолитом № 1 (табл. 1.3).

Результаты изучения зависимости физико-химических свойств анолита нейтрального и католита от удельного расхода электричества представлены в таблицах 2.1 и 2.2.

Электрохимическая активация раствора № 1 привела к получению анолита нейтрального с достоверно сниженным рН на 1,04 ед., повышенным ОВП в 3,5 раза, повышенным ПН в 1,03 раза по сравнению с контролем (табл. 2.1). Католит имел достоверно более щелочной рН на 3,43 ед., пониженный ОВП в 2,1 раза, повышенную в 3,3 раза ОЩ, пони-

Таблица 2.1

**Физико-химические параметры анолита нейтрального в зависимости
от удельного расхода электричества (УРЭ), n =6**

№ п/п	УРЭ, Кл/дм ³	Физико-химические параметры			
		pH, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	С _{ак} , мг/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	2100	6,26±0,01 (P<0,001)	+1059±2,03 (P<0,001)	703,2±2,4	75,08±0,06 (P<0,05)
2	1575	6,3±0,02 (P<0,001) (P ₁ >0,05)	+999±1,5 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	582,5±2,8 (P ₁ <0,001)	75,3±0,04 (P<0,05) (P ₁ <0,05)
3	1400	6,41±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	+977,7±1,2 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	504,5±3,4 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	75,5±0,05 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)
4	1312	6,5±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	+961±1,03 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	459±1,5 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	75,5±0,06 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05) (P ₃ >0,05)

Примечание: P – достоверность разницы по сравнению с контролем, P₁ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 2100 Кл/дм³, P₂ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 1575 Кл/дм³, P₃ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 1400 Кл/дм³.

Таблица 2.2

**Физико-химические параметры католита в зависимости
от удельного расхода электричества (УРЭ), n =6**

№ п/п	УРЭ, Кл/дм ³	Физико-химические параметры			
		pH, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	ОЩ, мг-экв/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	2100	10,73±0,01 (P<0,001)	+140,7±2,3 (P<0,001)	19±0,11 (P<0,001)	69,7±0,07 (P<0,01)
2	3150	10,93±0,15 (P<0,001) (P ₁ >0,05)	+119,2±3,0 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	21,8±0,17 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	69,5±0,07 (P<0,05) (P ₁ >0,05)
3	4200	11,03±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ >0,05)	+71,7±3,07 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	22,87±0,07 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	69,2±0,07 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)
4	5250	11,49±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ <0,001)	+49,2±1,8 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	28,3±0,2 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	68,7±0,05 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)

Примечание: P – достоверность разницы по сравнению с контролем, P₁ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 2100 Кл/дм³, P₂ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 3150 Кл/дм³, P₃ – достоверность разницы по сравнению с удельным расходом электричества 4200 Кл/дм³.

женное в 1,04 раза ПН по сравнению с контролем (табл. 2.2).

При электрохимической обработке раствора № 2 был получен анолит нейтральный

с pH на 1 ед. ниже, ОВП – выше в 3,3 раза, ПН – выше в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 2.1). У католита был pH на 3,63 ед. выше, ОВП – ниже в 2,5 раза, ОЩ – выше в 3,8 раза,

ПН – ниже в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 2.2).

Электрохимическая активация раствора № 3 обусловила получение анолита нейтрального с рН на 0,89 ед. достоверно ниже, ОВП – выше в 3,25 раза, ПН – выше в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 2.1). Катодит характеризовался достоверно более щелочным рН на 3,73 ед., ОВП – пониженным в 4,2 раза, ОЩ – повышенной в 4,01 раза, ПН – пониженным в 1,05 раз по сравнению с контролем (табл. 2.2).

Электрохимическая активация раствора № 4 привела к получению анолита нейтрального с достоверно сниженным рН на 0,8 ед., повышенным ОВП в 3,2 раза, повышенным ПН в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 2.1). Катодит имел достоверно более щелочной рН на 4,19 ед., пониженный ОВП в 6,1 раза, повышенную в 4,9 раза ОЩ, пониженное в 1,06 раза ПН по сравнению с контролем (табл. 2.2).

Концентрация активного хлора в анолите нейтральном № 1 составила 703,2 мг/дм³. В анолите нейтральном № 2 C_{ax} была ниже в 1,2 раза, № 3 – в 1,4 раза, № 4 – в 1,5 раза по сравнению с анолитом № 1 (табл. 2.1).

Результаты изучения зависимости физико-химических свойств полученных анолита нейтрального и катодита от производительности установки представлены в таблицах 3.1 и 3.2.

Электрохимическая активация раствора № 1 привела к получению анолита нейтрального с достоверно сниженным рН на 0,8 ед., повышенным ОВП в 3,2 раза, повышенным ПН в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 3.1). Катодит имел достоверно более щелочной рН на 4,19 ед., пониженный ОВП в 6,09 раз, повышенную в 4,9 раза ОЩ, пониженное ПН в 1,05 раза по сравнению с контролем (табл. 3.2).

При электрохимической обработке раствора № 2 был получен анолит нейтральный с рН на 0,59 ед. достоверно ниже, ОВП – достоверно выше в 3,18 раза, ПН – достоверно выше в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 3.1). У катодита был рН на 3,93 ед. достоверно выше, ОВП – ниже в 3,87 раза, ОЩ –

выше в 4,08 раза, ПН – ниже в 1,05 раза по сравнению с контролем (табл. 3.2).

Электрохимическая активация раствора № 3 обусловила получение анолита нейтрального с рН на 0,52 ед. достоверно ниже, ОВП – выше в 3,16 раза, ПН – выше в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 3.1). Катодит характеризовался достоверно более щелочным рН на 3,85 ед., ОВП – пониженным в 3,36 раза, ОЩ – повышенной в 3,8 раза, ПН – ниже в 1,05 раза по сравнению с контролем (табл. 3.2).

Электрохимическая активация раствора № 4 привела к получению анолита нейтрального с достоверно сниженным рН на 0,44 ед., повышенным ОВП в 3,15 раза, повышенным ПН в 1,04 раза по сравнению с контролем (табл. 3.1). Катодит имел достоверно более щелочной рН на 3,75 единицы, пониженный ОВП в 2,87 раза, повышенную в 3,68 раза ОЩ, пониженное ПН в 1,05 раза по сравнению с контролем (табл. 3.2).

Концентрация активного хлора в анолите нейтральном № 1 составила 459 мг/дм³. В анолите нейтральном № 2 C_{ax} была достоверно ниже в 1,1 раза, № 3 – в 1,6 раза, № 4 – в 2,1 раза по сравнению с анолитом № 1 (табл. 3.1).

Обсуждение

Результаты исследования показали, что увеличение содержания в исходных растворах NaCl с 1 до 5 г/дм³ обусловило смещение рН анолитов нейтральных в кислую сторону с 6,61 до 6,43 ед. (зависимость вида $y = -0,09x + 6,6933$, $R^2 = 0,9838$), увеличение ОВП с +941,2 до +968,8 мВ (зависимость вида $y = 13,8x + 0,294$, $R^2 = 0,9407$), повышение C_{ax} с 123,2 до 825,2 мг/дм³ (зависимость вида $y = 351x - 232,87$, $R^2 = 0,9994$), понижение ПН с $75,9 \times 10^3$ до $75,2 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = -0,35x + 76,233$, $R^2 = 0,9932$). У анолитов кислых отмечалось смещение рН в кислую сторону с 6 до 5,8 ед. (зависимость вида $y = -0,1x + 6,0933$, $R^2 = 0,9868$), увеличение ОВП с +1042 до +1077 мВ (зависимость вида $y = 17,5x + 1025,7$, $R^2 = 0,9868$), повышение C_{ax} с 93 до 417,9 мг/дм³ (зависимость вида $y = 162,45x - 60,933$, $R^2 = 0,9918$), понижение ПН с $75,37 \times 10^3$ до $74,5 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида

Таблица 3.1

**Физико-химические параметры анолита нейтрального в зависимости от
производительности установки (ПРУ), n =6**

№ п/п	ПРУ, дм ³ /ч	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	С _{ак} , мг/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	24	6,5±0,01 (P<0,001)	+ 961±1,03 (P<0,001)	459±1,5	75,5±0,06 (P<0,05)
2	32	6,71±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	+956,3±1,8 (P<0,001) (P ₁ <0,05)	415,8±2,7 (P ₁ <0,001)	75,67±0,05 (P<0,05) (P ₁ >0,05)
3	40	6,78±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)	+949,5±2,06 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)	283,3±4,01 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	75,7±0,04 (P<0,05) (P ₁ <0,05) (P ₂ >0,05)
4	56	6,86±0,01 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ <0,001)	+945,2±1,6 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ >0,05)	216,6±1,2 (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	75,8±0,04 (P<0,05) (P ₁ <0,01) (P ₂ >0,05) (P ₃ >0,05)

Примечание: Р – достоверность разницы по сравнению с контролем, Р₁ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 24 дм³/ч, Р₂ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 32 дм³/ч, Р₃ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 40 дм³/ч.

Таблица 3.2

**Физико-химические параметры католита в зависимости
от производительности установки (ПРУ), n =6**

№ п/п	ПРУ дм ³ /ч	Физико-химические параметры			
		рН, ед.	ОВП, (х.с.э.), мВ	ОЩ, мг-экв/дм ³	ПН x 10 ³ , Дж/м ²
1	24	11,49±0,01 (P<0,001)	+49,2±1,8 (P<0,001)	28,3±0,2 (P<0,001)	68,7±0,05 (P<0,05)
2	32	11,23±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	+77,5±2,14 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	23,3±0,2 (P<0,001) (P ₁ <0,001)	68,8±0,06 (P<0,05) (P ₁ >0,05)
3	40	11,15±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,05)	+89,2±2,4 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01)	22,2±0,1 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001)	68,9±0,03 (P<0,05) (P ₁ <0,01) (P ₂ >0,05)
4	56	11,05±0,02 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ <0,01)	+104,2±3 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ <0,01)	21±0,2 (P<0,001) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,001) (P ₃ <0,001)	69,1±0,03 (P<0,05) (P ₁ <0,001) (P ₂ <0,01) (P ₃ <0,001)

Примечание: Р – достоверность разницы по сравнению с контролем, Р₁ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 24 дм³/ч, Р₂ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 32 дм³/ч, Р₃ - достоверность разницы по сравнению с производительностью 40 дм³/ч.

$y = -0,435x + 75,793$, $R^2 = 0,9978$). У католитов отмечалось смещение рН в щелочную сторону с 11,22 до 11,7 ед. (зависимость вида $y = 0,24x + 10,99$, $R^2 = 0,9948$), уменьшение ОВП с +110,8 до -40,83 мВ (зависимость вида $y = -$

$75,815x + 191,35$, $R^2 = 0,9884$), повышение ОЩ с 24,08 до 35 мг-экв/дм³ (зависимость вида $y = 5,46x + 18,207$, $R^2 = 0,9831$), понижение ПН с $69,5 \times 10^3$ до $68,05 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = -0,725x + 70,2$, $R^2 = 0,9964$). У католитов

щелочных отмечалось смещение рН в щелочную сторону с 11,34 до 12,2 ед. (зависимость вида $y = 0,43x + 11,033$, $R^2 = 0,8762$), уменьшение ОВП с +312,5 до +185,3 мВ (зависимость вида $y = -63,6x + 386,47$, $R^2 = 0,9262$), повышение ОЩ с 25,9 до 43,3 мг-экв/дм³ (зависимость вида $y = 8,7x + 17,367$, $R^2 = 0,9989$), понижение ПН с $68,45 \times 10^3$ до $65,5 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = -1,475x + 70,1$, $R^2 = 0,9595$). Оптимальная концентрация исходного раствора натрия хлорида для получения анолита нейтрального, анолита кислого, католита и католита щелочного 3,0 г/дм³. При этом анолит нейтральный характеризовался рН = 6,5 ед., ОВП = +961 мВ, ПН = $75,5 \times 10^3$ Дж/м² и $C_{ax} = 459$ мг/дм³. Анолит кислый был с рН = 5,88 ед., ОВП = +1063 мВ, ПН = $74,9 \times 10^3$ Дж/м² и $C_{ax} = 281$ мг/дм³. Католит имел рН = 11,49 ед., ОВП = +49,2 мВ, ПН = $68,7 \times 10^3$ Дж/м² и ОЩ = 28,3 мг-экв/дм³. Католит щелочной был с рН = 12,05 ед., ОВП = +280 мВ, ПН = $67,5 \times 10^3$ Дж/м² и ОЩ = 35,1 мг-экв/дм³. Эта концентрация как наиболее адекватная указывается другими авторами при изучении установок типа СТЭЛ [8].

Результаты изучения особенностей технологии получения ЭХА растворов в зависимости от удельного расхода электричества анолита нейтрального показали, что увеличение расхода электричества с 1312 до 2100 Кл/дм³ привело к смещению в кислую сторону рН анолитов с 6,5 до 6,26 ед. (зависимость вида $y = 0,083x + 6,575$, $R^2 = 0,971$), повышению ОВП с +968,8 до +1059 мВ (зависимость вида $y = 31,531x + 920,35$, $R^2 = 0,9042$), снижению ПН с $75,5 \times 10^3$ до $75,08 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = -0,146x + 75,71$, $R^2 = 0,886$), повышению C_{ax} с 459 до 703,2 мг/дм³ (зависимость вида $y = 81,06x + 356,65$, $R^2 = 0,9586$). У католитов увеличение удельного расхода электричества с 2100 до 5250 привело к смещению в щелочную сторону рН с 10,73 до 11,49 ед. (зависимость вида $y = 0,238x + 10,45$, $R^2 = 0,9116$), снижению ОВП с +140,7 до +49,2 мВ (зависимость вида $y = -32,2x + 175,7$, $R^2 = 0,9755$), снижению ПН с $69,7 \times 10^3$ до $68,7 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = -0,33x + 701$, $R^2 = 0,9595$), повышению ОЩ с 19 до 28,3 мг-экв/

дм³ (зависимость вида $y = 2,897x + 15,75$, $R^2 = 0,9213$). Оптимальным удельным расходом электричества для получения анолита нейтрального на универсальной установке является 1312 Кл/дм³, при котором получился анолит нейтральный с рН 6,5 ед., ОВП +961 мВ, ПН $75,5 \times 10^3$ Дж/м² и $C_{ax} = 459$ мг/дм³. Для получения католита оптимальным удельным расходом электричества является 5250 Кл/дм³, при этом рН = 11,49 ед., ОВП = +49,2 мВ, ПН = $68,7 \times 10^3$ Дж/м² и ОЩ = 28,3 мг-экв/дм³.

Результаты изучения особенностей технологии получения ЭХА растворов в зависимости от производительности установки показали, что увеличение производительности установки с 24 до 56 дм³/ч привело к смещению в щелочную сторону рН анолитов с 6,5 до 6,86 ед. (зависимость вида $y = 0,115x + 6,425$, $R^2 = 0,9251$), снижению ОВП с +961 до +945,2 мВ (зависимость вида $y = -5,42x + 966,55$, $R^2 = 0,9926$), повышению ПН с $75,08 \times 10^3$ до $75,5 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = 0,093x + 75,435$, $R^2 = 0,9265$), снижению C_{ax} с 459 до 216,6 мг/дм³ (зависимость вида $y = -85,97x + 558,6$, $R^2 = 0,965$).

У католитов увеличение производительности установки с 24 до 56 дм³/ч обусловило смещение в кислую сторону рН с 11,49 до 11,05 ед. (зависимость вида $y = -0,14x + 11,58$, $R^2 = 0,9211$), повышение ОВП с +49,2 до +104,2 мВ (зависимость вида $y = 17,67x + 35,85$, $R^2 = 0,9606$), повышение ПН с $68,7 \times 10^3$ до $69,1 \times 10^3$ Дж/м² (зависимость вида $y = 0,13x + 68,55$, $R^2 = 0,9657$), понижение ОЩ с 28,3 до 21 мг-экв/дм³ (зависимость вида $y = -2,3x + 29,45$, $R^2 = 0,8571$). Оптимальной производительностью универсальной установки является 40 дм³/ч, при котором получился анолит нейтральный с рН = 6,78 ед., ОВП = +949,5 мВ, ПН = $75,7 \times 10^3$ Дж/м² и $C_{ax} = 283,3$ мг/дм³. Католит имел рН = 11,15 ед., ОВП = +89,2 мВ, ПН = $68,9 \times 10^3$ Дж/м² и ОЩ = 22,2 мг-экв/дм³.

Заключение

1. При повышении содержания в исходных водных растворах натрия хлорида с 1 до 5 г/дм³ у анолитов отмечается смещение рН в кислую сторону, нарастание окислительно-

восстановительного потенциала, увеличение содержания активного хлора и снижение поверхностного натяжения, у катодитов – смещение рН в щелочную сторону, снижение окислительно-восстановительного потенциала и поверхностного натяжения, нарастание общей щелочности.

2. Увеличение удельного расхода электричества с 1312 до 2100 Кл/дм³ у анолитов обуславливает смещение рН в кислую сторону, повышение окислительно-восстановительного потенциала и содержания активного хлора и снижение поверхностного натяжения. Увеличение удельного расхода электричества с 2100 до 5250 Кл/дм³ у катодитов приводит к смещению рН в щелочную сторону, снижению окислительно-восстановительного потенциала и поверхностного натяжения, повышению общей щелочности.

3. При увеличении производительности установки с 24 до 56 дм³/ч у анолитов рН смещается в щелочную сторону, окислительно-восстановительный потенциал и содержание активного хлора снижаются, поверхностное натяжение повышается, у катодитов - рН смещается в кислую сторону, окислительно-восстановительный потенциал и поверхностное натяжение повышаются, общая щелочность снижается.

4. Оптимальными условиями для получения на универсальной установке анолита

нейтрального, анолита кислого, католита и католита щелочного является концентрация натрия хлорида 3,0 г/дм³ при производительности 40 дм³/ч и удельном расходе электричества для анолита 1312 Кл/дм³, католита - 5250 Кл/дм³.

Литература

1. Бахир, В.М. Электрохимическая активация: очистка воды и получение полезных растворов. / В.М. Бахир; под ред. В.М. Бахира. – М.: Из-во «Маркетинг Саппорт Сервисиз», 2001. – 175 с.
2. Бахир, В.М. Медико-технические системы и технологии для синтеза электрохимически активированных растворов / В.М. Бахир - М.: ВНИИИМТ МЗ РФ, 1998. – 66 с.
3. Установка для приготовления дезинфицирующих и моющих растворов типа «БАВР» - Технические условия ТУ РБ 28635243.001-96: утв. 09.12.1996.
4. Установка для получения электрохимически активированных дезинфицирующих и моющих растворов: пат. 1112 Респ. Беларусь / И.И. Бурак, А.Б. Юркевич, В.С. Морозов [и др.]; заявитель ЧНУПП «Акваприбор» - № 1112; заявл. 24.03.03; опубл. 01.08.03. – 1 с.
5. Антропов, Л.И. Теоретическая электрохимия / Л.И. Антропов – М.: Высшая школа, 1965. – 392 с.
6. Гуриков, Ю.В., Бондаренко Н.Ф. Природная вода как окислительная среда / Ю.В. Гуриков, Н.Ф. Бондаренко // Журнал физической химии. - 2001. – № 7. - Т. 75. – С.1221-1224.
7. Евстратова, К.И. Практикум по физической и коллоидной химии / К.И. Евстратова – М: Высшая школа, 1990, - С.72-167.
8. Способ умягчения природной воды: а.с. 1101419 СССР, 1982 / М.Г. Лубянская, У.Д. Мамаджанов, В.М. Бахир [и др.].

Поступила 10.01.2007 г.
Принята в печать 20.06.2007 г.

© КОЗЛОВСКАЯ В.В., 2007

ВЫЯВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА MALASSEZIA НА КОЖЕ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ СЕБОРЕЙНЫМ ДЕРМАТИТОМ, СЕБОРЕЙНЫМ ПСОРИАЗОМ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

КОЗЛОВСКАЯ В.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;
кафедра дерматовенерологии

Резюме. Дрожжеподобные грибы рода *Malassezia* являются нормальными обитателями кожи человека. Однако при некоторых воспалительных заболеваниях кожи отмечается гиперколонизация *Malassezia*. Выявление дрожжеподобных грибов *Malassezia* затруднено вследствие их липофильной природы. В настоящее время разработана только диагностика отрубевидного лишая с помощью забора материала тупым концом скальпеля и микроскопией с добавлением щелочи. Однако данный метод не позволяет исследовать распределение дрожжеподобных грибов на поверхности кожи здоровых людей. Поэтому нами был разработан метод адгезивной прозрачной ленты.

С помощью данного метода определено, что у лиц 21-30 лет отмечалось достоверное увеличение дрожжеподобных клеток *Malassezia* в 1 см² кожи по сравнению с детьми и лицами старше 60 лет. При этом в области плеча отмечается меньшее количество клеток по сравнению с кожей лица, спины и груди. В целом дрожжеподобные клетки *Malassezia* отмечаются у 51,4% здоровых лиц, 91,44% пациентов с себорейным дерматитом, 85,7% пациентов с себорейным псориазом, 66,7% пациентов с атопическим дерматитом с поражением лица и шеи. При этом пациенты с воспалительными дерматозами имеют достоверно более высокий уровень колонизации дрожжеподобными клетками.

Ключевые слова: дрожжеподобные грибы, *Malassezia*, себорейный дерматит, гиперколонизация.

Abstract. *Malassezia* yeasts are the normal inhabitants of human skin. But in some inflammatory diseases hypercolonization of *Malassezia* is observed. It is difficult to reveal *Malassezia* yeasts because of their lipophylic characteristics. Nowadays KOH test is used for the microscopic examination of these microorganisms. But this method doesn't allow to study the distribution of *Malassezia* cells on the surface of the skin of healthy persons. That is why we developed adhesive tape method.

With this method we determined that people who were 21-30 years old had significantly higher colonization rates than children and elderly people. In shoulder region the number of the cells in 1 sq cm is much lower than in the region of the chest, back and face. In general *Malassezia* cells are revealed in 51,4% of healthy persons, 91,44% of patients with seborrheic dermatitis, 85,7% of patients with seborrheic psoriasis, and 66,7% of patients with face and neck atopic dermatitis. Patients with inflammatory diseases also show higher colonization rates.

Дрожжеподобные грибы *Malassezia* являются естественными обитателями кожи человека. В настоящее время выделяют ряд видов, принадлежащих роду *Malassezia*. Шесть из них (*M. furfur*, *M. slooffiae*, *M. obtusa*,

M. globosa, *M. restricta*, *M. sympodialis*). Японскими исследователями в период с 2002 по 2004 год выделено еще 4 вида - *Malassezia dermatis*, *M. yamatoensis*, *M. japonica*, и *M. nana* [4].

Ранее патогенность *Malassezia* связывалась лишь с отрубевидным лишаем. Однако вскоре дрожжеподобные грибы были выделены со здоровой кожи человека и определено,

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский медицинский университет, кафедра дерматовенерологии. – Козловская В.В.

что их численность не уступала обсемененности *Propionibacterium*. Причем самая значительная обсемененность наблюдается в местах повышенной активности сальных желез, что обусловлено их липофильностью [2]. С помощью микроскопии и КОН - теста клетки *Malassezia* определяются со здоровой кожи в 67% случаев [8].

Различными исследователями проводились исследования, целью которых являлось выявить закономерности в распределении видов. Дрожжи колонизируют кожу человека с момента начала функционирования сальных желез. У детей пяти лет грибок часто не обнаруживается, у пятнадцатилетних выявляется в 93% случаев, с возрастом частота его обнаружения падает [3]. Эти данные подтверждаются иммунологическими исследованиями. Обнаружено, что у детей до 11 лет антитела к антигену, полученному из филтратов *M. furfur*, не выявляются, а после 50 лет антитела обнаруживаются реже. В целом частота обнаружения антител к *M. furfur* составляет 31% [5].

Новорожденные дети, имеющие иммунодефициты либо находящиеся в тяжелом состоянии, могут подвергаться колонизации *Malassezia*. Эти дрожжи могут также вызывать фунгемию при введении липидов через катетер. Такие факторы как малый вес при рождении, увеличение сроков госпитализации увеличивают вероятность колонизации.

Отмечено также, что форма дрожжевых клеток может зависеть и от географического фактора: в Швеции и Венесуэле преобладают округлые формы, тогда как в Англии и США – овальные. При изучении культур *Malassezia* с различных участков тела выявлено, что *Malassezia restricta* обнаруживалась наиболее часто у подростков и молодых людей, в то время как *M. globosa* превалировала у лиц старше 50 лет. Клетки наиболее часто выделялись с области груди, чем с других участков кожи [10]. Считают, что *Malassezia* не передается контактным путем, однако вместе с тем отмечена высокая наследственная предрасположенность (более 20%) к заболеваниям, связанным с этим микроорганизмом [7].

Дрожжи способны существовать в двух формах – дрожжевой и гифальной. Дрожжевая форма встречается на коже здоровых людей. Гифы обнаруживаются только в чешуях больных отрубевидным лишаем, что позволяет считать эту форму гриба патогенной.

При определенных условиях *Malassezia* способна вызвать воспалительные заболевания кожи: себорейный дерматит, фолликулит. *Malassezia* также отягощает течение атопического дерматита, гиперколонируя кожу себорейных участков лица, шеи, верхних отделов туловища [1]. У больных псориазом, себорейным дерматитом наблюдается более высокая обсемененность *Malassezia*, большая вариабельность видов, чем у здоровых людей [6].

Для диагностики поражений кожи *Malassezia* в настоящее время применяют микроскопический и культуральный методы.

Культивирование грибов затруднено из-за их липофильной природы. Для выращивания грибов используют среды Диксона, Лемминга – Нотмана и декстрозный агар Сабуро с добавлением хлорамфеникола и 1% оливкового масла. Затруднения в диагностике связаны и с тем, что специальные среды для культивирования этих грибов не выпускаются [8].

Поэтому метод выращивания культур имеет значение лишь для эпидемиологических исследований и объяснения закономерностей распределения дрожжей. В практическом здравоохранении наиболее легким и удобным является микроскопия чешуек кожи [9].

Для забора материала для исследования на микрофлору кожи производится соскабливание чешуек кожи тупым концом стерильного скальпеля с последующим нанесением полученного материала на предметное стекло, их окрашиванием (при необходимости) и микроскопией. Однако при слабо выраженном шелушении или при его отсутствии забор материала существенно затруднен. Кроме этого, весьма сложно оценить обсемененность кожи. В связи с этим разработка достаточно простого метода, позволяющего не только выявить наличие дрожжеподобных грибов на поверхности кожи, но и оценить их количество на поверхности кожи является актуальной клинической проблемой.

Целью данного исследования было определение возможности метода исследования с использованием прозрачной адгезивной ленты для выявления дрожжеподобных клеток *Malassezia* на коже здоровых людей и лиц с себорейным дерматитом, себорейной формой псориаза и атопическим дерматитом лица и шеи, описать характер распределения клеток на поверхности кожи, определить затраты на проведение исследования.

Методы

Обследованы 177 человек без кожной и системной патологии, 188 пациентов с себорейным дерматитом, 35 пациентов с себорейной формой псориаза и 36 пациентов с атопическим дерматитом лица и шеи.

Забор материала проводился из различных анатомических зон (лицо, грудь, спина, плечо) предложенным нами методом с использованием адгезивной прозрачной ленты. Для проведения обследования на кожу пациента наносилась прозрачная клейкая лента, на которой фиксировались слущенный эпидермис, грибки. После снятия производилась фиксация и окраса препарата метиленовым синим, препарат тщательно промывался водой, высушивался и исследовался под микроскопом при увеличении 10х90. Регистрировали грибки рода *Malassezia*: округлой (шаровидной) или овоидной (один конец закруглен, другой вытянут) формы с толстой клеточной стенкой, скоплениями шаровидных клеток, гифами. Выраженность обсеменения оценивалась в количестве дрожжеподобных клеток на 1 см² поверхности адгезивной ленты после исследования 20 полей микроскопа при использовании объектива 90х, окуляра 10х (рис. 1). Регистрировали количество скоплений грибков и наличие гиф.

Морфология дрожжеподобных грибов описана на основе культурального исследования. Чешуйки кожи высевались на среду Сабуро с добавлением 1% оливкового масла и помещались в термостат при температуре 28°C. Рост колоний происходил на 4-5 день. Дрожжи образовывали мелкие округлые колонии кремового цвета. Исследование произво-

дилось после окрашивания метиленовым синим при увеличении 10х90. Клетки *Malassezia* имели округлую или овальную форму, размеры их значительно больше размеров бактерий. Зачастую выделяются почкующиеся клетки и реже – короткие гифы (рис. 1).

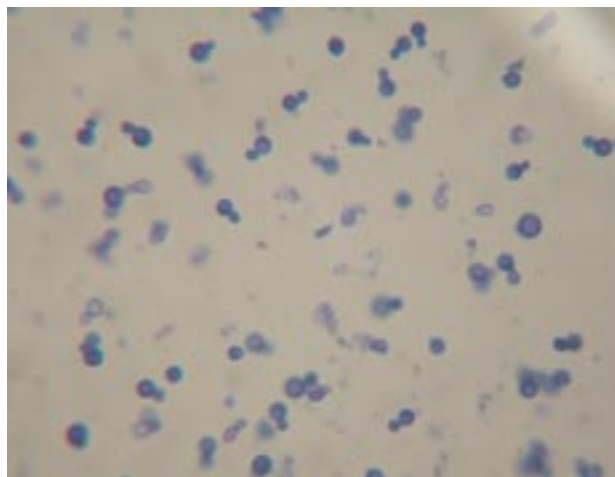


Рис.1. Почкующиеся клетки *Malassezia* при увеличении 10 х 90.

Материал обработан с помощью пакета статистических программ Статистика 6.0.

Результаты и обсуждение

С помощью адгезивной ленты дрожжеподобные грибки выявлялись у 91 здорового человека (51,4%). У взрослых частота выявления составила 55,4%. Причем частота выявления оказалась достоверно ниже у детей 3-5 лет и в группе людей старше 50 лет ($p<0,05$) по сравнению с данными в группе 21-30 лет (таблица 1; $p<0,05$). При оценке обсеменности различных участков тела отмечено, что выявлялись дрожжеподобные грибки с одинаковой частотой в области лба, груди, спины и достоверно реже в области плеча ($p<0,001$; таблица 1).

Плотность обсеменения на здоровой коже составила в среднем 4107 ± 1013 в 1 см². У здоровых лиц клетки располагались изолированно, не образовывали конгломераты и редко обсеменяли чешуйки кожи. Колонизация клетками у пациентов с кожной патологией была выше, чем у здоровых людей (таблица 2).

Таблица 1

**Выявление дрожжеподобных грибов на поверхности различных участков кожи
здоровых людей разного возраста**

Возраст (лет)	К-во обследованных	Лоб	Грудь	Спина	Плечо	Выявление грибов (всего, %)
3-5	15	2	1	2	0	2 (13,3%)*
6-10	16	7	7	7	1	8 (50%)
11-20	18	10	9	10	5	10 (55,6%)
21-30	33	18	18	16	6	26 (72,2%)
31-40	31	20	21	18	9	21 (67,7%)
41-50	28	12	13	13	6	13 (46,4%)
51-60	18	8	7	8	5	8 (44,4%)
61 и старше	18	3	3	3	1	3 (43,8%)*
Всего	177	80	79	77	33	91 (51,4%)

Примечание: * - достоверные отличия от данных у здоровых 21-30 лет.

Таблица 2

**Частота выявления дрожжеподобных грибов у здоровых и больных
себорейным дерматитом, псориазом, атопическим дерматитом лица и шеи**

Группы обследованных	К-во обследованных	Количество клеток в см ²	К-во больных с выявленными гифами	Выявление грибов (всего, %)
Здоровые	177	4107±1013	2 (1,1%)	91 (51,4%)
Пациенты с себорейным дерматитом	187	164319±890* ^{ап}	31 (16,6%)*	171 (91,44%)*
Пациенты с себорейным псориазом	35	136150±938* ^{да}	10 (28,6%)*	30 (85,7%)*
Пациенты с атопическим дерматитом лица и шеи	36	108695±964* ^{дп}	8 (22,2%)*	24 (66,7%)*

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю, д – себорейным дерматитом, п – себорейным псориазом, а – атопическим дерматитом (p<0,05).

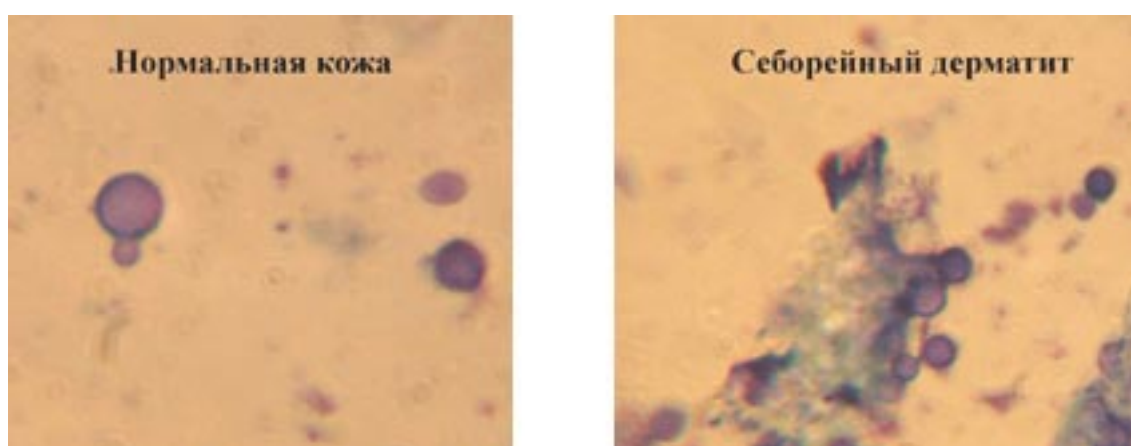


Рис.2. Дрожжеподобные клетки Malassezia на коже здоровых людей
и больных себорейным дерматитом.

При этом у пациентов с себорейным дерматитом и себорейным псориазом клетки чаще выявлялись в виде групп, локализовались преимущественно на поверхности чешуек, достоверно чаще выявлялись гифы, в результате препарат приобретал вид «спагетти с мясными шариками» (рис. 2).

Сравнили общее количество выявленных клеток *Malassezia* при использовании прозрачной липкой ленты и традиционным методом с использованием соскоба и КОН у 15 здоровых и 17 больных. Коэффициент корреляции оказался $r = 0,97$; $p < 0,001$.

Сравнили количество колоний, выявленных при посевах, и количество клеток *Malassezia* при использовании прозрачной липкой ленты у 10 здоровых и 15 больных себорейным дерматитом. Оказалось, что коэффициент корреляции равен 0,96 при $p = 0,0011$.

Полученные данные свидетельствуют о том, что разработанный метод достаточно прост, стоимость его невысока. Вместе с тем он высокоинформативен, по сравнению с традиционным соскобом позволяет дать характеристику обсеменения различных участков поверхности кожи.

Заключение

1. Разработанный метод с использованием прозрачной адгезивной ленты по сравнению с микроскопией соскобов позволяет получить дополнительную информацию о скоплениях грибов и наличии гиф.

2. Общее число дрожжеподобных грибов, определенное на поверхности кожи с помощью прозрачной адгезивной ленты, высоко коррелирует с данными, полученными методом микроскопии соскоба ($r = 0,97$; $p < 0,001$) и выявлением их с помощью посевов на специальных средах ($r = 0,93$; $p < 0,001$).

3. Определено, что у здоровых людей достоверно чаще обнаруживаются дрожжепо-

добные грибы в области лба, груди и спины, чем в области плеча ($p < 0,05$), у детей 3-5 лет и у людей старше 60 лет по сравнению с данными у людей 21-30 лет.

4. У пациентов с себорейным дерматитом и себорейным псориазом количество дрожжеподобных грибов и их гиф на поверхности кожи достоверно выше, чем у здоровых людей.

Литература

1. Адашкевич, В. П. Воспалительные кожные заболевания: практическое рук-во / В. П. Адашкевич. – Минск: ООО «ДокторДизайн», 2003. – 120 с.
2. Арзуманян, В.Г. Дрожжеподобные грибы *Malassezia* (*Pityrosporum*) / В.Г. Арзуманян, М.А. Мокроносова, В.Б. Гервасиева // Вестник РАМН. – 1998. – № 5. – С. 44-47.
3. Потеекаев, Н. Н. Заболевания кожи, вызванные грибом рода *Pityrosporum* / Н. Н. Потеекаев // Вестник дерматологии и венерологии. – 2002. – № 3. – С. 9-11.
4. Antifungal Activities of Tacrolimus and Azole Agents against the Eleven Currently Accepted *Malassezia* Species / S. Takashi [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 6. – P. 2824-2829.
5. Bandhaya, M. The distribution of *Malassezia furfur* and *Malassezia pachydermatis* on normal human skin / M. Bandhaya // Southeast. Asian. J. Trop. Med. Public. Health. – 1993. – Vol. 24, №2. – P. 343-346.
6. Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en poblacion mexicana / F. H. Hernandez [et al.] // Rev. Iberoam. Micol. – 2003. – Vol. 20. – P. 141 – 144.
7. Faggi, E. Anti-*Malassezia furfur* antibodies in the population / E. Faggi // Mycoses. – 1998. – Vol. 41, № 7-8. – P. 273-275.
8. Identification and pathogenicity of *Malassezia* species isolated from human healthy skin and with macules / R. P. Neves [et al.] // Brazilian Journal of Microbiology. – 2005. – Vol. 36. – P. 114 – 117.
9. Omodo-Eluk, A. J. Comparison of two sampling techniques for the detection of *Malassezia pachydermatis* on the skin of dogs with chronic dermatitis / A. J. Omodo-Eluk, K. P. Baker, H. Fuller // Vet. Journal. – 2003. – Vol. 165. – № 2. – P. 119 - 124.
10. Quantitative investigation on the distribution of *Malassezia* species on healthy human skin in Korea / Y. W. Lee [et al.] // Mycoses. – 2006. – Vol. 5. – P. 405-410.

Поступила 28.03.2007 г.

Принята в печать 20.06.2007 г.

© СТЕФАНЕНКО Е.В., 2007

СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ ОЦЕНКА ПРИЗНАКОВ СМЕРТИ ОТ ОБЩЕГО ПЕРЕОХЛАЖДЕНИЯ ОРГАНИЗМА

СТЕФАНЕНКО Е.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме. Диагностика смертельной холодовой травмы представляет сложную проблему современной судебной медицины и, несмотря на довольно длительную историю ее изучения, продолжает оставаться неоднозначной и порой затруднительной. Используя для диагностики смертельной гипотермии отдельные или неправильно оцененные характерные признаки, а не весь их комплекс, мы лишаем себя возможности дифференциации смертельной гипотермии и имеющейся соматической патологии, обострившейся на фоне действия на организм низкой природной температуры, что существенно завышает отчетную статистику случаев гибели людей от холода. Материалом данного исследования явились архивные данные Управления по Витебской области Государственной службы медицинских судебных экспертиз. За период 2004-2006 г. было направлено на исследование в судебно-гистологическое отделение с предположительным диагнозом «общее переохлаждение организма» 399 случаев. Установлено, что в 72,5% случаев обнаружались основные микроскопические признаки смертельной гипотермии (бронхоспазм, пятна Вишневого, пролиферативно-дистрофические изменения канальцев яичек) и в 27,5% случаях не обнаружен ни один из микроскопических признаков смертельной гипотермии. Точность диагностики смертельной гипотермии зависит от комплекса обнаруженных признаков, наиболее важными из которых являются характерные макро- и микроскопические морфологические признаки и результаты биохимического исследования.

Ключевые слова: судебная медицина, смертельная гипотермия.

Abstract. The diagnosing of lethal cold trauma is a complicated problem of modern forensic medicine and in spite of a rather long history of its investigation remains ambiguous and sometimes difficult. Using for diagnosis of lethal hypothermia single or incorrectly estimated specific signs but not all complex of them, we deprive ourselves of the possibility to differentiate lethal hypothermia and somatic pathology aggravated against the background of low environmental temperature influence on the organism. This significantly increases the accounting statistics about the cases of human death from cold.

The material of this study is archives of medicolegal expertize State service board in Vitebsk region. During the period from 2004 till 2006 399 reports with the tentative diagnosis of total body supercooling were sent to the forensic – histological department for investigation. It was determined that in 72,5% of all cases the main microscopic signs of lethal hypothermia were detected (bronchospasm, Vishnevsky's spots, proliferation - dystrophy changes in seminal ducts) and in 27% there were no microscopic signs of lethal hypothermia.

Lethal hypothermia diagnosis accuracy depends on the complex of the detected signs, the most important of them being the specific macro – and microscopic morphological signs and the results of biochemical investigation.

Одним из сильнейших раздражителей, с которыми на протяжении всей эволюции животного мира встречался организм и, в первую очередь, его внешний покров, является температурный фактор, в

частности холод. Изучение влияния низких температур на организм человека и животных осуществлялось на протяжении 150 лет [13].

Проблема действия холода на организм человека имеет многовековую историю. Описаны случаи массовой гибели от переохлаждения солдат наполеоновской армии, большие

Адрес для корреспонденции: 210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д.59, кв.71, тел. 24-32-65. - Стефаненко Е.В.

потери в войсках во время Великой Отечественной войны. Казалось бы, в настоящее время данная проблема не является актуальной, т.к. метеоусловия, социально-экономические факторы не способствуют динамике числа случаев холодовой смерти[1]. Конечно, количество случаев смерти от охлаждения за последние 50 лет значительно снизилось, однако при изучении данного вопроса выяснилось, что, несмотря ни на что, смерть от переохлаждения организма не является редким случаем среди всего секционного материала и в наше время.

С действием холода человек в повседневной жизни встречается регулярно поздней осенью, зимой, ранней весной, поэтому смерть от охлаждения в наших широтах не является редкостью. Статистика свидетельствует, что решающее значение имеют не метеорологические, а социально-экономические факторы. Именно поэтому от холода чаще погибают истощенные, нищие, бездомные люди. Это также люди в состоянии алкогольного опьянения, при котором увеличивается теплоотдача, теряется критическое отношение к самочувствию и окружающей обстановке [3].

Единственным объяснением высокой смертности от действия холода раньше считали суровые климатические условия. Действительно, значение погоды для динамики числа случаев смерти от охлаждения весьма велико, однако ссылаться только на суровый климат было бы ошибочным. Исследования показали, что наиболее опасной температурой является температура от -11 до -20° (45% случаев), несколько менее опасной - температура от -1 до -10° (30% случаев), еще менее - температура от 0° и выше (16% случаев). Самой благоприятной погодой для наступления смерти от переохлаждения оказалась морозная погода (-30° и ниже), при ней от холода погибло за 24 года всего 9% случаев [4].

Б.А.Аптер (1964) делает вывод, что человек погибает чаще от общего охлаждения не при сильном морозе, а лишь при относительно низкой температуре воздуха. Наиболее же опасно для организма сочетание температуры воздуха около 0° с высокой влажностью и сильным ветром. В.С.Житков (1963) приво-

дит 5 случаев холодовой смерти при температуре $+5^{\circ}$ и даже считает, что смерть от холода при положительной температуре встречается чаще, чем диагностируется. Р.М.Карасик (1965) описал случай смерти от охлаждения, имевший место летом. Сопоставляя число случаев смерти от охлаждения с количеством дней с той или иной температурой, можно сделать вывод, что колебания температуры воздуха в пределах от $+8$ до -30° не оказывают сильного влияния на статистику случаев смерти от холода. Осенью и в первую половину зимы (октябрь - декабрь) ежегодно люди от холода погибали вдвое чаще, чем весной, и во вторую половину зимы (февраль - апрель). Очевидно, осенью и в начале зимы люди менее подготовлены к холоду и хуже его переносят, т.е. они еще не адаптированы [4,5,9].

Интересно отметить, что люди гибнут от холода в состоянии алкогольного опьянения. Однако большая концентрация алкоголя в крови (свыше 3‰) обнаружена только в 4 случаях. Чаще алкоголя в крови было меньше 2‰ (60 случаев), а в 20 случаях - даже меньше 1‰. Чем больше принято алкоголя, тем менее устойчив организм к охлаждению. Объясняется это тем, что алкоголь, снижая потребление кислорода тканями, угнетая обмен веществ, понижает теплопродукцию. В.Н.Попов (1875) своими экспериментами установил, что алкоголь всегда понижает температуру тела, причем падение температуры пропорционально крепости и количеству введенного алкоголя [8]. С.П. Зверев (1964) в своих исследованиях пришел к выводу, что большие дозы алкоголя обладают «гипотермическим» эффектом (он вводил 40% алкоголь в желудки 40 кошкам и подвергал их охлаждению и таким образом замечал ускорение процесса охлаждения) [2, 6, 10].

Кроме метеоусловий, алкоголя, большое влияние как на саму смерть от охлаждения, так и на выраженность признаков при ней оказывает состояние одежды, ее несоответствие погоде, психические заболевания, состояние сердца и всего организма [4,11,12].

Высокая обратимость холодовой смерти, а также чрезвычайная резистентность в эксперименте органов к охлаждению - одна из

причин, почему необходимо изучение действия низких температур на организм. Это представляет интерес как для теории, так и для практики, например, в клинике - это использование гипотермии на операционном столе. Патоморфология действия холода на организм человека представляет интерес и для врачей-клиницистов, оказывающих медицинскую помощь лицам, подвергшимся переохлаждению [13,14,15].

Судебные медики были одними из первых, кому довелось серьезно заняться изучением гипотермии. Приоритет в этих исследованиях принадлежал русским и советским ученым во многом по той причине, что именно они располагали наибольшим трупным материалом этого вида смерти. Особенно большой вклад в изучение смерти от переохлаждения внесли такие ученые, как Г. Блосфельд (1860), Штер (1845-1846), Пупарев (1847), М. Белин (1875), Диберг (1883), С.М.Вишневский (1886), М.И.Касьянов (1954)[7], П.А.Фабрикантов (1955), Л.И. Громов (1958)[8], Десятов В.П. (1876)[4]. Смерть от холода в судебно-медицинской практике не является редкостью, и каждый раз при этом судебный медик обязан давать свое ответственное заключение о причине смерти. Как и всякий другой вид насильственной смерти, смерть от холода требует четкой и категорической диагностики [4, 7].

Все вышесказанное с несомненностью свидетельствует о насущной необходимости поиска новых диагностических признаков смертельной гипотермии.

Целью данной работы является анализ патоморфологических признаков, являющихся диагностическими критериями в случаях смертельной гипотермии, а также изыскание новых специфических гистологических признаков смерти, вызванной ею.

Методы

Материалом данного исследования явились архивные данные Управления по Витебской области Государственной службы медицинских судебных экспертиз. За период 2004-2006 г. было направлено на исследование в судебно-гистологическое отделение с предпо-

ложительным диагнозом «общее переохлаждение организма» 399 случаев.

Результаты и обсуждение

В процессе изучения данных материалов экспертиз по указанному роду смерти был изучен и зафиксирован ряд наблюдений и закономерностей. Чаще всего, как видно из рис.1, люди погибали в зимние месяцы, особенно в январе и феврале (86 и 78 случаев соответственно). Учитывая температурную кривую декабря 2006-февраля 2007 года, которая была выше средней температуры зимы, люди погибали при относительно высоких ее значениях (+10 – -1°C).

Из рисунка 2 видно, что, независимо от опубликованных данных, которые говорят о том, что наибольшее количество смертей от общего переохлаждения приходится на осенние месяцы, наблюдается максимальное количество охлаждений и в зимние месяцы. Характеризуя социальный и образовательный уровень погибших, следует отметить тенденцию к распространению случаев смертельной гипотермии среди широких социальных слоев населения – преимущественно пожилых лиц (пенсионеров, инвалидов). Однако немало случаев наблюдается и среди рабочих различных специальностей и лиц без определенного места жительства.

Из 399 случаев смерти от холода 296 (74,1%) человек погибло в состоянии той или иной степени алкогольного опьянения (рис.3). В исследованиях В.П.Десятова данная категория составляет 75% [5].

У лиц, погибших от холода в состоянии алкогольного опьянения, концентрация алкоголя в крови составляла от 1,5 до 2,5‰, что соответствует средней степени алкогольного опьянения у живых лиц. Однако эти данные имеют относительное значение, так как известно, что алкоголь при охлаждении исчезает из организма значительно быстрее, и это может обуславливать несоответствие между степенью опьянения и количеством принятого до смерти от холода алкоголя, с одной стороны, и концентрацией его в крови – с другой.

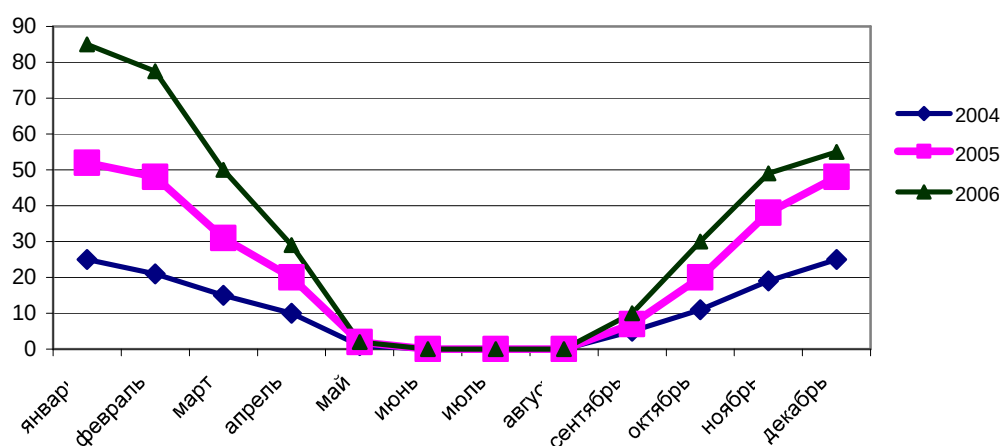


Рис. 1. Распределение количества смертей по месяцам в период с 2004 по 2006 год.

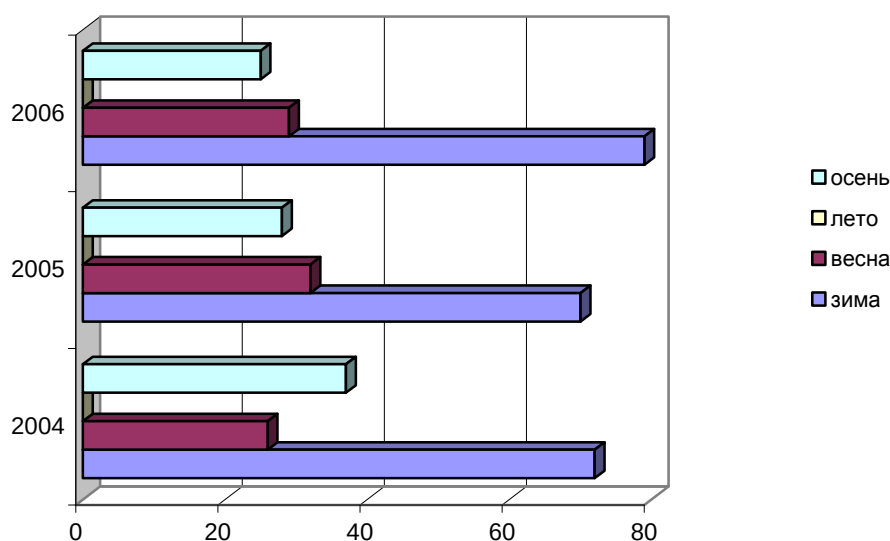


Рис.2. Распределение количества смертей по временам года.

Гибель людей от холода является преимущественно «мужским» видом смерти. Так, на одну погибшую от холода женщину приходилось до трех-четырех лиц мужского пола.

Возрастной состав погибших от холода за период с 2004 по 2006 год представлен в таблице 1.

Это сопоставление демонстрирует чрезвычайную разницу возраста погибших от гипотермии. От холода погибают люди в любом возрасте, но все же возраст большинства ко-

лебался от 40 до 68 лет. На этот расширенный возрастной диапазон приходится около 80% всех случаев смертельной гипотермии.

При анализе места происшествия и наружного исследования случаев, направленных на экспертизу с предположительным диагнозом «общее переохлаждение организма», были выявлены следующие макроскопические особенности.

Из представленной таблицы 2 видно, что, по данным архивного материала Управ-

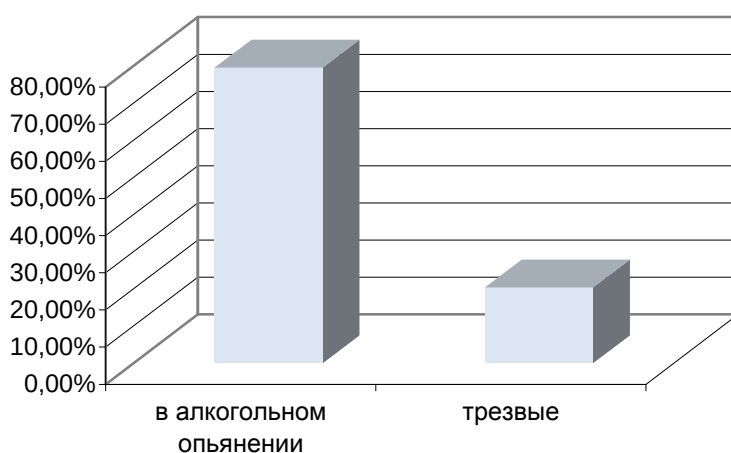


Рис.3. Зависимость охлаждения от алкогольного опьянения.

ления по Витебской области ГС МСЭ, наиболее часто встречались следующие признаки: отек головного мозга, признак Самсон-Гиммельштирна (переполнение мочевого пузыря мочой) и «гусиная кожа». Указанные признаки вполне могут быть при любом другом виде смерти. Однако такие признаки, как пятна Вишневского, розоватый цвет трупных пятен, признак Пупарева и карминно-красный цвет легких встречались также у большого количества умерших. Трупные пятна имели цвет от розовато-синюшных до ярко-розовых, в большинстве случаев они были разлитыми. Следует отметить, что применительно к трупам мужчин подтянутость яичек к наружным отверстиям паховых каналов определялась в 28,8% (117 мужчин) случаев, при этом в 110 случаях они были втянуты в паховые каналы. «Гусиная кожа» во всех случаях определялась на конечностях и более чем в трети случаев

на коже спины или живота. Отморожения встречались в 7,5% случаев, и причем это были отморожения первой степени. Такой признак, как переполнение сердца кровью, встретился лишь в 50 случаях и только в десяти из них правая половина сердца была переполнена рыхлыми смешанными свертками и жидкой кровью, а в левой половине сердца были ярко-красные свертки.

В исследуемых 399 случаях смерти от охлаждения, выявлялись следующие основные микроскопические признаки:

- Бронхоспазм – в 147 (72,6%) случаях
- Пятна Вишневского – в 294 (36,3%) случаях
- Проллиферативно-дистрофические изменения канальцев почек – в 51 (12,6%) случае. Стоит отметить, что указанный признак в обычном световом микроскопе не виден, поэтому, скорее всего, имели место или ауто-

Таблица 1

Распределение погибших от охлаждения по возрасту и полу

	2004		2005		2006	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
18-30	11	2	6	2	6	1
31-40	9	7	9	2	14	2
41-50	23	8	33	5	27	6
51-60	34	8	35	10	27	9
61 и старше	19	16	16	11	22	18
Итого	96	42	99	30	96	36

Таблица 2

Макроскопические диагностические критерии характерные для смерти от общего охлаждения организма, частота их встречаемости по данным архивного материала

Диагностический критерий	Количество случаев	Частота встречаемости, %
Розоватый оттенок трупных пятен	300	75,1
Пятна Вишневского	294	36,3
Отек головного мозга и оболочек	399	100
Признак Пупарева*	117	28,8
«Гусиная кожа»	312	78,1
Розоватый цвет легких	147	72,6
Отморожения	30	7,5
Переполнение сердца кровью	50	12
Ознобление головки полового члена*	115	28,82
Признак Фабрикантова	110	27,6
Признак Самсон-Гиммельштирна	330	82,7

* - для трупов мужчин

литические, или дистрофические изменения канальцев почек, не связанные с охлаждением организма.

- Проллиферативно-дистрофические изменения канальцев яичек – в 117 (28,8 %) случаях.

При этом практически во всех случаях имело место общее венозное полнокровие, нарушение микроциркуляторного кровообращения, отек головного мозга, отсутствие аутолиза паренхимы поджелудочной железы (если она бралась на исследование) и др.

Если учесть, что у 70% исследуемых при судебно-медицинском исследовании была выявлена сопутствующая патология (хронический гастрит, хронический пиелонефрит, язвенная болезнь желудка, кардиосклероз, атеросклероз сосудов, миокардит, цирроз печени и т.д.), то напрашивается вывод, что для смерти от холода большое значение имеет не только степень холода, но и состояние всего организма. Не следует также забывать о состоянии одежды в момент смерти. Так, в 300 случаях в протоколах экспертиз отмечалось явное несоответствие одежды времени года и температуре окружающей среды.

Однако из 399 случаев с предположительным диагнозом смерти от общего переохлаждения при судебно-гистологическом исследовании материалов в 110 трупах не обнаружен ни один микроскопический признак

общего переохлаждения организма, а имела место другая причина смерти (инфаркт миокарда, сепсис, отравление этиленгликолем, аспирация инородных частиц и др.) с последующим посмертным замерзанием тела.

Заключение

1. Согласно архивным материалам количество случаев смерти от охлаждения значительно снизилось, однако процентный показатель от всего секционного материала остается довольно высок.

2. При относительно теплой для зимы погоде существенное значение приобретает высокая влажность воздуха. Для появления тех или иных признаков, кроме степени холода и влажности, важное значение имеет состояние одежды, скорость движения воздуха, состояние сердца и всего организма, алкоголь.

3. В настоящее время одна из причин смерти от холода — алкогольное опьянение. Снег под действием тепла тела тает и пропитывает одежду человека, уснувшего на открытом воздухе, а, как известно, влажная одежда способствует быстрому охлаждению организма. Судебно-химическое исследование часто обнаруживает при холодовой смерти незначительное количество алкоголя в крови и моче. Количество алкоголя в крови при этом виде смерти, как правило, не соответствует количе-

ству принятого алкоголя, т.к. он при охлаждении организма исчезает значительно быстрее.

4. Точность диагностики смертельной гипотермии зависит от комплекса обнаруженных признаков, наиболее важными из которых являются характерные макро- и микроскопические морфологические признаки. Поэтому можно справедливо считать, что полноценными и полными исследованиями в случаях гибели людей от холода являются лишь те, в которых используются все необходимые лабораторные и дополнительные методы исследования, позволяющие выявить большинство из известных на данный момент признаков, характерных для смерти от холода.

Литература

1. Авдеев, М. И. Судебная медицина / М. И. Авдеев. – Москва, 1960. – С. 195-199.
2. Акопов, В. И. Судебная медицина в вопросах и ответах / В. И. Акопов. – Ростов-на-Дону, 1998. – С. 329-335.
3. Патологическая характеристика глубокой гипотермии в эксперименте / Е.В. Гублер [и др.] // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1959. – №5.
4. Десятов, В. П. Смерть от переохлаждения организма / В. П. Десятов. – Издательство Томского университета, 1977. – С. 3-128.
5. Десятов, В. П. Пато- и танатологические аспекты переохлаждения / В. П. Десятов // Арх. Патологии. – 1990. – № 8.
6. Деньковский, А. Р. Судебная медицина / А. Р. Деньковский. – Л. Медицина, 1976. – С. 183-190.
7. Касьянов, М. И. Очерки судебно-медицинской гистологии / М. И. Касьянов. – Медгиз, 1954.
8. Косоротов, Д. П. Учебник судебной медицины д-ра Эдуарда фон-Гофмана. – С.- Петербург: издание К. Л. Риккера. – 1908. – С. 521-524.
9. Клинецвич, Г. Н. Поражения холодом. – М.: Медицина, 1973.
10. Кузьминский, А. А. Дифференциальная диагностика общего охлаждения и от других причин / А.А. Кузьминский И. Ф. Соколов // Журнал СМЭ. – 1992. – Т. 35, №2. – С. 15-16.
11. Наumenко, В. Г. Гистологические и цитологические методы исследования в судебной медицине / В. Г. Наumenко, Н. А. Митяева. – М.: Медицина, 1980. – С. 178-183.
12. Пионтковский, И. А. Вопросы гипотермии / И. А. Пионтковский // Патол. Физиол. и эксперим. Терапия. – 1958. – Т.2. – Вып. 1.
13. Плющева, Т. В. К патогенезу пятен Вишневецкого при смерти от переохлаждения / Т. В. Плющева, В.И. Анисевич // Журнал СМЭ. – 2000. – Т.43, №1. – С. 11-14.
14. Шигеев, В.Б. Холодовая смерть / В. Б. Шигеев, С. В. Шигеев, Е. М. Колударова. – Москва, 2004.
15. Отморожения и замерзания [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.doktor.ru/medinfo>.

Поступила 05.05.2007 г.
Принята в печать 20.06.2007 г.

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 для опубликования результатов диссертационных исследований по медицинской, фармацевтической и биологической отраслям науки.

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 для специалистов смежных областей. Основное внимание обзоров следует сконцентрировать, главным образом, 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.

Объем научной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другое), что соответствует 8 страницам текста, напечатанного через 2 интервала между строками. Краткие сообщения – 3 страницы, обзор литературы – 15 страниц.

В редакцию направляются два экземпляра рукописи. Размеры полей: сверху – 2,5 см; снизу – 2,5 см; слева – 2 см; справа – 2 см. Текст статьи и графических файлов иллюстраций необходимо представить на дискете 3,5 дюйма стандартного формата. При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программы Microsoft Word или Word Perfect. При этом запрещается использование жирного шрифта и курсива.

Рукописи статей представляются на русском языке (для иностранных авторов возможно изложение материала на английском языке).

Каждая полноразмерная статья должна включать следующие элементы:

аннотацию;

фамилию и инициалы автора (авторов) статьи, ее название;

введение;

основную часть, включающую разделы «Методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение»;

закключение, завершаемое четко сформулированными выводами;
список использованной литературы.

Название статьи должно отражать основную идею выполненного исследования, быть по возможности кратким, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Титульная страница должна содержать: полное название статьи; фамилии и инициалы авторов, их место работы, а также почтовый адрес и телефоны того автора, с кем следует вести редакционную переписку и кому следует отсылать корректуру; сокращенный вариант названия статьи (не более 40 знаков); ключевые слова (не более 6) для составления указателя.

Аннотация на русском и английском языках (не менее 150 слов) должна ясно излагать содержание статьи и быть пригодной для опубликования в аннотациях к журналам отдельно от статьи.

В разделе «Введение» 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. Во введении следует избегать специфических понятий и терминов. 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.

Основная часть статьи должна содержать описание методики, аппаратуры, объектов исследования и подробно освещать содержание исследований, проведенных автором (авторами). Полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

Основная часть статьи может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками) и содержать анализ последних публикаций, посвященных решению вопросов, относящихся к данным подразделам.

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. Размер присылаемых рисунков должен быть выбран с учетом их уменьшения в тексте вдвое-втрое. Толщина линий на рисунках должна быть такой, чтобы после уменьшения она составила 0,2 мм. Размеры рисунков не должны превышать 24х40 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 и третьего экземпляров статьи должны содержать все необходимые буквенные и цифровые надписи. Подписи к рисункам печатаются через два интервала на отдельном листе бумаги. Листы с подписями не скрепляются с самими рисунками.

Каждая таблица должна быть отпечатана 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. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений.

В разделе «Закключение» должны быть в сжатом виде сформулированы основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения и четко сформулированы выводы. При необходимости должны быть также указаны границы применимости полученных результатов.

Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

Размерность величин должна быть выражена в единицах Международной Системы (СИ), однако при необходимости в скобках после единиц измерения СИ может быть указана размерность в других системах.

Список использованной литературы оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Список располагается в конце текста, ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок (например: [1], [2]).

Список включает работы отечественных и зарубежных авторов. В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15 источников, в обзорах литературы – не более 50. В статье не допускаются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена автором.

Желательно использовать общепринятые сокращения.

Направление в редакцию ранее опубликованных или принятых к печати в других изданиях работ не допускается. Статьи принимаются в редакцию только с визой руководителя и обязательно при наличии экспертного заключения о возможности опубликования материалов в печати и других средствах массовой информации.

Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.

Подписано в печать 21.06.07 Формат 1/8.

Бумага типографская №2. Гарнитура «Таймс» Усл.-печ. л. 14,996

Тираж 150 экз. Заказ № 741 .

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный медицинский университет».

Лицензия ЛИ № 02330/0133209 от 30.04.04

Отпечатано на ризографе в Витебском государственном медицинском университете.

210023, г. Витебск, пр-кт Фрунзе, 27.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.