

Вестник РГМУ

Научный медицинский журнал
Российского национального исследовательского
медицинского университета им. Н.И.Пирогова

И.о. главного редактора

А.Г.Камкин

Заместитель главного редактора

А.П.Эттингер

Редколлегия

Г.П.Арутюнов	Л.И.Ильенко	Г.В.Порядин
И.В.Бабенкова (ответственный секретарь)	О.А.Кисляк	Н.Г.Потешкина
Ю.В.Балаякин	Н.А.Константинова	С.В.Свиридов
М.Р.Богомилский	В.И.Лапочкин	А.В.Скороглядов
Л.В.Ганковская	В.И.Лучшев	Н.Н.Снежкова
С.П.Даренков	С.Д.Михайлова	Е.В.Старых
Ю.Э.Доброхотова	Ю.Г.Мухина	В.А.Стаханов
В.Н.Золкин	А.Г.Пашинян	В.М.Тиктинский-Шкловский
	С.Б.Петерсон	И.З.Шишков
	Б.А.Поляев	

Редакционный совет

Е.И.Гусев	Г.М.Савельева
И.И.Затевахин	Ю.К.Скрипкин
Ю.Ф.Исаков	В.И.Стародубов
Ю.М.Лопухин	Г.И.Сторожаков
В.С.Савельев	А.И.Федин

Учредитель и издатель

© Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Адрес редакции журнала:
117997, Москва,
ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-3576
E-mail: iio-vestnik@mail.ru

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства
в сфере массовых коммуникаций
и охране культурного наследия.
Свидетельство о регистрации средства
массовой информации
№ 012769 от 29 июля 1994 г.

Журнал «Вестник РГМУ»
является рецензируемым изданием
Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов
Тираж 3000 экз.
Цена свободная
Подписной индекс по каталогу
«Роспечать»: 46826

К юбилею академика Ю.А.Владимирова

Медицинская биофизика: роль кафедры общей и медицинской биофизики в ее становлении и развитии
Ю.А.Владимиров, А.Н.Осипов, Ю.О.Теселкин **5**

Особенности метаболизма оксида азота в норме и при патологии
В.Ю.Титов, М.В.Крейнина, В.А.Петров, А.В.Иванова, В.С.Болдырихин, Ю.В.Балякин, А.Н.Осипов **11**

Хирургия

Катетерная микроэнтеростомия в раннем энтеральном питании больных, перенесших резекцию желудка
Л.С.Аронов, Д.В.Луканин, А.А.Тоноян **16**

Акушерство

Клиническое значение исследования содержания естественных аутоантител в сыворотке крови при преэклампсии
О.В.Макаров, Ю.А.Богатырев, Н.А.Осипова **22**

Неврология

Корреляции показателя мозгового кровотока и функций сосудистого эндотелия при атеросклерозе церебральных артерий
А.И.Федин, Е.П.Старых, А.С.Парфенов, О.П.Миронова, Е.К.Абдрахманова, Е.В.Старых **27**

Современные возможности исследования мозгового кровообращения и уровня церебральной перфузии у больных с окклюзирующими поражениями брахиоцефальных артерий
И.П.Асланиди, Л.И.Пышкина, Т.Н.Сергуладзе **32**

Инфекционные болезни

Клинические формы туберкулеза у детей раннего и дошкольного возраста с носительством вирусов герпеса в мононуклеарных клетках крови
О.В.Панова, В.А.Стаханов, М.А.Стенина, Д.А.Воеводин, Л.И.Кривов **38**

Урология

Оперативное лечение болезни Пейрони. Часть 1. Возможности человеческого тела
Г.И.Назаренко, С.П.Даренков, О.Н.Зырянова, А.Д.Саркисян **43**

Новые медицинские технологии

Персонализированная иммунотерапия в лечении гипертрофии аденоидных вегетаций у детей
Л.В.Ковальчук, Л.В.Ганковская, И.В.Рахманова, О.А.Свитич, Г.М.Зинкер, В.А.Ганковский, Д.Д.Карташов, Ю.В.Волкова, К.В.Руссанова **50**

Медико-биологические проблемы

Импульсная активность бульбарных кардиоваскулярных нейронов при гипоксии и гиперкапнии
С.Д.Михайлова, Т.М.Семущкина, А.В.Соколов, Н.П.Микаелян, Г.И.Сторожаков **55**

Влияние криоглобулинов на электрофоретическую подвижность эритроцитов при различных заболеваниях
Н.А.Константинова, И.Ю.Куликова, Е.Н.Карандашов **62**

Лечение плацентарной недостаточности препаратом природного происхождения в эксперименте
Л.И.Ильенко, Е.Н.Гужвина, Е.Л.Туманова **65**

Исследование механизмов сенсibilизации опухолевых клеток новым синтетическим гестагеном бутеролом
Е.В.Одинцова, Т.А.Федотчева, В.В.Банин, Н.Л.Шимановский **69**

Современное университетское образование

К проблеме системообразующих факторов современного университетского образования
А.Н.Моргун **75**

Юбилей

К 80-летию Юрия Андреевича Владимирова **80**

Bulletin of RSMU

Scientific Medical Journal
of the Russian National Research Medical
University named after N.I.Pirogov

Acting Editor-in-Chief

A.G.Kamkin

Deputy Editor-in-Chief

A.P.Oettinger

Editorial Board

G.P.Arutyunov

I.V.Babenkova (secretary)

Yu.V.Balyakin

M.R.Bogomilskiy

S.P.Darenkov

Yu.E.Dobrokhotova

L.V.Gankovskaya

L.I.Ilyenko

O.A.Kislyak

N.A.Konstantinova

V.I.Lapochkin

V.I.Lutchshev

S.D.Mikhailova

Yu.G.Mukhina

A.G.Pashinyan

S.B.Peterson

B.A.Polyayev

G.V.Poryadin

N.G.Poteshkina

I.Z.Shishkov

A.V.Skoroglyadov

N.N.Snezhkova

V.A.Stakhanov

E.V.Starykh

S.V.Sviridov

V.M.Tiktinskiy-Shklovskiy

V.N.Zolkin

Editorial Council

A.I.Fedin

E.I.Gusev

Yu.F.Isakov

Yu.M.Lopukhin

V.S.Savelyev

G.M.Savelyeva

Yu.K.Skripkin

V.I.Starodubov

G.I.Storozhakov

I.I.Zatevakhin

Founder and publisher

© The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov

Editorial Office:
RNRMU
Ostrovityanova str, 1
Moscow, 117997, Russia

Phone: +7 495 434 3576
E-mail: iio-vestnik@mail.ru

To the anniversary of Academician Yu.A.Vladimirov

Medical biophysics: the role of the Department of general and medical biophysics in its formation and development

Yu.A.Vladimirov, A.N.Osipov, Yu.O.Teselkin **5**

Specificity of nitric oxide metabolism in health and pathology

L.Yu.Titov, M.V.Kreytnina, V.A.Petrov, A.V.Ivanova, V.S.Boldyrikhin, Yu.V.Balyakin, A.N.Osipov **11**

Surgery

Catheter microenterostomy in the earliest enteral nutrition of patients undergone resection of the stomach

L.S.Aronov, D.V.Lukanin, A.A.Tonoyan **16**

Obstetrics

Clinical significance of studying natural autoantibodies' content in blood serum at preeclampsia

O.V.Makarov, Yu.A.Bogatyrev, N.A.Osipova **22**

Neurology

Correlation of cerebral blood flow and the endothelial function in atherosclerosis serebral arteries

A.I.Fedin, E.P.Starykh, A.S.Parfenov, O.P.Mironova, E.K.Abdrahmanova, E.V.Starykh **27**

Present capabilities of brain circulation evaluation and level of cerebral perfusion in patients
with brachiocephalic arteries occlusive disease

I.P.Aslanidi, L.I.Pyshkina, T.N.Serguladze **32**

Infectious Diseases

Clinical forms of tuberculosis in infants and preschool children with carriage of herpes viruses
in the blood mononuclear cells

O.V.Panova, V.A.Stakhanov, M.A.Stenina, D.A.Voevodin, L.I.Krivov **38**

Urology

Surgical treatment of Peyronie's disease. Part 1. The possibilities of the human body

G.I.Nazarenko, S.P.Darenkov, O.N.Zyryanova, A.D.Sarkisyan **43**

New medical technologies

Personalized immunotherapy in the treatment of hypertrophy of adenoid vegetation in children

*L.V.Kovalchuk, L.V.Gankovskaya, I.V.Rakhmanova, O.A.Svitich, G.M.Zinker, V.A.Gankovskiy,
D.D.Kartashov, Yu.V.Volkova, K.V.Russanova* **50**

Medical and Biological Problems

Impulse activity of medullar cardiovascular neurons during hypoxia and hypercapnia

S.D.Mikhaylova, T.M.Semushkina, A.V.Sokolov, N.P.Mikaelian, G.I.Storozhakov **55**

Effect of cryoglobulins on electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases

N.A.Konstantinova, I.Yu.Kulikova, E.N.Karandashov **62**

The treatment of the placental insufficiency by a preparation of natural origin in the experiment

L.I.Ilyenko, E.N.Guzhvina, E.L.Tumanova **65**

Investigation of mechanisms of sensibilization of tumor cells by new synthetic progesterin buterol

E.V.Odintsova, T.A.Fedotcheva, V.V.Banin, N.L.Shimanovskiy **69**

Modern university education

To the problem of system forming factors of modern university education

A.N.Morgun **75**

Anniversary

To the 80th anniversary of Yury Andreevich Vladimirov **80**

Медицинская биофизика: роль кафедры общей и медицинской биофизики в ее становлении и развитии

Ю.А.Владимиров¹, А.Н.Осипов^{1,2}, Ю.О.Теселкин²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. А.Н.Осипов);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, отдел медицинской биофизики, Москва (зав. отделом — проф. А.Н.Осипов)

В статье дан анализ результатов научных исследований, полученных в разные годы на кафедре общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И.Пирогова. Рассматривается роль процесса перекисного окисления липидов в механизмах повреждения клетки. Обсуждаются перспективы применения метода хемилюминесценции для решения научных и клинических задач.

Ключевые слова: биологические мембраны, свободные радикалы, перекисное окисление липидов, хемилюминесценция

Medical biophysics: the role of the Department of general and medical biophysics in its formation and development

Yu.A.Vladimirov¹, A.N.Osipov^{1,2}, Yu.O.Teselkin²

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of General and Medical Biophysics of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Department of Medical Biophysics, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov)

The paper analyzes the results of investigations obtained in different years at the Department of general and medical biophysics of medical-biological faculty of the Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov. The role of lipid peroxidation in the mechanisms of cell damage is estimated. The prospects for the use of chemiluminescence method for the decision of scientific and clinical problems are discussed.

Key words: biological membranes, free radicals, lipid peroxidation, chemiluminescence

История научных исследований кафедры

Кафедра общей и медицинской биофизики (первое название — кафедра биофизики) была организована на медико-биологическом факультете 2-го МОЛГМИ им. Н.И.Пирогова в 1966 г. Ее созда-

ние было обусловлено необходимостью сближения медицинских и биологических исследований и развития на этой основе фундаментальных медико-биологических наук. Первые годы становления кафедры биофизики были трудными, но интересными. Необходимо было разработать лекционные курсы, организовать практикумы и определить новые научные направления. Все эти задачи были успешно выполнены благодаря увлеченной и самоотверженной работе коллектива кафедры, представляемого в те годы Г.И.Клебановым, Г.Е.Добрецовым, А.Ф.Поглазовым, Д.И.Рощупкиным, В.Ф.Антоновым, О.А.Азизовой и другими сотрудниками, в основном пришедшими из МГУ им. М.В.Ломоносова и Института биофизики РАН.

Одновременно с учебными задачами возникла проблема формирования основного научного направления кафедры. Было ясно, что оно должно быть

Для корреспонденции:

Владимиров Юрий Андреевич, академик РАМН, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской биофизики факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В.Ломоносова, профессор кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, главный научный сотрудник Института кристаллографии РАН, главный научный сотрудник НИИ физико-химической медицины ФМБА, лауреат Государственной премии СССР, заслуженный деятель науки РФ

Адрес: 119192, Москва, Ломоносовский пр-т, 35, стр. 5
Телефон: (499) 147-5508
E-mail: yuvlad@mail.ru

Статья поступила 14.05.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

новым и актуальным, а также имеет большое значение для медицины. Таким направлением стало изучение структуры и функции биологических мембран и их изменений при патологии. Детальное изучение роли биологических мембран в жизнедеятельности клетки позволило понять, почему их повреждение может приводить к тяжелым нарушениям функций клетки и организма в целом. В рамках указанного направления были выделены следующие темы:

- механизм цепных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ);
- хемилюминесценция, сопровождающая процесс ПОЛ;
- физико-химические свойства биологических мембран и нарушение этих свойств при патологии;
- фотобиологическое действие УФ-излучения на биологические мембраны;
- структура белковых молекул и их комплексов.

Изучение функционирования мембранных структур и конформации белков потребовало разработки новых чувствительных методов, позволяющих исследовать тонкие структурные перестройки в макромолекулах и надмолекулярных комплексах. Одним из таких методов стал метод флуоресцентных зондов. Флуоресцентными зондами обычно называют флуоресцирующие вещества, которые, будучи добавленными к биологическому объекту, не образуют ковалентной связи с входящими в его состав молекулами, но связываются с окружающими молекулами за счет электростатического притяжения или гидрофобного взаимодействия. При этом из параметров флуоресценции можно извлечь определенную информацию о физико-химических свойствах, структуре и функционировании этого окружения. Поиск флуоресцентных зондов, разработка соответствующих методов изучения мембран с их применением заняли значительное место в исследованиях, проводимых Г.Е.Добрецовым, В.А.Петровым, А.И.Деевым, Г.И.Клебановым и другими сотрудниками. Развивая метод безызлучательного переноса энергии между флуоресцентными зондами, удалось получить уникальную информацию о пространственной структуре мембран и липопротеинов не только в изолированном состоянии, но и непосредственно в живых клетках. Были также разработаны уникальные методы измерения трансмембранных полей на плазматической и митохондриальной мембранах живых клеток. Результаты этой работы были опубликованы в монографиях [1, 2]. Эти книги, востребованные и сегодня широким кругом специалистов, знакомят читателя не только с теорией метода флуоресцентных зондов, но и с многочисленными способами их применения в фундаментальных и прикладных исследованиях в различных областях медико-биологических наук.

В конце 50-х — начале 60-х годов XX века Б.Н.Тарусов [3] и Н.М.Эмануэль [4] высказали предположение о том, что индуцированные свободными радикалами повреждения могут играть важную роль в возникновении и развитии лучевой болезни и зло-

качественных новообразований. Работы этих ученых вызвали большой интерес к проблеме свободнорадикального окисления в живых системах и послужили основой для проведения дальнейших целенаправленных исследований во всем мире. Именно поэтому проблема влияния свободных радикалов и, в частности, процесса ПОЛ на структуру и функцию биологических мембран стала одной из центральных на кафедре общей и медицинской биофизики.

Свободные радикалы обладают высокой реакционной способностью и в отличие от обычных молекул не поддаются существующим методам выделения и очистки. По этой же причине невозможно изучать свободные радикалы обычными химическими методами. Все методы оценки свободных радикалов можно разделить на косвенные и прямые. К первым относятся методы анализа продуктов реакций, протекающих с участием свободных радикалов, и так называемый ингибиторный анализ, ко вторым — методы электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и хемилюминесценции (ХЛ). Методы ЭПР и ХЛ получили большое развитие на кафедре общей и медицинской биофизики РНИМУ им. Н.И.Пирогова. Так, сотрудниками кафедры (Осипов А.Н. и соавт.) методом ЭПР впервые были зарегистрированы радикалы липидов, которые являются главными виновниками и участниками реакций цепного ПОЛ в биологических мембранах и липопротеинах. Поскольку прямой метод ЭПР во многих случаях оказывается недостаточно чувствительным, для изучения радикалов часто используют метод спиновых ловушек. При взаимодействии ловушки с радикалом происходит присоединение радикала к ловушке с образованием нового стабильного радикала, получившего название спинового аддукта; сигналы ЭПР последнего затем измеряют с целью качественного и количественного анализа соответствующих радикалов [5].

Еще более чувствительным методом обнаружения радикалов оказался метод ХЛ, также разработанный в первую очередь сотрудниками кафедры общей и медицинской биофизики. Этот метод основан на том, что при взаимодействии радикалов друг с другом выделяется много энергии, которая может излучаться в виде квантов света. Поскольку интенсивность такого свечения пропорциональна скорости реакции, в которой участвуют радикалы, регистрация ХЛ позволяет судить об изменении их концентрации по ходу реакции.

С использованием метода ХЛ было показано (Львова О.Ф., Сулова Т.А., Оленев В.И., Черемисина З.П.), что не только *in vitro*, но и *in vivo* заметный уровень ПОЛ регистрируется лишь в присутствии ионов двухвалентного железа (Fe^{2+}). Доказательство образования радикалов в различных реакциях с участием ионов железа было получено также в опытах со спиновыми ловушками (Осипов А.Н., Азизова О.А.). Методом измерения кинетики ХЛ в сочетании с математическим моделированием кинетики реакций, ответственных за свечение, было установлено, что процесс ПОЛ в модельных и биологических мембранах

имеет четко выраженный цепной характер. Дальнейшее применение теории цепных разветвленных реакций к процессу ПОЛ позволило полностью объяснить всю наблюдаемую в опытах кинетику процесса ХЛ, накопление гидроперекисей и потребление кислорода в исследуемых объектах, в первую очередь в мембранах митохондрий. В частности, было показано, что в силу особенностей кинетики разветвленных реакций ионы железа могут выполнять роль триггера, переключающего процесс с самозатухающего при высоких концентрациях на самоускоряющийся при низких. Обобщением данных о механизмах перекисного окисления в биологических мембранах и его роли в развитии болезней человека стала монография Ю.А.Владимирова и А.И.Арчакова [6].

Результаты исследований, полученные на кафедре общей и медицинской биофизики при изучении структуры и функции биологических мембран, позволили сформулировать гипотезу, согласно которой существуют четыре основных фундаментальных механизма нарушения барьерной функции мембран при патологии [7]:

- перекисное окисление липидов;
- активация мембранных фосфолипаз;
- механическое (осмотическое) растяжение мембран;
- адсорбция на поверхности мембран поликатионов, в частности чужеродных белков.

Между этими, казалось бы, совершенно разными действующими факторами общей является непосредственная причина повреждения липидного слоя мембраны — нарушение ее барьерных свойств под действием электрического поля на мембране. Что происходит, например, при перекисном окислении мембранных липидов? Исследования, проведенные группой сотрудников кафедры (Пучкова Т.В., Парнев О.В., Путвинский А.В.), позволили установить, что процесс ПОЛ приводит к понижению электрической прочности мембран и их пробоя под действием трансмембранного электрического потенциала. Было показано, что при развитии ПОЛ потенциал пробоя мембран, который может служить мерой их прочности, постепенно снижается. В норме электрическая прочность мембран (потенциал пробоя) превышает существующую на мембране разность потенциалов, и мембрана сохраняет свои барьерные свойства. При патологии под действием ПОЛ, равно как и трех других перечисленных выше факторов, происходит снижение электрической прочности мембран. Как только потенциал пробоя снижается до уровня существующей на мембране разности потенциалов, происходит электрический «самопробой» мембраны, в результате чего она утрачивает свои барьерные свойства и клетка погибает.

Дальнейшее всестороннее изучение влияния ПОЛ на структуру и функцию модельных и биологических мембран показало, что этот процесс затрагивает важнейшие характеристики их липидной фазы (заряд, вязкость, мембранную проницаемость), приводит к нарушению белок-липидных взаимодействий, измене-

нию активности мембраносвязанных ферментов и т.д. Это позволило прийти к выводу, что процесс ПОЛ является универсальным механизмом повреждения мембранных структур клетки при различных патологических состояниях и воздействию неблагоприятных факторов внешней среды [8].

Не стоит думать, что свободные радикалы (оксиданты) — это всегда плохо. Они имеют большое значение для осуществления бактерицидного и противоопухолевого действия, регуляции тонуса сосудов, свертывания крови, экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференциации и адгезии, запрограммированной гибели клеток и т.д. [9]. В норме регуляция продукции оксидантов в тканях и органах человека осуществляется антиоксидантной системой, которая включает в себя соединения различной химической природы: витамины, пигменты, гормоны, ферменты. Однако нарушение баланса между оксидантами и антиоксидантами в пользу первых может привести к развитию оксидативного стресса. Под оксидативным стрессом понимают неконтролируемое усиление свободнорадикальных реакций, в том числе реакций ПОЛ, в результате которого происходит окислительное повреждение различных биомолекул (липидов, белков, нуклеиновых кислот) и в конечном итоге — повреждение и гибель клеток. В качестве проявлений оксидативного стресса могут рассматриваться повышение содержания в плазме крови и других биологических жидкостях человека продуктов ПОЛ, а также продуктов окислительного повреждения белков (например, *o*-тирозина, нитротиролина, хлоротиролина, белковых карбонильных групп) и ДНК (например, 8-гидрокси-десоксигуанозина); увеличение активности ксантиноксидазы и концентрации гипоксантина; появление каталитически активного железа; снижение уровней отдельных антиоксидантов [10]. Сотрудниками кафедры общей и медицинской биофизики было показано, что развитие оксидативного стресса играет важную роль в патогенезе многих заболеваний, например катаракты (Деев А.И., Асейчев А.В.) [11, 12], атеросклероза (Клебанов Г.И., Шерстнев М.П., Панасенко О.М.) [13, 14], острой пневмонии и глаукомы (Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В.) [15, 16] и др.

Основные направления научных исследований кафедры в настоящее время

В настоящее время основными направлениями научных исследований кафедры общей и медицинской биофизики являются:

- исследование биофизических механизмов возникновения апоптоза;
- исследование механизмов развития эндотоксического шока;
- изучение молекулярных механизмов биостимулирующего действия лазерного излучения;
- изучение механизмов антитромбоцитарного действия некоторых биологически активных веществ;

- изучение механизмов антиоксидантного действия биологически активных веществ природного происхождения;
- разработка новых клинико-лабораторных диагностических тестов.

Методы ЭПР и ХЛ, как и прежде, остаются на кафедре наиболее востребованными. Известно, что реакции рекомбинации радикалов сопровождаются очень слабым по интенсивности свечением. Первоначально это свечение было названо сверхслабым, сейчас его чаще называют собственной или неактивированной ХЛ. Изучение этой ХЛ, как было отмечено выше, внесло большой вклад в понимание механизмов процесса ПОЛ в биологических мембранах. Однако низкая интенсивность сигнала стала одним из главных препятствий к широкому использованию данного метода в научных и клинических исследованиях. В настоящее время на кафедре общей и медицинской биофизики для решения разнообразных научных задач успешно применяются так называемые активаторы ХЛ, позволяющие достичь необходимой степени усиления свечения.

Различают химические и физические активаторы ХЛ. Химические активаторы ХЛ — это соединения, вступающие в химические реакции с активными формами кислорода (АФК) или органическими свободными радикалами. Наиболее известными химическими активаторами являются люцигенин, дающий свечение с радикалами супероксида ($O_2^{\cdot-}$), и люминол, дающий свечение в присутствии радикалов гидроксила ($\cdot OH$). В отличие от химических активаторов физические активаторы не вступают в химические реакции и не влияют на ход реакций, сопровождающихся свечением, и тем не менее многократно усиливают интенсивность ХЛ. В основе их действия лежит физический процесс переноса (миграции) энергии с молекулы продукта хемилюминесцентной реакции на активатор. Для изучения свободнорадикальных реакций при ПОЛ сотрудниками кафедры был предложен ряд физических активаторов ХЛ, таких как родамин Ж, комплекс европия с тетрациклином (Шерстнев М.П., Шаров В.С.). Самым эффективным физическим активатором оказалось производное кумарина С-525, применяемое при создании лазеров, которое усиливало ХЛ, сопровождающую окисление липидов, более чем в 1500 раз [17], никак не влияя при этом на ХЛ, обусловленную взаимодействием радикалов кислорода ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$). В настоящее время продолжается поиск новых активаторов ХЛ, совершенствование методов анализа кинетики ХЛ и математического моделирования реакций, приводящих к испусканию квантов ХЛ, с целью изучения их молекулярного механизма.

Вместе с тем не только сам метод ХЛ, но и приборы для измерения ХЛ также претерпели большие изменения. Время, когда для измерения свечения приходилось охлаждать фотоумножитель хемилюминометра жидким азотом или твердой углекислотой, ушло безвозвратно. Современные фотоумножители и методы компьютерной обработки сигналов по-

зволяют проводить регистрацию даже собственного свечения клеток и тканей, не говоря уже об активированной ХЛ. Недавно на кафедре медицинской биофизики факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В.Ломоносова совместно с малым предприятием «ИнтерОптика» был разработан портативный хемилюминометр, обладающий достаточной чувствительностью и снабженный современной программой обработки данных PowerGraph [17]. Прибор может с успехом использоваться не только в научно-исследовательских, но и клинических лабораториях, решающих задачи клинико-лабораторной диагностики. Так, например, этот прибор позволяет измерять люминолзависимую ХЛ фагоцитов крови, люцигенинзависимую ХЛ кусочков тканей и органов, определять активность некоторых антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза), окисляемость липопротеинов сыворотки крови, антиоксидантную активность биологических жидкостей и лекарственных препаратов и многое другое.

Сегодня среди множества направлений медицинской биофизики одним из важнейших является исследование молекулярных и клеточных механизмов запрограммированной гибели клеток — апоптоза, митофагии, некроптоза. Именно эти процессы играют первостепенную роль в развитии организма, формировании иммунной системы, опухолевом росте и т.д. Благодаря совместным исследованиям, проведенным сотрудниками кафедры общей и медицинской биофизики РНИМУ им. Н.И.Пирогова, кафедры медицинской биофизики МГУ им. М.В.Ломоносова и лаборатории профессора В.Кагана (Университет г. Питтсбурга, США), стало известно, что в процессах запрограммированной гибели клеток важную роль играет цитохром с [18]. Превращаясь при определенных условиях в пероксидазу, цитохром с приобретает способность к окислению липидов митохондриальных мембран [19]. Это в дальнейшем приводит к образованию во внешней мембране митохондрий крупных пор, через которые цитохром с может выходить в цитоплазму клетки, что влечет за собой активацию каскада каспаз [20]. Изучение механизмов регуляции пероксидазной активности цитохрома с позволит в дальнейшем управлять процессами апоптоза и, следовательно, лечить многие заболевания.

Другое перспективное научное направление медицинской биофизики — исследование молекулярных механизмов биостимулирующего действия лазерного излучения. Действительно, низкоинтенсивное лазерное излучение видимой и инфракрасной области спектра широко используется в клинической практике при лечении травматических повреждений, сосудистых нарушений, системно-функциональных расстройств, острых и хронических воспалительных, а также дегенеративно-дистрофических и других заболеваний.

Особая область лазерной фотомедицины — фотодинамическая терапия опухолей, которая осуществляется с использованием экзогенных фотосенсиби-

лизаторов, обладающих способностью накапливаться в опухолевой ткани. В основе лазерной фотодинамической терапии опухолей лежит активация свободнорадикальных реакций в опухолевых клетках. Инициаторами этих реакций являются АФК, образующиеся при участии молекулы фотосенсибилизатора в возбужденном триплетном состоянии. АФК приводят к свободнорадикальному повреждению липидов, белков и нуклеиновых кислот, что в конечном счете вызывает гибель клеток опухоли. Подобные эффекты возможны и в случае обычной лазеротерапии, так как акцепторами энергии лазерного излучения в видимой области спектра могут быть эндогенные фотосенсибилизаторы, например порфирины [21]. Результаты, полученные на кафедре общей и медицинской биофизики (Клебанов Г.И., Осипов А.Н.), позволили дать объяснение известному терапевтическому действию лазерного облучения крови, которое проявляется расслаблением стенок кровеносных сосудов (вазодилатацией) и повышением антибактериальных свойств крови [22, 23]. Это объяснение состоит в том, что под действием лазерного излучения происходит фотосенсибилизированное гематопорфирином ПОЛ в плазме крови и мембранах клеток, и образующиеся продукты липопероксидации вызывают протромбоцитоз (priming) фагоцитов крови, заключающийся в увеличении их функционального потенциала. При активации (например, в очаге воспаления) такие фагоциты продуцируют больше АФК и оксида азота, что вызывает вазодилатацию. Не менее важную роль играет фотолиз комплексов оксида азота (NO) с геминными соединениями организма — гемоглобином, цитохромом *c*, цитохромоксидазой [20]. В работах сотрудников кафедры (Осипов А.Н. и соавт.) было показано, что все эти комплексы обладают светочувствительностью и распадаются под действием лазерного излучения видимого диапазона с высвобождением NO [18].

Изучение антиоксидантных свойств различных веществ, а также механизмов их антиоксидантного действия традиционно было и остается одним из приоритетных направлений современной медицинской биофизики. Важность этого направления обусловлена необходимостью создания новых лекарственных препаратов с антиоксидантными свойствами с целью их применения для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся развитием оксидативного стресса. Для изучения способности различных веществ, а также биологических жидкостей человека (сыворотка крови, камерная влага, слеза, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость и др.) взаимодействовать со свободными радикалами или, другими словами, для изучения их антиоксидантной активности (АОА) в настоящее время широко используются различные модельные системы. Основными компонентами таких модельных систем являются система генерации радикалов и субстрат (или молекула-мишень), который подвергается свободнорадикальному окислению. Иницирование образования радикалов

в модельных системах может осуществляться различными способами, например, с помощью ионов металлов переменной валентности, УФ-облучения, азо-соединений, ферментов, смеси метмиоглобина с H_2O_2 . В качестве субстрата окисления могут выступать гомогенаты тканей и органов, суспензии модельных и биологических мембран, эмульсии ненасыщенных жирных кислот, красители [24]. Добавление в модельную систему антиоксидантов или биологических жидкостей, содержащих различные антиоксиданты, приводит к уменьшению образования радикалов и торможению окисления субстрата, которое регистрируется с помощью различных методов: ХЛ, спектрофотометрии, флуориметрии, полярографии и т.д. Для количественной оценки величины АОА биологической жидкости ее выражают через концентрацию стандартного антиоксиданта. В качестве стандартного антиоксиданта часто используется тролокс — водорастворимый аналог витамина Е или какой-либо другой антиоксидант. В исследованиях, проведенных на кафедре общей и медицинской биофизики РНИМУ им. Н.И.Пирогова и медицинской биофизики МГУ им. М.В.Ломоносова с использованием метода ХЛ, было показано, что АОА биологических жидкостей человека можно использовать в качестве дополнительного показателя при оценке функционального состояния его антиоксидантной системы, а также при определении эффективности применения экзогенных антиоксидантов в лечении заболеваний [25, 26]. При этом объем исследуемой биологической жидкости (например, сыворотки крови) составляет 10–20 мкл. Это позволяет осуществлять забор крови из пальца, что очень важно при динамическом наблюдении за больными.

Перспективы дальнейших исследований

Если говорить о перспективах научных исследований в области медицинской биофизики, то они в определенной степени связаны с развитием метода ХЛ. Высокая чувствительность метода ХЛ, возможность изучать кинетику процесса, работать с нативным биологическим материалом, компактность и простота оборудования дают ему большие преимущества по сравнению с другими методами. Один из путей развития этого метода заключается в решении не только фундаментальных, но и прикладных задач, и в частности, в разработке новых клинико-диагностических тестов. Можно думать, что дальнейшее развитие метода ХЛ сделает его одним из главных методов изучения свободнорадикальных процессов в условиях клинической лаборатории. Уже сегодня хемиллюминесцентные исследования биологических жидкостей, клеток крови и небольших фрагментов тканей позволяют получать важную информацию об интенсивности свободнорадикальных процессов, состоянии антиоксидантного потенциала, функциональной активности фагоцитов и т.д. при различных заболеваниях человека. Это дает возможность своевременно выяв-

лять группы риска, прогнозировать характер течения заболевания, оценивать эффективность проводимых лечебных мероприятий. Можно надеяться, что в ближайшем будущем эти биофизические методы станут обычными рядовыми тестами, какими, например, являются методы подсчета количества эритроцитов или лейкоцитов в крови.

Безусловно, для решения этих задач требуются не только сертифицированные приборы и методики, но и высококвалифицированный персонал. Что касается персонала, то он уже есть. Это студенты, которые обучаются на кафедре общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И.Пирогова. За последние годы интерес молодежи к научным исследованиям в области медицины снова возрос. Большинство выпускников кафедры общей и медицинской биофизики идут работать в научно-исследовательские и клинико-диагностические лаборатории различных лечебных учреждений и центров. Лучшие из наших студентов и аспирантов получают уникальную возможность пройти стажировку в ведущих научно-исследовательских институтах и университетах США, Германии, Австрии, что позволяет им ознакомиться с достижениями мировой науки, получить хороший научный и жизненный опыт. Все это создает благоприятные перспективы для дальнейшего поступательного развития медицинской биофизики.

Литература

1. Владимирова Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980. 320 с.
2. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука, 1989. 277 с.
3. Тарусов Б.Н. Физико-химические механизмы биологического действия ионизирующих излучений // Успехи совр. биол. 1957. Т.44. №2. С.171–185.
4. Эмануэль Н.М., Липчина Л.П. Лейкоз у мышей и особенности его развития при воздействии ингибиторов цепных окислительных процессов // Докл. АН СССР. 1958. Т.121. №1. С.141–144.
5. Владимирова Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер.: Биофизика. М.: ВИНТИ, 1991. Т.29. 252 с.
6. Владимирова Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
7. Владимирова Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т.6. №9. С.2–9.
8. Vladimirov Y.A. Free radical lipid peroxidation in biomembranes: mechanism, regulation and biological consequences // Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases. New York; London: Alan R. Liss Inc., 1986. P.141–195.
9. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Издательство «Медицинская пресса», 2006. 400 с.
10. Gutteridge J.M.C., Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill // Brit. Med. Bull. 1999. V.55. №1. P.49–75.
11. Babizhayev M.A., Deyev A.I., Lindberg L.F. Lipid peroxidation as a possible cause of cataract // Mech. Ageing Dev. 1988. V.44. №1. P.69–89.
12. Деев А.И., Асейчев А.В., Владимирова Ю.А. Свободнорадикальные аспекты катарактогенеза // Вестн. РАМН. 1999. №2. С.22–26.
13. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н., Владимирова Ю.А. и др. Хемилюминесценция апо-В-содержащих липопротеидов при экспериментальной гиперхолестеринемии у кроликов // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1982. Т.93. №4. С.101–102.
14. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Свободнорадикальная модификация липопротеинов крови и атеросклероз // Биол. мембраны. 1993. Т.10, №4. С.341–381.
15. Kolhir V.K., Bykov V.A., Teselkin Yu.O. et al. Use of new antioxidant diquertin as an adjuvant in therapy of patients with acute pneumonia // Phytother. Res. 1998. V.12. P.606–608.
16. Макашова Н.В., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. Антиоксидантная активность слезной жидкости у больных открытоугольной глаукомой // Вестн. офтальмол. 1999. Т.115. №5. С.3–4.
17. Владимирова Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биол. химии. 2009. Т.49. С.341–388.
18. Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимирова Ю.А. и др. Регуляция пероксидазной активности цитохрома с с помощью оксида азота и лазерного излучения // Биохимия. 2006. Т.71. №10. С.1392–1398.
19. Владимирова Ю.А., Демин Е.М., Проскурнина Е.В., Осипов А.Н. Образование липопероксидных радикалов при окислении кардиолипина в комплексе с цитохромом с // Биол. мембраны. 2009. Т.26. №6. С.493–504.
20. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимирова Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов // Успехи биол. химии. 2007. Т.47. С.259–292.
21. Мачнева Т.В., Буравлев Е.А., Булгакова Н.Н. и др. Роль эндогенных порфиринов в эффектах низкоинтенсивного лазерного излучения красного диапазона на свободно-радикальные процессы в крови крыс при экспериментальном эндотоксическом шоке // Биофизика. 2010. Т.56. №4. С.705–713.
22. Владимирова Ю.А., Клебанов Г.И., Борисенко Г.Г., Осипов А.Н. Молекулярно-клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Биофизика. 2004. Т.49. №2. С.339–350.
23. Владимирова Ю.А., Осипов А.Н., Клебанов Г.И. Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного облучения // Биохимия. 2004. Т.69. №1. С.103–113.
24. Комаров О.С., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. О перспективности определения антиоксидантной активности плазмы крови // Вестн. РГМУ. 2005. №1 (40). С.53–57.
25. Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Асейчев А.В., Ягмуров Б.Х. Влияние антиоксидантного препарата на основе биофлавоноидов и витамина С на антиоксидантную активность плазмы крови // Вопр. питания. 1999. №3. С.9–11.
26. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Kolhir V.K. et al. Dihydroquercetin as a means of antioxidative defence in rats with tetrachloromethane hepatitis // Phytother. Res. 2000. V.14. P.160–162.

Информация об авторах:

Осипов Анатолий Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, заведующий отделом медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1174

Теселкин Юрий Олегович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-8192

Особенности метаболизма оксида азота в норме и при патологии

В.Ю.Титов², М.В.Крейнина¹, В.А.Петров¹, А.В.Иванова³, В.С.Болдырихин¹, Ю.В.Балякин³, А.Н.Осипов^{1,2}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. А.Н.Осипов);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, отдел медицинской биофизики, Москва (зав. отделом — проф. А.Н.Осипов);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра общей патологии медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. Ю.В.Балякин)

Проведен краткий анализ современного состояния методов исследования метаболизма оксида азота (NO) в живых системах в норме и при развитии патологических состояний, а также причин, препятствующих успешному развитию представлений в этой области. Используя ферментативный сенсор, авторы установили, что в норме основные физиологические жидкости, включая кровь, содержат только следовые количества нитрита и N-нитрозосоединений (RNNO). При воспалительных процессах концентрации нитрита и RNNO в плазме крови могут существенно увеличиваться. Суммарная концентрация нитрита и RNNO свыше 150 нМ однозначно говорит о наличии в организме воспалительного процесса. Кроме того, авторами показано, что нитрит и RNNO образуются не вследствие усиления синтеза NO, а в результате деструкции находящихся в плазме доноров NO под воздействием активных форм кислорода, продуцируемых активированными лейкоцитами.

Ключевые слова: оксид азота, нитрит, нитрат, динитрозильные комплексы железа, N-нитрозосоединения, нейтрофилы, воспаление

Specificity of nitric oxide metabolism in health and pathology

V.Yu.Titov², M.V.Kreynina¹, V.A.Petrov¹, A.V.Ivanova³, V.S.Boldyrikhin¹, Yu.V.Balyakin³, A.N.Osipov^{1,2}

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of General and Medical Biophysics of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Department of Medical Biophysics, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov);

³The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of General Pathology of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. Yu.V.Balyakin)

The article contains a brief review of nitric oxide (NO) metabolism assay studies in biological systems in health and in the development of pathological conditions as well as the reasons that prevent the successful development of concepts in this field. Using enzymatic sensor, the authors found that in normal core body fluids including blood contain only trace amounts of nitrite and N-nitrosocompounds (RNNO). In inflammation processes nitrite and RNNO concentrations increase in blood plasma significantly. The total concentration of nitrite and RNNO over 150 nM is obviously a proof of inflammatory process in the body. Moreover, we have shown that nitrite and RNNO concentration rise is not the result of the inducible NO-synthase activation, but is due to NO donor destruction, presumably by active oxygen species, produced by activated leukocytes.

Key words: nitric oxide, nitrite, nitrate, dinitrosyl iron complex, N-nitrosocompounds, neutrophils, inflammation

Для корреспонденции:

Титов Владимир Юрьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-8192

E-mail: vtitov43@yandex.ru

Статья поступила 14.05.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Хорошо известно, что оксид азота (NO) синтезируется в тканях человека и животных из L-аргинина с помощью NO-синтаз. Оксид азота является универсальным медиатором, регулирующим такие процессы как: 1) поддержание тонуса гладкой мускулатуры кровеносных сосудов и желудочно-кишечного тракта (через активацию гуанилатциклазы); 2) деятельность

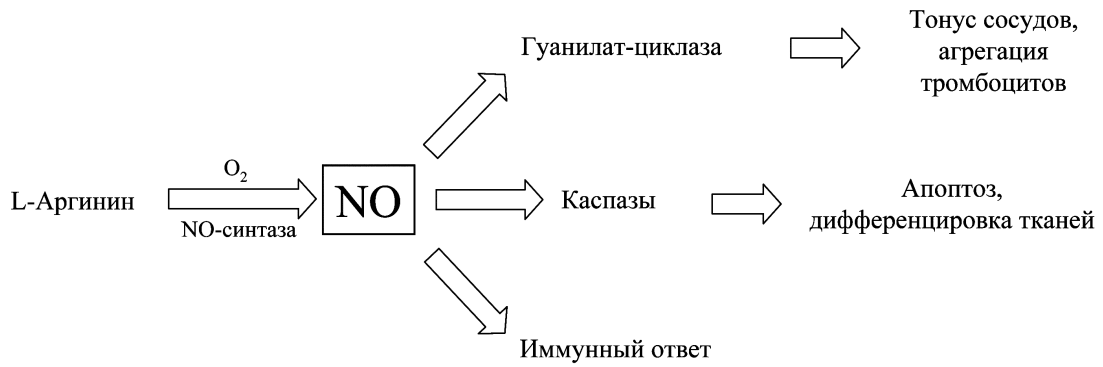


Рис. 1. Синтез NO и его физиологическое действие

центральной и вегетативной нервной системы [1]; 3) дифференцировка тканей и апоптоз (посредством регуляции активности каспаз [2]); 4) иммунный ответ [1]; 5) регуляция экспрессии ряда генов [3]. Управление физиологическими процессами, опосредованными NO, может дать возможность коррекции физиологического статуса организма (рис. 1).

К сожалению, в настоящее время доноры оксида азота практически не используются в качестве лекарственных средств (за исключением нитроглицерина). Основной причиной этого является недостаток понимания метаболических путей NO в организме животных и человека. На сегодняшний день хорошо известно, что оксид азота в организме быстро окисляется до нитрита и нитрата. Время его полужизни составляет от долей секунды до нескольких секунд. В то же время продолжительность физиологического действия NO многократно больше. Этот факт можно объяснить наличием доноров NO, которые образуются при его метаболизме в тканях и выполняют роль депо оксида азота [4]. В качестве таких соединений рассматривают S-нитрозотиолы (RSNO) и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [5, 6]. Существует мнение, что некоторые высокомолекулярные нитраты (RNO₂) также способны выполнять эту функцию [7]. На рис. 2 представлена схема метаболических путей NO, составленная согласно работам А.Ф.Ванина и соавт. [5, 6].

Эта схема, однако, не дает полного объяснения механизма физиологического действия NO, и остаются неясными следующие вопросы: 1) под действием каких факторов происходит высвобождение оксида азота из депо; 2) что является регулятором физиологического действия этих факторов? Очевидно, что молекула NO, оказавшаяся в свободном состоянии

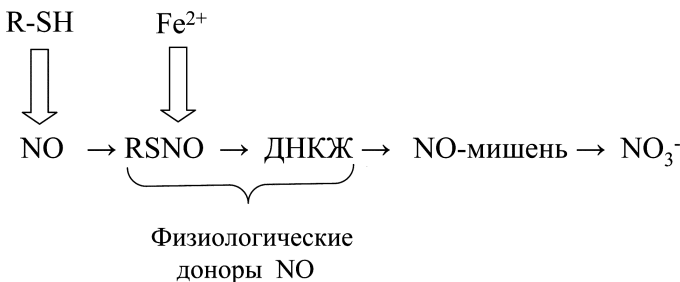


Рис. 2. Обобщенная схема физиологических реакций NO

в клетке или межклеточном пространстве, с очень малой вероятностью прореагирует с физиологической мишенью. Вероятнее всего, она будет окислена кислородом до нитрита или нитрата. По-видимому, должны существовать механизмы, обеспечивающие связывание оксида азота с основными физиологически значимыми мишенями и предохраняющие молекулу NO от окисления кислородом (рис. 3).

Знание этих механизмов позволит решить проблемы практического использования NO и его метаболитов. Для выяснения механизмов, определяющих связывание NO с мишенью, и механизмов предохранения оксида азота от окисления необходимы прежде всего методики, способные обеспечить контроль за содержанием и метаболизмом всех производных NO в биообъектах, и в первую очередь — соединений-доноров NO. К сожалению, применяемые до сих пор методы оценки их содержания не обладают высокой избирательностью. Все они требуют предварительной очистки образца либо создания нефизиологических условий среды, что в конечном итоге приводит к неконтролируемой модификации исследуемых соединений и ошибочным результатам измерений [8, 9]. Так, S-нитрозотиолы и ДНКЖ очень часто определяются методом Грисса как нитрит. Независимо ДНКЖ можно определить методом ЭПР. Однако далеко не все комплексы, содержащие оксид азота, можно зарегистрировать этим способом [9, 10].

Разработанный нами ферментный сенсор позволяет с высокой точностью (до 50 нМ) и с высокой специфичностью определить основные группы метаболитов NO в биологических объектах без предварительной очистки. Метод основан на уникальном свойстве нитрита (NO₂⁻), N-нитрозосоединений (RNNO), RSNO и ДНКЖ ингибировать каталазу в присутствии галоид-ионов и на утрате ими этого свойства под действием определенных химических агентов [11-15].

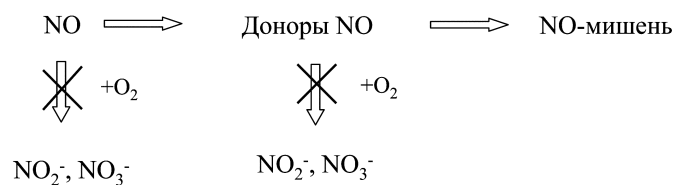


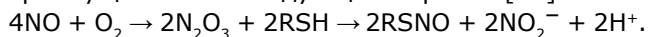
Рис. 3. Условия, необходимые для успешной реализации физиологического действия NO

Так, ДНКЖ разрушаются хелаторами железа (ЭДТА, о-фенантролином), а высвобождающийся NO связывается гемоглобином — ловушкой NO, в связи с чем ингибирующий эффект утрачивается. RSNO можно трансформировать в ДНКЖ в присутствии закисного железа. Нитрит и RNNO не продуцируют в нейтральной среде нитрозильных комплексов железа и не теряют способности ингибировать каталазу в среде, содержащей хелатор железа и ловушку NO ни до, ни после добавления закисного железа и тиолов. Других эффективных ингибиторов каталазы биологические объекты в норме обычно не содержат [9, 14]. Высокмолекулярные нитраты (RNO₂), в отличие от нитрата, могут приобретать ингибирующие свойства ДНКЖ в присутствии закисного железа и тиолов [10]. Под действием треххлористого ванадия все нитросоединения восстанавливаются до нитрозосостояния и приобретают способность ингибировать каталазу [13, 15].

Согласно полученным нами данным, все основные физиологические жидкости — кровь, амниотическая жидкость, молоко, сперма — в норме содержат нитрит и RNNO в концентрации не более 100 нМ. Такие объекты, как амнион и сперма, в норме содержат следовые количества не только нитрита, но и нитрата. Метаболиты NO в этих объектах представлены главным образом RSNO, ДНКЖ и RNO₂ [9, 15].

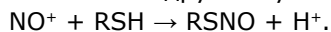
Таким образом, в норме в живых тканях существуют механизмы, предотвращающие образование нитрита и RNNO из оксида азота. Теоретически это возможно при двух условиях. Первое — образование S-нитрозотиолов не должно сопровождаться продукцией нитрита.

В настоящее время считается, что RSNO образуются преимущественно следующим образом [16]:



Однако в этом случае на одну молекулу S-нитрозотиола должна образовываться одна молекула нитрита, что противоречит нашим экспериментальным данным [9, 15].

Возможен и другой путь образования RSNO:



Однако в этом случае весь синтезированный NO должен быть каким-то образом окислен до иона нитрозония. Как это может происходить, пока не ясно.

Второе условие — при распаде молекулы донора молекула NO либо не будет выделяться в свободном виде в окружающую среду, либо ее пребывание там будет очень коротким. Нами показано, что RSNO и ДНКЖ в физиологических условиях являются устойчивыми соединениями. Перенос NO с ДНКЖ на мишень может происходить, если на комплекс в присутствии ловушки NO воздействует, например, хелатор железа. При этом не происходит предварительного высвобождения NO в реакционную среду, о чем можно судить по отсутствию образования нитрита в среде. Мы предположили, что подобный механизм может лежать в основе регуляции важнейших физиологических эффектов NO [9, 10].

Согласно данным различных исследователей, плазма крови в норме содержит нитрит в концентрации от сотен наномолей до нескольких микромолей на литр [4, 8]. По нашим данным, полученным с помощью ферментного сенсора, концентрация нитрита и RNNO в плазме здорового человека составляет менее 100 нМ [9]. Завышенные результаты классических методов, по-видимому, связаны с тем, что плазма содержит в норме от 4 до 20 мкМ ДНКЖ, которые и определяются методом Грисса полностью или частично как нитрит [9, 10, 17].

По данным ряда исследователей, при воспалительных заболеваниях значительно повышается содержание нитрита и нитрата, а также N-нитрозосоединений в плазме крови [18–22], что обычно связывают с активацией индуцибельной NO-синтазы (iNOS) нейтрофилов и макрофагов. Следовательно, количественный и качественный состав нитро- и нитрозосоединений плазмы может иметь большое диагностическое значение, в частности, может служить индикатором воспаления [1, 23, 24] (рис. 4).

Как отмечалось выше, использование традиционных методов измерения содержания метаболитов оксида азота (к которым мы в первую очередь относим метод Грисса) приводит к тому, что нитрит обнаруживается и в плазме крови здоровых доноров. Что касается нитрата, то он интенсивно поступает в организм с пищей. В связи с этим показатель суммарной концентрации нитрита и нитрата не может дать однозначного ответа в случае повышения концентрации метаболитов оксида азота при воспалении.

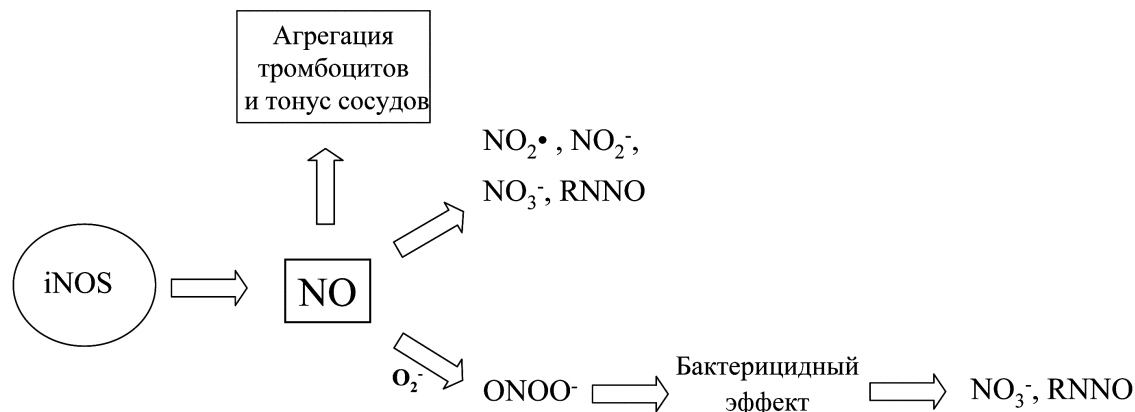


Рис. 4. Предполагаемый механизм физиологического действия NO, продуцируемого активированными нейтрофилами и макрофагами (согласно общепринятым представлениям)

Использование ферментного сенсора позволило зарегистрировать, что в плазме крови больных, страдающих различными воспалительными заболеваниями, появляется нитрит и RNNO. Кроме того, обследование более чем 100 больных показало, что появление нитрита и RNNO в плазме крови в концентрации выше 150 нМ однозначно является признаком воспаления, поскольку у здоровых доноров эти соединения присутствуют в следовых количествах. Повышенное содержание нитрита и RNNO наблюдалось и при хирургических заболеваниях (острый аппендицит, острый панкреатит, острый холецистит), и при пневмонии, и при ОРЗ. Причем этот показатель оказался значительно более чувствительным критерием для ранней диагностики воспаления, чем СОЭ и количество лейкоцитов [17]. Более того, на примере 29 больных с ишемическим инсультом, проходивших лечение в стационаре, было показано, что использование определения содержания нитрита и N-нитрозосоединений ($\text{NO}_2^- + \text{RNNO}$) в плазме крови в качестве теста на наличие генерализованного воспалительного процесса позволяет своевременно и однозначно определить его начало еще до появления клинических признаков. Кроме того, данный тест позволяет осуществлять оперативный мониторинг хода лечения [25]. Последнее особенно важно в связи с ограниченной коммуникабельностью неврологических больных.

Проведенные исследования позволили выявить следующие закономерности. Во всех случаях по мере выздоровления больных содержание нитрита и RNNO снижалось до следовых количеств [9, 17]. Однако общее содержание нитро- и нитрозосоединений (нитрит, RNNO, ДНКЖ, нитрат) существенно не изменялось [17]. Этот факт ставит под сомнение утверждения о том, что появление нитрита и RNNO является следствием активации индуцибельной NO-синтазы лейкоцитов [1, 23, 24]. Возникают вопросы: 1) если при продукции оксида азота эндотелиальной NO-синтазой, что имеет место в норме, существуют механизмы, предотвращающие окисление NO до нитрита и RNNO, то почему они не действуют при активации индуцибельной NO-синтазы; 2) каков в этом случае физиологический смысл ее активации?

Для выяснения механизма образования нитрита и RNNO при воспалении была проведена серия экспериментов по исследованию изменения состава нитро- и нитрозосоединений крови при активации лей-

коцитов зимозаном. Тем самым была предпринята попытка моделирования процессов, происходящих при воспалении. Обнаружено, что при стимуляции лейкоцитов крови зимозаном появлялись NO_2^- и RNNO и пропорционально снижалось содержание ДНКЖ — основных соединений-доноров NO в плазме крови. Содержание нитрата при этом не изменялось [26]. Таким образом, общее содержание нитро- и нитрозосоединений не изменяется, что дает основание предполагать, что происходит не интенсификация синтеза NO, а изменение состава его метаболитов вследствие деструкции ДНКЖ.

В присутствии ловушек активных форм кислорода (системы, содержащей 100 мкМ аскорбата и 1 мМ глутатиона) происходит снижение образования $\text{NO}_2^- + \text{RNNO}$ и, соответственно, убыли ДНКЖ примерно в 2,5 раза. Добавление аскорбата и глутатиона в плазму крови через 2 ч после активации зимозаном, когда активированные лейкоциты погибают, не приносило каких-либо изменений в состав нитро- и нитрозосоединений плазмы [26]. Можно предположить, что фактором, вызывающим разрушение доноров NO, являются активные формы кислорода.

При наличии в реакционной среде гемоглобина (ловушки NO) происходит только снижение содержания ДНКЖ без образования нитрита и RNNO. Эти результаты были получены нами на суспензии нейтрофилов периферической крови [26].

На основании полученных экспериментальных данных можно заключить, что появление нитрита и RNNO при воспалении связано главным образом не с активацией индуцибельной NO-синтазы, как предполагалось ранее [1, 23, 24], а с воздействием активных форм кислорода на соединения-доноры NO (ДНКЖ), находящиеся в плазме крови (рис. 5).

Результаты приведенных исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. Живые ткани в норме имеют механизм, предотвращающий окисление оксида азота до нитрита. Высвобождение NO из депо и связывание его с мишенью также происходит без окисления NO кислородом.

2. Традиционная оценка интенсивности синтеза NO по величине суммарной концентрации нитрита и нитрата — конечных продуктов метаболизма NO — не является корректной, так как содержание нитрита и нитрата определяется не только интенсивностью синтеза NO, но и интенсивностью распада соединений-доноров, которые в ряде биологических объек-

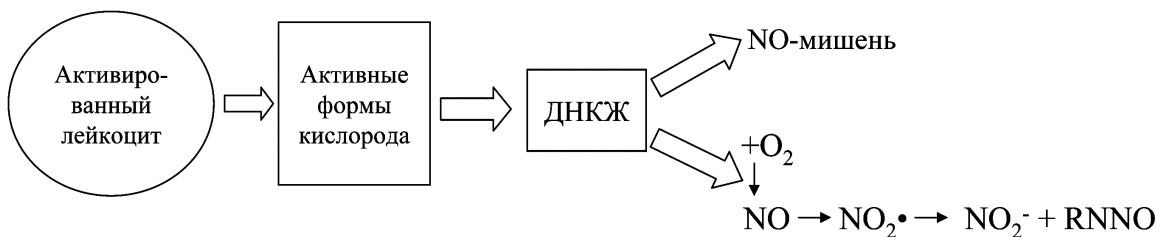


Рис. 5. Предполагаемый механизм появления нитрита и RNNO в плазме крови при воспалении (исходя из собственных данных)

тов (амнион, сперма) составляют основу всего пула нитро- и нитрозосоединений.

3. При воспалительных заболеваниях в плазме крови появляются нитрит и N-нитрозосоединения. Их появление является результатом, главным образом, деградации находящихся в плазме соединений-доноров NO (предположительно под воздействием активных форм кислорода, продуцируемых активированными лейкоцитами), а не интенсификации синтеза NO.

4. Концентрация нитрита и N-нитрозосоединений в плазме крови свыше 150 нМ однозначно свидетельствует о наличии в организме воспалительного процесса. Этот показатель является одним из самых чувствительных и может быть использован для контроля за ходом лечения.

Литература

- Moncada S., Palmer R., Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // *Pharm. Rev.* 1991. V.43. P.109-142.
- Kim Y.-M., Chung H.-T., Simmons R., Billiar T. Cellular nonheme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis, necrosis, and caspase inhibition // *J. Biol. Chem.* 2000. V.275. P.10954-10961.
- Zhou J., Brune B. NO and transcriptional regulation: from signaling to death // *Toxicology.* 2005. V.208. P.223-233.
- Rassaf T., Preik M., Kleinbongard P. et al. Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma // *J. Clin. Invest.* 2002. V.109. P.1241-1248.
- Vanin A., Muller B., Alencar J. et al. Evidence that intrinsic iron but not intrinsic copper determines S-nitrosocysteine decomposition in buffer solution // *Nitric Oxide.* 2002. V.7. P.194-209.
- Severina I., Bussygina O., Pyatakova N. et al. Activation of soluble guanylate cyclase by NO donors S-nitrosothiols, and dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands // *Nitric Oxide.* 2003. V.8. P.155-163.
- Lima E., Bonini M., Augusto O. et al. Nitrated lipids decompose to nitric oxide and lipid radical and cause vasorelaxation // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. V.39. P.532-539.
- Tsikis D. Simultaneous derivatization and quantification of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in biological fluids by gas chromatography/mass spectrometry // *Anal. Chem.* 2000. V.72. P.4064-4072.
- Titov V. The enzymatic technologies open new possibilities for studying nitric oxide (NO) metabolism in living systems // *Curr. Enzym. Inhib.* 2011. V.7. P.56-70.
- Titov V.Yu. Mechanisms of interaction of nitric oxide (NO) and its metabolites with enzymes responsible for the physiological effects of NO // *Curr. Enzym. Inhib.* 2008. V.4 №2. P.73-81.
- Titov V.Yu., Petrenko Yu.M. Nitrite-catalase interaction as an important element of nitrite toxicity // *Biochemistry (Moscow).* 2003. V.68. №6. P.627-633.
- Titov V.Yu. Interaction of nitrite with hydrogen peroxide-destroying enzymes as an important element of nitrite toxicity // *Curr. Enzym. Inhib.* 2006. V.2. №1. P.1-17.
- Titov V.Yu., Petrenko Yu.M., Vanin A.F. Mechanism of inhibition of catalase by nitro and nitroso compounds // *Biochemistry (Moscow).* 2008. V.73. №1. P.92-96.
- Титов В.Ю., Петренко Ю.М., Ванин А.Ф. Ферментативный сенсор для определения содержания нитро- и нитрозосоединений в биообъектах // *Клин. лаб. диагностика.* 2009. №9. С.6-14.
- Titov V., Petrenko Yu., Vanin A., Stepuro I. Detection of nitrite and nitrosocompounds in chemical systems and biological liquids by the calorimetric method // *Biophysics.* 2010. V.55. P.77-86.
- Gaston B. Nitric oxide and thiol groups // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V.1411. P.323-333.
- Титов В.Ю., Иванова А.В., Агапов М.А., Петров В.А. Содержание нитрита и N-нитрозосоединений плазмы как важный диагностический показатель // *Клин. лаб. диагностика.* 2011. №11. С.13-19.
- Jang D., Murrell G. Nitric oxide in arthritis // *Free Radic. Biol. Med.* 1998. V.24. P.1511-1519.
- Benjamin N., Vallance P. Plasma nitrite as a marker of nitric oxide production // *Lancet.* 1994. V.344. P.960-961.
- Blum J., Dosogne H., Hoeben D. et al. Tumor necrosis factor-alpha and nitrite/nitrate responses during acute mastitis induced by Escherichia coli infection and endotoxin in dairy cows // *Domest. Anim. Endocrinol.* 2000. V.19. P.223-235.
- Deroee A., Naraghi M., Sontou A. et al. Nitric oxide metabolites as biomarkers for follow-up after chronic rhinosinusitis surgery // *Am. J. Rhinol. Allergy.* 2009. V.23. P.159-161.
- de Haro Miralles J., Martinez-Aguilar E., Florez A. et al. Nitric oxide: link between endothelial dysfunction and inflammation in patients with peripheral arterial disease of the lower limbs // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2009. V.9. P.107-112.
- Stuehr D., Marletta M. Synthesis of nitrite and nitrate in murine macrophage cell lines // *Cancer Res.* 1987. V.47. P.5590-5594.
- Iyengar R., Stuehr D., Marletta M. Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. V.84. P.6369-6373.
- Титов В.Ю., Иванова А.В., Петров В.А. и др. Ранняя диагностика воспалительных заболеваний у больных с острым ишемическим инсультом // *Журн. неврол. и психиатр.* 2012. №7. в печати.
- Титов В.Ю., Иванова А.В., Петров В.А. и др. Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза оксида азота (NO) в тканях организма? // *Бюл. экспер. биол. и мед.* 2012. Т.153. № 6. в печати.

Информация об авторах:

Осипов Анатолий Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, заведующий отделом медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1174
E-mail: anosipov@yahoo.com

Крейнина Марина Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1511

Петров Владимир Александрович, кандидат биологических наук, профессор кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1511

Болдырихин Вячеслав Сергеевич, аспирант кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1174

Балякин Юрий Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей патологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-8637

Иванова Анна Владимировна, ассистент кафедры общей патологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-8764

Катетерная микроэнтеростомия в раннем энтеральном питании больных, перенесших резекцию желудка

Л.С.Аронов¹, Д.В.Луканин², А.А.Тоноян²

¹Городская клиническая больница № 13, Москва
(главный врач — засл. врач РФ Л.С.Аронов);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова,
кафедра общей хирургии лечебного факультета, Москва
(зав. кафедрой — проф. Н.А.Кузнецов)

Изучали возможность использования катетерной микроэнтеростомии в раннем энтеральном питании пациентов, перенесших резекцию желудка в экстренном или срочном порядке. Исследование проведено на основной группе из 32 больных, у которых для введения нутриентов использовали чрескожную катетерную микроэнтеростому. В контрольной группе из 30 пациентов энтеральное питание проводили через желудочно-кишечный двухканальный комбинированный зонд, устанавливаемый трансназально. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование катетерной микроэнтеростомы обеспечивает адекватную нутритивную поддержку и коррекцию метаболических нарушений в послеоперационном периоде, сокращает число послеоперационных осложнений и улучшает результаты лечения пациентов, перенесших резекцию желудка.

Ключевые слова: раннее энтеральное питание, чрескожная катетерная микроэнтеростомия

Catheter microenterostomy in the earliest enteral nutrition of patients undergone resection of the stomach

L.S.Aronov¹, D.V.Lukanin², A.A.Tonoyan²

¹Municipal Clinical Hospital № 13, Moscow
(Chief Doctor — Honored Doctor of Russia L.S.Aronov);

²The Russian Scientific Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of General Surgery of Medical Faculty, Moscow
(Head of the Department — Prof. N.A.Kuznetsov)

The article presents the results of studying the possibilities of using of a catheter microenterostomy for the early enteral feeding of patients undergone resection of the stomach in emergency or urgency. The study was conducted on the main group of 32 patients to whom there was used the percutaneous catheter microenterostomy for the introduction of nutrients. In the control group of 30 patients enteral nutrition was carried out through the gastrointestinal dual channel combined probe transnasally installed. These results indicate that the using of catheter microenterostomy provides adequate nutritional support and metabolic care in the postoperative period, reduces postoperative complications and improves the results of treatment in patients undergone resection of the stomach.

Key words: early enteral nutrition, percutaneous catheter microenterostomy

В настоящее время в зарубежной научной литературе множество сообщений посвящено современной доктрине интенсивного восстановления пациентов после перенесенных оперативных вмешательств (ERAS — Enhanced Recovery of patients After Surgery). Основополагающими принципами ERAS являются адекватная нутритивная поддержка и коррекция ме-

таболических нарушений в до- и послеоперационных периодах [1]. Влияние нутритивного статуса пациентов на частоту развития послеоперационных осложнений и смертность продемонстрировано большим числом как ретроспективных, так и проспективных исследований. С позиций доказательной медицины (Evidence Based Medicine) по данным исследований 1-го и 2-го уровня установлено, что для больных хирургического профиля недостаточное питание является независимым фактором риска, определяющим частоту развития гнойно-септических осложнений, летального исхода заболевания, длительности и стоимости стационарного лечения [2].

Согласно рекомендациям ESPEN (Европейское общество парентерального и энтерального пита-

Для корреспонденции:

Луканин Дмитрий Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 674-7548

E-mail: av0706@mail.ru

Статья поступила 06.02.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

ния) предпочтение следует отдавать энтеральному пути введения питательных веществ. В соответствии с современными представлениями кишечник — это не просто орган, ответственный за переваривание и всасывание. Питательные вещества также необходимы собственной слизистой тонкой и толстой кишки. Доказано, что интралюминальное введение даже небольшого количества пищи оказывает на энтероциты выраженное трофическое действие, позволяя им сохранять свою функциональную активность. Эта активность обеспечивает эндокринную, иммунную, метаболическую и механическую барьерную функции, что является необходимым условием для скорейшего выздоровления больного. В свою очередь, лишённая питательных веществ слизистая кишечника прогрессивно атрофируется, слизистый слой истончается, нарушается структура кишечных ворсинок. Описанные выше процессы лежат в основе развития синдрома кишечной недостаточности. Прогрессирование данного синдрома приводит к потере кишечной стеной барьерной функции, транслокации микроорганизмов и эндотоксинов из полости кишки в брюшную полость, порталный и системный кровотоки с последующей манифестацией синдрома полиорганной дисфункции [3, 4].

Несмотря на преимущества перорального приема пищи, характер выполненного оперативного пособия, а также развитие послеоперационных осложнений могут значительно ограничить возможности пациента получать пищу через рот. В абдоминальной хирургии подобные ограничения в первую очередь касаются пациентов, перенесших резекцию желудка. Наибольшие проблемы с реализацией энтерального питания у данной категории больных возникают в случае развития таких послеоперационных осложнений, как анастомозит, несостоятельность культи двенадцатиперстной кишки, несостоятельность гастроэнтероанастомоза, а также послеоперационный панкреатит [5]. В отечественной хирургической практике наиболее распространенным способом доставки питательных смесей в указанных выше клинических ситуациях служит постановка назоеюнального зонда (посредством эндоскопов или интраоперационно). Подобная тактика не противоречит рекомендациям ESPEN (уровень доказательства B), а также американского общества парентерального и энтерального питания (ASPEN) [6].

Анализ научной литературы и собственный клинический опыт показывают, что проведение зондового энтерального питания имеет ряд существенных недостатков [7]. Нахождение зонда в носу вызывает у больных значительный дискомфорт. Особенно плохо переносятся пациентами одновременное нахождение зондов в обоих носовых ходах (например, для энтерального питания и декомпрессии культи желудка). Негативная психоэмоциональная окраска трансназального зондирования часто приводит к самостоятельному удалению зонда больными, в том числе неосознанно во время сна. Такая клиническая ситуация в ряде случаев означает невозможность продолжения энтерального питания в послеоперационном периоде, так как эндо-

скопические методы восстановления энтерального доступа имеют значительные ограничения.

Длительное нахождение назоинтестинальных зондов сопряжено с высоким риском формирования пролежней в носу, глотке и пищеводе, желудке и кишечнике. Попытка уменьшить давление на слизистую оболочку дыхательных путей и пищеварительного тракта путем использования зондов малого диаметра также не решает всех проблем. Известно, что подобные зонды, обладая недостаточной жесткостью, часто мигрируют из тощей кишки в желудок. Грозным осложнением назоинтестинального зондирования является образование острых язв желудка и двенадцатиперстной кишки, в том числе осложненных кровотечением. Наконец длительное нахождение инородного тела в пищеводе и ротоглотке, невозможность герметичного смыкания сфинктеров пищевода в сочетании с эффектом блокировки протоновой помпы — один из ведущих факторов развития нозокомиальных пневмоний [8].

В соответствии с положениями Европейского общества парентерального и энтерального питания, после выполнения крупных абдоминальных оперативных вмешательств для зондового питания рекомендуют использовать катетерную еюностомию (уровень доказательства A) [6]. В отечественной научной литературе мы не нашли указания на опыт применения катетерных энтеростом у пациентов, перенесших резекцию желудка, в том числе у больных с интраабдоминальными осложнениями после подобных оперативных вмешательств.

Целью настоящего исследования является улучшение результатов лечения больных, перенесших резекцию желудка в экстренном или срочном порядке, путем проведения раннего энтерального питания посредством превентивной чрескожной катетерной микроэнтеростомии.

Пациенты и методы

Работа основана на результатах обследования и лечения 62 пациентов, которым проводили энтеральное зондовое питание. Из них в 30 случаях (контрольная группа) питание осуществляли через назоеюнальный зонд, а у 32 больных (основная группа) для введения нутриентов использовали чрескожную катетерную микроэнтеростомию. Всем пациентам была выполнена резекция желудка по Ру, вмешательство выполняли в срочном или экстренном порядке.

Критерии исключения больных из участия в исследовании: лица моложе 18 и старше 75 лет; беременность, подтвержденная лабораторно, роженицы, кормящие грудью; тяжесть состояния пациентов более 25 баллов по шкале APACHE-II в 1-е сутки после операции; пациенты с признаками декомпенсации сопутствующих хронических заболеваний; индивидуальная непереносимость препаратов энтерального питания; гипоксемия ($pO_2 < 50$ мм рт.ст.), метаболический ацидоз ($pH < 7,2$). Больные основной и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, а также характеру основного заболевания, потребовавшего выполнения резекции желудка.

В контрольной группе больных оперативное вмешательство завершали постановкой желудочно-кишечного двухканального комбинированного зонда ЗЖКК № 24 с наружными диаметрами желудочного канала — 8 мм и кишечного канала — 3 мм. Зону перфораций желудочного канала устанавливали в культе желудка, в то время как дистальный отдел зонда с кишечным каналом проводили через желудочно-кишечное соустье как можно дистальнее межкишечного анастомоза. Зонд ЗЖКК № 24 стремились сохранить в течение всего периода, пока существовала необходимость в нутритивной поддержке. При неосложненном течении послеоперационного периода купировать явления пареза желудочно-кишечного тракта удавалось не позднее 5-х суток после лапаротомии, больные могли приступать к более физиологичному оральному приему пищи и зонд ЗЖКК № 24 удаляли.

В основной группе больных хирургическое пособие завершали наложением чрескожной микроэнтеростомы посредством установки в просвет кишечной трубки катетера с наружным диаметром 1,5 мм в 30 см дистальнее энтерозентероанастомоза. Для декомпрессии желудка всем больным основной группы устанавливали назогастральный одноканальный зонд ЗДС № 16 с наружным диаметром 5 мм. Данный зонд удаляли на 2-е — 3-и сутки после лапаротомии. Микроэнтеростоме использовали в течение всего периода нутритивной поддержки, составлявшей 9 сут, а затем катетер удаляли. Канал после микроэнтеростомы самостоятельно закрывался в течение 1-х суток.

В раннем послеоперационном периоде динамическое наблюдение больных осуществляли в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии, после стабилизации состояния больных переводили в хирургическое отделение. Всем пациентам проводили комплексную терапию. Для доставки нутрицевтиков в кишечник во всех случаях использовали помпу Kangaroo 924.

Начиная со 2-х суток послеоперационного периода, пациентам обеих групп ежедневно проводили оценку сохранности переваривающей и всасывательной функции тонкой кишки по методике А.М.Уголева. С этой целью в 200 мл воды растворяли навеску сахара из расчета 1 г/кг массы тела пациента. Измеряли исходный уровень глюкозы крови. Тестируемый раствор болюсно вводили в кишечный канал зонда ЗЖКК № 24 (контрольная группа) либо в катетерную микроэнтеростому (основная группа). В последующем с интервалом в 10 мин трижды измеряли уровень глюкозы крови. Нарастание гликемии на 1 ммоль/л и более по сравнению с исходным значением в течение 30 мин свидетельствовало о сохранности всасывающей функции тонкого кишечника. Отсутствие значимого нарастания гликемии свидетельствовало о нарушении всасывания в кишечной трубке. Сохранность всасывающей функции позволяла перейти к оценке пристеночного пищеварения. С этой целью в 300 мл воды растворяли навеску пищевого крахмала из расчета 1 г/кг массы тела пациента. Полученный раствор болюсно вводили в кишечный канал зонда ЗЖКК № 24 (контрольная группа) либо в катетерную микроэнтеростому (основная группа). В дальнейшем

трижды с интервалом в 30 мин исследовали уровень гликемии. Повышение глюкозы крови на 1 ммоль/л и более по сравнению с исходным значением в течение 90 мин свидетельствовало о сохранности переваривающей функции тонкого кишечника.

Результаты оценки сохранности функции тонкой кишки у пациентов контрольной и основной групп служили объективным критерием выработки алгоритма энтеральной нутритивной поддержки. Больным с нарушениями всасывательной функции кишечника проводили минимальное энтеральное питание посредством перфузии глюкозо-электролитной смеси со скоростью 10–15 мл/ч (240–350 мл/сут). Пациентам с сохранной функцией всасывания, но нарушением пищеварения нутритивная поддержка включала введение 10% раствора полуэлементной смеси «Пептисорб» в глюкозо-электролитном растворе со скоростью 50 мл/ч (до 1000 мл/сут). Наконец получение объективных признаков восстановления пищеварительной функции кишечной трубки позволяли переходить к энтеральному питанию полуэлементной смесью «Пептисорб» в возрастающих концентрациях (50% и более) со стартовой скоростью 15 мл/ч.

Клиническую эффективность проводимой нутритивной поддержки пациентов основной и контрольной групп оценивали при физикальном осмотре и посредством лабораторных тестов. О переносимости питательных смесей судили по наличию или отсутствию таких критериев, как дискомфорт или боли в животе, тошнота, многократный жидкий стул с примесью непереваренной смеси. В случае развития подобных осложнений повторно проводили оценку сохранности переваривающей и всасывательной функции тонкой кишки с последующей коррекцией программы энтерального питания либо скорости введения нутрицевтиков.

В качестве лабораторного критерия эффективности нутритивной поддержки использовали ежедневный мониторинг уровня транстриетина (преальбумина) сыворотки крови. Данный показатель оценивали на 1, 3, 5, 7, 10 и 14-е сутки послеоперационного периода. В связи с высокой зависимостью данного показателя от уровня провоспалительных цитокинов, параллельно оценивали уровень С-реактивного белка, являющегося маркером воспалительного статуса организма.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что в контрольной и основной группе больных использование различных средств обеспечения энтерального питания напрямую повлияло на возможность полноценной нутритивной поддержки в течение всего необходимого периода.

Относительно большого диаметра зонда ЗЖКК № 24 (8 мм) значительно затруднял дыхание через нос, а также оказывал большее воздействие на ноцицепторы слизистой носовых ходов, носо- и ротоглотки. Дискомфорт, доставляемый зондом, привел к самостоятельному удалению зонда 9 (30,0%) больными контрольной группы в период с 3-х по 5-е сутки после операции. В основной группе пациентов за весь

период наблюдения влияние катетерных микроэнтеростом на качество жизни пациентов было минимальным, при этом 12 (37,5%) больных вообще не отметили какого-либо дискомфорта. В период функционирования микроэнтеростомы, а также после ее извлечения нами не было зафиксировано ни одного осложнения, как со стороны брюшной полости, так и передней брюшной стенки.

К 3-м суткам после лапаротомии осложненное течение послеоперационного периода было зафиксировано у 8 (26,7%) пациентов контрольной и у 5 (15,6%) больных основной группы (табл. 1). Как отмечено выше, наличие назогастрального зонда является независимым фактором риска развития нозокомиальной пневмонии (уровень доказательства А). Данный фактор потребовал преждевременного удаления зонда ЗЖКК № 24 еще у 5 пациентов контрольной группы. Таким образом, из 30 больных контрольной группы в течение первых 5 сут послеоперационного периода, по независящим от медицинского персонала причинам, только 13 (43,3%) пациентов смогли получить полноценную нутритивную поддержку. В свою очередь, в основной группе больных объективных причин прекращения использования катетерной микроэнтеростомы зафиксировано не было.

В контрольной и основной группах больных нами проведено сравнение сроков восстановления переваривающей и всасывательной функций тонкой кишки, оцененных по методике А.М.Уголева. Исследование проводили ежедневно в течение первых 5 сут после лапаротомии у пациентов с сохраненным еюнальным доступом в условиях неосложненного течения послеоперационного периода. Данному критерию соответствовали 13 больных контрольной и 27 пациентов основной группы. Различия в сроках восстановления функций тонкой кишки в контрольной и основной группах пациентов зафиксировано не было. Появление полноценной всасывательной функции в большинстве случаев регистрировали на 2-е сутки после лапаротомии, в то время как окончательную нормализацию пристеночного пищеварения наблюдали в среднем на 4-е сутки послеоперационного периода. Полученные результаты свидетельствуют, что дополнительная травматизация тонкой кишки у пациентов основной группы в зоне наложения микроэнтеростомы не оказала влияния на сроки восстановления ее функций.

Нами изучено влияние средств обеспечения энтерального питания на нутритивный статус пациентов на основе показателя уровня преальбумина. Было

выделено 3 категории пациентов с гладким течением послеоперационного периода: больные контрольной группы с сохраненным еюнальным доступом (13 пациентов), больные контрольной группы, удалившие зонд ЗЖКК № 24 (9 пациентов), и больные основной группы (27 пациентов). Динамика уровня преальбумина среди пациентов данных категорий представлена в табл. 2.

Первоначально нами проведен сравнительный анализ результатов, полученных среди пациентов контрольной и основной групп с сохраненным еюнальным доступом. Значения уровня преальбумина, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что метод доставки нутрицевтиков посредством зонда ЗЖКК № 24 либо катетерной микроэнтеростомой в первые 5 сут после лапаротомии не оказал влияния на нутритивный статус пациентов. На данном отрезке послеоперационного периода статистически достоверного отличия уровня преальбумина получено не было. Совершенно иные результаты получены на этапе перевода пациентов контрольной группы на оральный прием пищи. У данной категории больных нормализация нутритивного статуса была зафиксирована лишь к 14-м суткам после лапаротомии. В свою очередь, у больных основной группы комбинация орального и еюнального введения нутриентов позволила нормализовать показатель преальбумина уже к 10-м суткам послеоперационного периода. Несмотря на то, что в контрольной группе больных на 14-е сутки после лапаротомии уровень преальбумина все-таки достиг референтного значения, нами зафиксировано двукратное статистически достоверное превышение аналогичного показателя в основной группе пациентов ($p < 0,01$).

Следующим этапом было оценено влияние прекращения энтерального питания в контрольной группе пациентов, удаливших зонд, на их нутритивный статус. Несмотря на небольшую выборку пациентов, нами зафиксировано статистически достоверное отличие показателя уровня преальбумина, начиная с 7-х и вплоть до 14-х суток после лапаротомии. Вынужденное проведение лишь парентерального питания с последующим переходом на оральный прием пищи не позволило скорректировать недостаток висцерального пула белков. У данной категории пациентов референтные значения уровня преальбумина не были достигнуты даже на 14-е сутки послеоперационного периода.

Полученные отличия в динамике восстановления нутритивного статуса у пациентов с гладким течением послеоперационного периода нашли отражение в сроках

Таблица 1. Характер осложнений, развившихся к 3-м суткам после операции, в основной и контрольной группах пациентов

Осложнение	Контрольная группа ($n = 30$)	Основная группа ($n = 32$)
Нозокомиальная пневмония	5	2
Послеоперационный панкреатит	2	2
Несостоятельность культи двенадцатиперстной кишки	1	1
Всего	8	5

выписки больных из стационара. Была проведена оценка продолжительности послеоперационного койко-дня у пациентов контрольной группы с сохраненным еюнальным доступом, больных контрольной группы, удаливших зонд ЗЖКК № 24, и пациентов основной группы. Наиболее короткий период нахождения в стационаре после лапаротомии зафиксирован у пациентов основной группы — 12 ± 1 койко-день. Проведение полноценного энтерального питания посредством катетерной микроэнтеростомы в течение первых 9 сут послеоперационного периода позволило максимально сократить сроки госпитализации. Продолжительность послеоперационного койко-дня у пациентов контрольной группы с сохраненным еюнальным доступом составила 16 ± 2 койко-дня. У данной категории больных еюнальное введение нутрицевтиков лишь в первые 5 сут после лапаротомии существенно увеличило послеоперационный период. Полученные различия койко-дня в основной и контрольной группах пациентов статистически достоверны ($p < 0,05$). Наиболее длительный период послеоперационной реабилитации в условиях стационара нами получен среди больных контрольной группы с потерянным еюнальным доступом — 20 ± 2 койко-дня. Невозможность проведения полноценной нутритивной поддержки привело к значительному превышению послеоперационного койко-дня в сравнении с пациентами основной группы ($p < 0,01$).

Данные, представленные в табл. 1, наглядно отображают тот факт, что у больных контрольной группы нозокомиальная пневмония была зафиксирована в 2,5 раза чаще, чем в основной. Логично предположить, что такое отличие обусловлено двумя факторами. С одной стороны, диаметр зонда ЗЖКК № 24 значительно превосходит диаметр ЗДС № 16. С другой стороны, как указано выше, наличие независимого еюнального доступа в основной группе пациентов позволяло отказаться от непрерывного дренирования культи желудка. Таким образом, ведущим фактором снижения числа нозокомиальных пневмоний в основной группе больных, безусловно, следует считать использование превентивной катетерной микроэнтеростомы.

Клинические, лабораторные и ультразвуковые признаки послеоперационного панкреатита были за-

фиксированы к 3-м суткам после лапаротомии у 2 пациентов контрольной и 2 пациентов основной группы (см. табл. 1). Хорошо известно, что патогенез данного послеоперационного осложнения требует исключения перорального приема пищи в течение не менее 5 сут. В свою очередь, у всех пациентов с несостоятельностью культи двенадцатиперстной кишки (по одному больному в каждой группе) данный вид осложнения сопровождали явления отграниченного перитонита с адекватным истечением дуоденального содержимого по дренажу из подпеченочного пространства. Отграничение воспалительного процесса от брюшной полости позволило избежать санационных релапаротомий. Для предотвращения стимуляции выделения желчи и панкреатического сока у данной категории пациентов в течение всего периода функционирования наружного свища пероральный прием пищи также не проводили.

Принцип ограничения приема пищи через рот у пациентов с послеоперационным панкреатитом и несостоятельностью культи двенадцатиперстной кишки был легко реализован у пациентов основной группы. Нутритивную поддержку осуществляли путем энтерального введения питательных веществ через катетерную микроэнтеростому. В свою очередь, в контрольной группе больных возможности длительного сохранения еюнального доступа посредством зонда ЗЖКК № 24 не было в связи с крайне негативными эмоциями пациентов, требовавшими его удаления. Заведение тонкого назоеюнального зонда посредством эндоскопа у данной категории больных осуществляли на 10-е сутки после операции, потому что на более ранних этапах при данной манипуляции крайне высок риск развития несостоятельности гастроэнтероанастомоза. Таким образом, всем пациентам контрольной группы с послеоперационными осложнениями с 5-х по 10-е сутки после операции проводили только парентеральное питание.

Разные возможности средств обеспечения энтерального питания у больных контрольной и основной групп в условиях осложненного послеоперационного периода ключевым образом меняют стратегию нутритивной поддержки. В табл. 3 отражено влияние данно-

Таблица 2. Динамика уровня преальбумина в контрольной и основной группах больных с гладким течением послеоперационного периода ($n = 49$)

Срок после операции, сут	Уровень преальбумина, мг/л		
	контрольная группа с сохраненным еюнальным зондом ($n = 13$)	контрольная группа с удаленным еюнальным зондом ($n = 9$)	основная группа ($n = 27$)
1-е	59 ± 6	56 ± 8	54 ± 7
3-е	42 ± 4	41 ± 3	43 ± 5
5-е	68 ± 7	54 ± 7	65 ± 5
7-е	74 ± 9	59 ± 9	98 ± 6
10-е	88 ± 8	71 ± 5	153 ± 26
14-е	115 ± 12	94 ± 10	235 ± 39

Таблица 3. Динамика уровня преальбумина в контрольной и основной группах больных с осложненным течением послеоперационного периода ($n = 13$)

Срок после операции, сут	Уровень преальбумина, мг/л	
	контрольная группа ($n = 8$)	основная группа ($n = 5$)
1-е	58 ± 6	55 ± 7
3-е	38 ± 4	40 ± 5
5-е	53 ± 7	55 ± 5
7-е	59 ± 9	78 ± 6
10-е	74 ± 8	97 ± 16
14-е	86 ± 12	147 ± 28

го фактора на нутритивный статус пациентов исходя из уровня преальбумина. Динамика данного показателя у пациентов с послеоперационными осложнениями в первые 5 сут после лапаротомии свидетельствует об отсутствии влияния на нутритивный статус пациентов обеих групп средств доставки энтерального питания в тощую кишку. Однако уже с 7-х и до 14-х суток послеоперационного периода получено статистически достоверное отличие уровня преальбумина в контрольной и основной группах пациентов ($p < 0,05$).

Согласно представленным данным (см. табл. 3), проведение энтерального питания посредством катетерной микроэнтеростомы в условиях осложненного течения послеоперационного периода позволило нормализовать нутритивный статус пациентов основной группы к 14-м суткам после лапаротомии. В свою очередь, в контрольной группе больных вынужденный переход на преимущественно парентеральное питание в период с 5-х по 10-е сутки после лапаротомии привело к дефициту висцерального пула белков. Этот дефицит не был скомпенсирован вплоть до 14-х суток после операции.

Нами установлено, что использование превентивной катетерной микроэнтеростомии в условиях осложненного течения послеоперационного периода после резекции желудка оказывает влияние на сроки нахождения в стационаре. Продолжительность послеоперационного периода у пациентов контрольной группы в случае развития нозокомиальной пневмонии, послеоперационного панкреатита либо несостоятельности культи двенадцатиперстной кишки составила 30 ± 4 койко-дня, в то время как аналогичный показатель в основной группе больных был равен 21 ± 3 койко-дня. Таким образом, использование чрескожной катетерной микроэнтеростомы в условиях осложненного течения послеоперационного периода статистически достоверно снижает продолжительность послеоперационного койко-дня ($p < 0,05$).

Выводы

Раннее энтеральное питание пациентов посредством превентивной катетерной микроэнтеростомии позволяет проводить адекватную нутритивную под-

держку и коррекцию метаболических нарушений в послеоперационном периоде, сокращает число послеоперационных осложнений и улучшает результаты лечения пациентов, перенесших резекцию желудка.

Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Профилактика, диагностика и лечение заболеваний, связанных с нарушением кровообращения и гипоксией» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.

Литература

1. Грищенко Е.Б. Рекомендации ESPEN по энтеральному питанию в хирургии и трансплантологии // Consilium Medicum. 2010. №1. С.47–52.
2. Braunschweig C.L., Levy P., Sheean P.M., Wang X. Enteral compared with parenteral nutrition: a meta-analysis // Am. J. Clin. Nutr. 2001. №74. С.534–542.
3. Ермолов А.С., Попова Т.С., Пахомова Г.В., Утешев Н.С. Синдром кишечной недостаточности в неотложной абдоминальной хирургии. М.: МедЭксперт-Пресс, 2005. 460 с.
4. Луфт В.М. Современные возможности нутритивной поддержки больных в интенсивной медицине // Вестн. анестезиол. и реаниматол. 2010. №5. С.42–51.
5. Бутров А.В., Шестопалов А.Е., Борисов А.Ю. и др. Нутритивная поддержка при остром деструктивном панкреатите // Вестн. РУДН. Сер. Мед. 2006. №2. С.166–171.
6. Overhagen H. van, Schipper J., Lee M.J. Interventional Radiology in the GI Tract. Percutaneous Jejunostomy // Semin Intervent Radiol. 2004. №3. С.199–204.
7. Rasmussen H.H., Holst M., Kondrup J. Measuring nutritional risk in hospitals // Clin Epidemiol. 2010. №2. С.209–216.
8. Чучалин А.Г., Гельфанд Б.Р. и др. Нозокомиальная пневмония у взрослых. Российские национальные рекомендации. М.: ООО «Компания Боргес», 2009. 91 с.

Информация об авторах:

Аронов Леонид Семенович, главный врач Городской клинической больницы № 13
Адрес: 115280, Москва, ул. Велозаводская, 1/1
Телефон: (495) 674-5022

Тюнян Армен Агабекович, ассистент кафедры общей хирургии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 674-7548
E-mail: alkaton@mail.ru

Клиническое значение исследования содержания естественных аутоантител в сыворотке крови при преэклампсии

О.В.Макаров, Ю.А.Богатырев, Н.А.Осипова

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Макаров)

Целью данной работы было определение клинической значимости исследования ряда естественных аутоантител в сыворотке крови для достоверной диагностики преэклампсии, а также дифференциальной диагностики преэклампсии и хронической артериальной гипертензии. Обследованы 76 пациенток, в числе которых 28 женщин с преэклампсией, 26 — с хронической артериальной гипертензией и 22 здоровых беременных. У всех пациенток определяли содержание аутоантител класса IgG к двуспиральной ДНК, двум антигенам мембран тромбоцитов (TrM-001-15, TrM-015-12), двум антигенам почек (KiM-05-300, KiS-07-120) и антигену митохондрий печени (HMMR), используя иммуноферментный анализ. Предложен алгоритм интерпретации результатов иммуноферментного анализа при диагностике преэклампсии. Доказана высокая диагностическая ценность предлагаемого метода.

Ключевые слова: преэклампсия, аутоантитела при преэклампсии, дифференциальный диагноз преэклампсии и хронической артериальной гипертензии, аномальное снижение продукции аутоантител

Clinical significance of studying natural autoantibodies' content in blood serum at preeclampsia

O.V.Makarov, Yu.A.Bogatyrev, N.A.Osipova

The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Obstetrics and Gynaecology № 1 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Makarov)

The aim of the study was to determine the clinical significance of studying a number of autoantibodies in blood serum to detect preeclampsia as well as to carry out differential preeclampsia and arterial hypertension diagnosis. Among 76 examined women there were 28 patients with detected preeclampsia, 26 with arterial hypertension and 22 healthy pregnant women. In all patients there was determined the content of IgG autoantibodies against double-stranded DNA, two platelet membrane antigens (TrM-001-15, TrM-015-12), two kidney antigens (KiM-05-300, KiS-07-120) and antigen liver mitochondria (HMMR) by enzyme-multiplied immunoassay. The algorithm to interpret enzyme-multiplied immunoassay results for preeclampsia diagnosis was put forward. There was proved the high diagnostic value of the method.

Key words: preeclampsia, autoantibodies at preeclampsia, preeclampsia and arterial hypertension differential diagnosis, abnormal depletion of antibodies output

Несмотря на усовершенствование методов диагностики и лечения, преэклампсия по-прежнему остается актуальной проблемой в акушерстве. В нашей стране в структуре материнской смертности преэклампсия занимает 4-е место после экстрагенитальных заболеваний, акушерской эмболии и других причин акушерской смерти и составляет 12,2% [1].

Перинатальная смертность при преэклампсии превышает средние показатели в 5–7 раз [2]. Таким образом, преэклампсия является тяжелым осложнением беременности, существенно повышает младенческую и материнскую заболеваемость и смертность.

Современные подходы к лечению преэклампсии сводятся к стабилизации состояния плода и родоразрешению. Сложность дифференциальной диагностики преэклампсии зачастую приводит к необоснованному назначению терапии, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровотока и синдрому задержки роста плода [3]. Существенным препятствием на пути к разработке эффективных методов заблаговременного прогнозирования этого заболевания является недостаточная изученность его патогенеза.

Для корреспонденции:

Осипова Наталья Андреевна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117437, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 318-3980, 318-0136

E-mail: twinmama@yandex.ru

Статья поступила 05.03.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

В последние годы получили распространение представления об иммунообусловленном патогенезе преэклампсии [4].

В 1980–90-х гг. были получены экспериментальные подтверждения присутствия в кровотоке здоровых лиц различных по антигенной направленности естественных (физиологических) аутоантител (ААТ) к рецепторам, белкам цитоскелета, многим ферментам, ДНК, компонентам межклеточного матрикса, гистонам, маркерам главного комплекса гистосовместимости и другим эндогенным соединениям [5, 6]. В отличие от цитокинов естественные аутоантитела являются стабильными молекулами и содержатся в крови в относительно высоких концентрациях. Важно, что сывороточное содержание ААТ одной и той же антигенной специфичности примерно одинаково у здоровых лиц, но меняется при развитии множества серьезных болезней, что можно использовать в диагностических и прогностических целях. При этом лабораторным свидетельством наличия патологии служит как патологически высокий, так и низкий уровень аутоантител в сыворотке крови [6–8]. Можно полагать, что анализ изменения уровней ААТ к антигенам клеток, тканей и органов, представляющих различные звенья патогенеза преэклампсии (тромбоцитарные, сосудистые, почечные), позволит получать клинически важную информацию.

Антитела (АТ) к ДНК — это естественные антитела, и их изменение служит универсальным признаком перемен в активности иммунной системы [6, 9]. Они участвуют в клиренсе организма от продуктов естественного отмирания клеток в ходе апоптоза, нормальные уровни их сывороточного содержания поддерживаются в узких диапазонах. Продукция таких АТ значительно возрастает при активации процессов апоптоза, при любых инфекционно-воспалительных процессах и существенно снижается при поликлональной иммуносупрессии. Изменения в сывороточном содержании АТ к антигенам мембран тромбоцитов (Тгм-0,01, Тгм-0,15) способствуют выявлению аутоиммунных тромбоцитопатий (хроническая иммунная тромбоцитопеническая пурпура, системная красная волчанка) [6, 10].

По изменению сывороточного содержания ААТ к ряду растворимых и мембранных антигенов почек (KiM-05-300, KiS-07-120) можно судить о наличии (либо начале) почечных заболеваний и проводить мониторинг их динамики. Изменения в содержании АТ к цитоплазматическому антигену KiS-07-120 свидетельствуют о функциональных изменениях в ткани почек. Напротив, стойкие изменения в содержании АТ к мембранным белкам KiM-05-300 и KiM-05-40 могут служить индикатором деструктивных процессов в почках, таких как пиелонефрит, синдром Гудпасчера, аутоиммунный гломерулонефрит [6, 11].

О деструктивных процессах в печени можно судить по аномальному уровню АТ к мембранным белкам митохондрий НММР (при первичном билиарном циррозе присутствуют в высоком титре) [11].

Соответствующие тесты давно используют в различных областях медицины, в частности, в диагностике заболеваний щитовидной железы и сахарного диабета 1 типа [12], а также для диагностики и прогноза соматических, преимущественно аутоиммунных болезней [8, 10]. Большое количество исследований посвящено роли антифосфолипидных АТ при заболеваниях человека. Эти АТ служат серологическим маркером симптомокомплекса, включающего венозные и/или артериальные тромбозы, различные формы акушерской патологии (в первую очередь привычное невынашивание беременности), тромбоцитопению, а также другие разнообразные неврологические, кожные, сердечно-сосудистые, гематологические нарушения [13]. Более 20 лет исследования сывороточного содержания многих ААТ используют и в акушерстве для прогноза развития беременности [14–16]. В последнее время появились работы, направленные на изучение прогностической ценности изменений содержания ряда ААТ при беременности, осложненной преэклампсией [14]. Тем не менее пока этот вопрос недостаточно изучен и требует дополнительных исследований.

Целью работы было определение клинической значимости исследования ряда естественных аутоантител для достоверной своевременной диагностики преэклампсии, а также дифференциальной диагностики преэклампсии и хронической артериальной гипертензии.

Пациенты и методы

Были обследованы 76 беременных. Из них основную группу составили 54 пациентки: 18 беременных с преэклампсией (1-я подгруппа) и 36 женщин с хронической артериальной гипертензией (2-я подгруппа). В процессе наблюдения 2-ю подгруппу разделили на две: 2А (26 пациенток) — в течение беременности преэклампсии не отмечено, 2Б (10 пациенток) — осложнение беременности преэклампсией на разных сроках гестации. Итого, за время наблюдения осложнение беременности преэклампсией было у 28 пациенток. Группу контроля составили 22 здоровые беременные. Во всех группах исследование проводили на сроке 22–40 нед.

Значимых различий в данных соматического анамнеза в 1-й и 2-й подгруппах не выявлено. В гинекологическом анамнезе хронические воспалительные гинекологические заболевания с большей частотой отмечены у пациенток, беременность которых была осложнена преэклампсией. Большинство обследованных были первобеременными первородящими. Среди повторнородящих предыдущая беременность была осложнена преэклампсией у 12 пациенток. У всех повторнородящих предыдущая беременность закончилась рождением живых детей.

Из осложнений данной беременности в 1-й и 2-й подгруппах можно отметить угрозу прерывания беременности, анемию, хроническую плацентарную недо-

Таблица 1. Течение и исходы беременности у пациенток основной группы

Осложнения беременности и исходы	Подгруппы					
	1		2А		2Б	
	(n = 18)		(n = 26)		(n = 10)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Угроза прерывания	5	27,8	8	30,8	1	10
Анемия	6	33,3	3	11,5	3	30
Плацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода	8	44,4	1	3,8	5	50
Ранний токсикоз	–	–	2	7,7	–	–
Преэклампсия	18	100	–	–	10	100
Своевременные роды	14	77,8	23	88,5	5	50
Преждевременные роды	4	22,2	3	11,5	5	50
Оперативные роды	8	44,4	3	11,5	5	50

Таблица 2. Показатели коагулограммы у пациенток исследуемых групп

Показатели	Основная группа, абс. (%)			Контрольная группа, абс. (%)
	1-я подгруппа	2Б подгруппа	2А подгруппа	
Фибриноген:				
4,0–5,5 г/л	8 (44,4)	2 (20)	7 (26,9)	22 (100)
>5,5 г/л	10 (55,6)	8 (80)	19 (73,1)	–
Ретракция сгустка:				
2,0–2,4 с	10 (55,6)	6 (60)	–	–
2,5–3,0 с	8 (44,4)	4 (40)	26 (100)	22 (100)
Растворимые фибрин-мономерные комплексы:				
отсутствуют	10 (55,6)	5 (50)	23 (88,5)	22 (100)
выявлены	8 (44,4)	5 (50)	3 (11,5)	–

статочность в сочетании с синдромом задержки роста плода, ранний токсикоз. Данные о течении и исходе беременности представлены в табл. 1.

Процентное соотношение оперативных и естественных родов у пациенток с преэклампсией значительно выше, чем в подгруппе с хронической артериальной гипертензией и в контрольной группе. Также обращает на себя внимание, что у пациенток с преэклампсией (подгруппы 1 и 2Б) чаще отмечены анемия и плацентарная недостаточность, беременность чаще заканчивается преждевременными родами.

Характерно, что в отличие от беременных подгруппы 2А и контрольной группы у пациенток в подгруппах 1 и 2Б были выявлены реологические нарушения — увеличение содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов, укорочение времени ретракции сгустка (табл. 2).

Протеинурию наблюдали только у пациенток с преэклампсией. При этом протеинурия до 1,5 г/л отмечена у 72,2% больных в подгруппе 1 и у 70% — в подгруппе 2Б, а выраженная протеинурия (более 1,5 г/л) — у 27,8 и 30% в подгруппах 1 и 2Б соответственно.

Характерно, что у всех беременных контрольной группы результаты лабораторных исследований крови и мочи были в пределах нормы.

У всех женщин беременность закончилась рождением живых детей в сроке гестации от 35 до 41 нед. Оценка по шкале Апгар составила от 5 до 9 баллов. Через естественные родовые пути были родоразре-

шены 10 беременных из подгруппы 1, 28 — из подгруппы 2 и 20 женщин — из контрольной группы. Путем кесарева сечения завершены беременности у 8 женщин из подгруппы 1, у 8 женщин из подгруппы 2 и у 2 пациенток контрольной группы. Показанием к проведению кесарева сечения служили нарастание тяжести преэклампсии, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, наличие рубца на матке, ухудшение состояния плода, тазовое предлежание, заключения специалистов. Все новорожденные были выписаны домой в удовлетворительном состоянии.

У всех беременных с помощью тест-наборов (ЭЛИ-Тесты производства МИЦ «Иммункулус», Москва) определяли сывороточное содержание ААТ класса IgG к двуспиральной ДНК (дс-ДНК), двум антигенам мембран тромбоцитов (ТгМ-001-15, ТгМ-015-12), двум антигенам почек (КiМ-05-300, КiS-07-120) и антигену митохондрий печени (НММР), используя иммуноферментный анализ (ИФА) [6].

Определение уровня аутоантител в биопробе проводили спектрофотометрически в единицах оптической плотности и сопоставляли в процентах с реакцией контрольной сыворотки. Реакция контрольной сыворотки (КС) — показатель нормальной иммунореактивности. Реакция КС (в единицах оптической плотности) представляет собой среднее значение диапазона нормы (ДН) — уровня аутоантител, характерного для здорового человека. Абсолютные количе-

ственные значения КС в единицах оптической плотности могут отличаться для разных классов исследуемых аутоантител. Однако относительные процентные соотношения содержания аутоантител в исследуемой и в контрольной сыворотках в норме представлены в ДН 80–120% реакции КС [6]. Регистрацию результатов цветных реакций ИФА проводили с помощью фотометра вертикального сканирования (ИФА-ридера), интенсивность реакции была прямо пропорциональна количеству специфических антител в биопробе.

Обработку полученных данных проводили с помощью критерия Стьюдента–Фишера для небольшого числа наблюдений. Расчеты выполняли с использованием пакета программ «Microsoft Office» и «Statistica v. 7.0».

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено, что у 71,6% обследованных беременных подгруппы 1 и у 69,4% пациенток подгруппы 2Б отмечено существенное снижение сывороточного содержания всех определяемых ААТ, тогда как у 73% беременных контрольной группы и 55% пациенток группы 2А содержание ААТ было в пределах нормальных значений. Результаты представлены в табл. 3.

Таким образом, отмечена достоверная разница в количественном сывороточном содержании ААТ в подгруппах 1 и 2Б по сравнению с подгруппой 2А и контролем. Наиболее показательным исследованием ААТ к дс-ДНК, Trm-0,01, Kis-07-120.

Во всех случаях с преэклампсией прослежена следующая закономерность. Сывороточное содержание ААТ составило 55% и менее реакции КС по меньшей мере для трех из исследованных видов аутоантител, один из которых относился к ААТ почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК. После определения содержания аутоантител класса IgG к двуспиральной ДНК, антигенам мембран тромбоцитов (TrM-001-15, TrM-015-12), антигенам почечной ткани (KiM-05-300, KiS-07-120) и антигену митохондрий печени (HMMP) для каждого вида исследованных антител в проведенном исследовании вычисляли показатель К по формуле $K = N/N_K$, где N — содержание аутоантител

в опытной сыворотке; N_K — содержание аутоантител в контрольной сыворотке, соответствующее нормальной иммунореактивности. При показателе К меньшем или равном 0,55 по меньшей мере для трех видов аутоантител, один из которых относится к антителам к почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК, диагностируют преэклампсию у беременной.

Обращает на себя внимание дисбаланс в содержании ААТ в подгруппах 2А и 2Б. В то время как для 1-й подгруппы характерно равномерное снижение содержания всех исследуемых ААТ, при сочетанных формах преэклампсии и в подгруппе 2А отмечена тенденция к повышению уровня тромбоцитарных аутоантител (см. табл. 3). Заслуживает внимания и тот факт, что выраженное снижение ААТ к HMMP отмечено только у пациенток с тяжелыми формами преэклампсии. Кроме того, при сравнении подгрупп 2А и 2Б выявлено снижение маркеров почечной патологии (55% и менее) у всех пациенток подгруппы 2Б.

Таким образом, наиболее характерной особенностью беременных с преэклампсией является выраженное снижение сывороточного содержания всех исследованных ААТ, то есть поликлональная иммуносупрессия, причем особенно низким было содержание ААТ к ДНК, белкам Trm-0,01 и Kis-07-120. Достоверной разницы в полученных результатах при сравнении подгруппы 2А с контрольной группой не отмечено (см. табл. 3).

Достоверным лабораторным признаком при диагностике преэклампсии можно считать снижение сывороточного содержания ААТ до 55% и менее (коэффициент К равен 0,55 и менее) по меньшей мере для трех видов аутоантител, один из которых относится к антителам к почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК.

Для преэклампсии без отягощенного преморбидного фона характерно равномерное снижение содержания всех исследуемых ААТ. При сочетанных формах преэклампсии и у пациенток с хронической артериальной гипертензией напротив отмечен некоторый дисбаланс отдельных показателей (уровень тромбоцитарных антител может быть в норме, близок к норме или повышен). Возможно, это объясняется тем, что в условиях

Таблица 3. Содержание аутоантител в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп

Содержание аутоантител, %	Основная группа			Контрольная группа
	1-я подгруппа	2Б подгруппа	2А подгруппа	
дс-ДНК	44,4 ± 2,1*	51,98 ± 2,1*	74,0 ± 3,6	75,73 ± 4,2
Trm-0,01	71,2 ± 3,1*	78,24 ± 3,1*	91,8 ± 3,6	97,18 ± 4,2
Trm-0,15	79,4 ± 7,0	91,25 ± 4,3	103,0 ± 3,6	99,95 ± 5,5
Kim-05-300	73,8 ± 10,1	62,89 ± 4,5	86,1 ± 5,3	82,93 ± 3,7
Kis-07-120	60,6 ± 3,9*	63,01 ± 3,8*	76,7 ± 3,1	76,45 ± 3,9
HMMP	78,0 ± 6,3	74,52 ± 6,4	86,5 ± 4,2	96,12 ± 5,7

* — $p < 0,05$ при сравнении с показателями подгруппы 2А и контрольной группы

наличия хронической сосудистой патологии иммунная система изначально (до наступления беременности) вырабатывает соответствующие ААТ в повышенном титре. Таким образом, даже в случае иммуносупрессии сывороточное содержание тромбоцитарных ААТ остается выше уровня других исследованных ААТ.

При сравнении подгрупп с хронической артериальной гипертензией выявлено снижение маркеров почечной патологии (55% и менее) у всех пациенток с сочетанной преэклампсией, что можно использовать в целях дифференциальной диагностики.

Результаты клинико-иммунологического анализа позволяют предположить, что одним из непосредственных патогенетических факторов развития преэклампсии может служить аномальное снижение продукции многих ААТ, участвующих в механизмах клиренса, вследствие чего происходит избыточное накопление продуктов распада клеток и медленно прогрессирует хроническая интоксикация [5–7, 17]. Снижение продукции ААТ сопровождается нарушением утилизации фрагментов клеток, отмирающих в ходе физиологического апоптоза, и снижение эффективности клиренса организма от других продуктов катаболизма. Эти нарушения в свою очередь запускают каскад событий, приводящих к усилению микротромбообразования, нарушениям микроциркуляции с последующим развитием эндотелиальной дисфункции, поражением паренхиматозных органов и формированием типичной синдромальной картины преэклампсии.

Таким образом, полученные нами результаты, как и более ранние данные [14], свидетельствуют, что не только патологическое повышение продукции тех или иных аутоантител, но и их аномальное снижение может быть причиной иммунообусловленных нарушений в организме. В частности, выявление комплексного снижения многих аутоантител, в первую очередь антител к ДНК, Trm-0,01, Kis-07-120, дает возможность с высокой вероятностью диагностировать развитие преэклампсии. В свою очередь, своевременная диагностика позволяет вовремя начать профилактику внутриутробного страдания плода, снизить процент реанимационной помощи новорожденным при необходимости досрочного родоразрешения, снизить показатели перинатальной заболеваемости и смертности.

Доказана высокая диагностическая ценность предлагаемого метода. Определение содержания естественных аутоантител в сыворотке крови позволяет выделить группу риска по досрочному родоразрешению. В зависимости от уровней аутоантител можно провести дифференциальный диагноз преэклампсии и хронических гипертензивных состояний, что определяет тактику терапевтических мероприятий и прогноз в отношении дальнейшего ведения беременности.

Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Профилактика, диагности-

ка и лечение заболеваний, связанных с нарушением кровообращения и гипоксией» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.

Литература

1. Широкова В.И., Филиппов О.С., Гусева Е.В. О материнской смертности в Российской Федерации в 2009 году. Методическое письмо. М.: Минздравсоцразвития России, 2011. 40 с.
2. Серов В.Н., Маркин С.А. Критические состояния в акушерстве. М.: Медиздат, 2003. 704 с.
3. Макаров О.В., Николаев Н.Н., Волкова Е.В. Артериальная гипертензия у беременных. Только ли гестоз? Руководство для врачей. М: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 176 с.
4. Макаров О.В., Васильева З.В., Тягунова А.В. Пиелонефрит и беременность // Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии: V Поволжская науч.-практ. конф. Сб. науч. тр. Саратов, 1999. С.100–102.
5. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения): Учеб. для студ. мед. вузов. 3-е изд. СПб.: Элби-СПб, 2007. 768 с.
6. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология. М.: МИА, 2008. 198 с.
7. Полетаев А.Б., Кузьменко Л.Г. Иммуномолекулярная диагностика. М., 2008. 198 с.
8. Notkins A.L. New predictors of disease // Sci. Am. 2007. V.296(3). P.54–62.
9. Apoptosis and autoimmunity / Ed. by M.Herrmann, J.R.Kalden. Weinheim: Wiley-WCH, 2003. 387 p.
10. Полетаев А.Б., Морозов С.Г. Применение антидиотипических антител для коррекции аутоиммунных реакций к белку мозга S-100 // Бюл. экспер. биол. и мед. 1996. Т.122. №11. С.508 – 511.
11. Мальцев С.В., Полетаев А.Б., Мансурова Г.Ш. Диагностическое и прогностическое определение естественных аутоантител к почечным антигенам в развитии пиелонефрита у детей // Педиатрия. 2007. Т.86. №6. С.60–64.
12. Полетаев А.Б., Будыкина Т.С., Морозов С.Г. Аутоантитела к инсулину, инсулинзависимый сахарный диабет и диабетическая фетопатия // Сах. диабет. 2000. №4. С.23–28.
13. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром. М., 2004. 440 с.
14. Замалева Р.С., Мальцева Л.И., Черепанова Н.А. и др. Клиническое значение определения уровня регуляторных аутоантител для оценки риска развития гестоза // Практ. мед. 2009. №2. С.68–71.
15. Мальцева Л.И., Замалева Р.С., Полетаев А.Б. и др. Клиническое значение регуляторных аутоантител в развитии плацентарной недостаточности у женщин с отягощенным акушерским анамнезом // Гинекология. 2005. Т.11. №5. С.86–88.
16. Хонина Н.А., Дударева А.В., Тихонова М.А. и др. Нарушение механизмов активной иммуносупрессии при беременности, осложненной гестозом // Бюл. СО РАМН. 2003. №3. С.73–76.
17. Poletaev A.B., Stepanyuk V.L., Gershwin M.E. Integrating immunity: The immunoculus and self-reactivity // J. Autoimmun. 2008. №30. P.68–73.

Информация об авторах:

Макаров Олег Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117303, Москва, ул. Азовская, 22
Телефон: (495) 318-3980

Богатырев Юрий Анатольевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117303, Москва, ул. Азовская, 22
Телефон: (495) 318-3980
E-Mail: jabog@yandex.ru

Корреляции показателя мозгового кровотока и функций сосудистого эндотелия при атеросклерозе церебральных артерий

А.И.Федин¹, Е.П.Старых¹, А.С.Парфенов², О.П.Миронова¹, Е.К.Абдрахманова³, Е.В.Старых¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра неврологии факультета усовершенствования врачей, Москва

(зав. кафедрой — проф. А.И.Федин);

²Гематологический научный центр, Москва

(руководитель — чл.-кор. РАМН, проф. В.Г.Савченко);

³Центральная клиническая больница Свт. Алексия, Москва

(главный врач — доц. Е.Я.Богданова)

Статья посвящена изучению показателей кровотока в церебральных артериях и функции эндотелия на различных стадиях хронической ишемии мозга при церебральном атеросклерозе. Наряду с уменьшением линейной скорости кровотока, при ультразвуковом сканировании выявлены снижение вязко-эластических свойств аорты и дисфункция эндотелия в крупных мышечных артериях, что коррелирует с изменением толщины комплекса интима-медиа сонных артерий. Установлено, что наиболее чувствительным среди изучаемых параметров при атеросклерозе артерий мозга является сдвиг фаз в ходе окклюзионной пробы. Этот параметр определяется влиянием оксида азота на гладкомышечные клетки артериальной стенки крупных мышечных артерий. Возможна фармакологическая коррекция эндотелиальной дисфункции крупных сосудов мышечного типа при атеросклерозе у больных с хронической ишемией мозга.

Ключевые слова: церебральный атеросклероз, ишемия мозга, эндотелий сосудов

Correlation of cerebral blood flow and the endothelial function in atherosclerosis cerebral arteries

A.I.Fedin¹, E.P.Starykh¹, A.S.Parfenov², O.P.Mironova¹, E.K.Abdrakhmanova³, E.V.Starykh¹

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Neurology of Doctors' Improvement Faculty, Moscow

(Head of the Department — Prof. A.I.Fedin);

²Research Center of Hematology, Moscow

(Head of the Center — Corr. Member of RAMN, Prof. V.G.Savchenko);

³Central Clinical Hospital of St. Alexis, Moscow

(Head of the Hospital — Assoc. Prof. E.Ya.Bogdanova)

This article is devoted to the studying of blood flow in cerebral arteries and endothelial function at various stages of chronic cerebral ischemia in cerebral atherosclerosis. While reducing the linear velocity of blood flow, ultrasound scans showed a reduction of visco-elastic properties of the aorta and endothelial dysfunction in large muscular arteries, which correlated with the thickness of the intima-media of the carotid arteries. The data obtained show the reduction of linear blood flow velocity in ultrasonic scanning and the reduction of visco-elastic properties of the aorta, as well as endothelial dysfunction in large muscular arteries. It was found that the most sensitive among the parameters studied in atherosclerosis of the arteries of the brain is a phase shift in occlusive sample. It is determined by the influence of nitric oxide on the smooth muscle cells of the arterial wall of large muscular arteries. It is possible a pharmacological correction of endothelial dysfunction in the large vessels of muscular type of atherosclerosis in patients with chronic cerebral ischemia.

Key words: cerebral atherosclerosis, cerebral ischemia, vascular endothelium

Для корреспонденции:

Старых Евгения Петровна, аспирант кафедры неврологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117593, Москва, Литовский б-р, 1а

Телефон: (499) 400-4518

E-mail: starykh-jane@mail.ru

Статья поступила 02.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Атеросклероз — системное заболевание, поражающее артерии эластического (аорта и ее ветви) и мышечно-эластического (артерии сердца, головного мозга и др.) типов [1]. Атеросклероз является ведущей причиной заболеваемости и смертности в России, США и большинстве стран Европы [1, 2].

Главные факторы риска развития атеросклероза, такие как гиперхолестеринемия, сахарный диабет,

гипергомоцистеинемия, сопровождаются нарушением эндотелий-зависимой вазодилатации [3–6]. Эндотелий контролирует рост гладкомышечных клеток и ангиогенез, тромбообразование, фибринолиз и многие другие процессы, регулирует сосудистый тонус через освобождение сосудорасширяющих (монооксид азота, простациклин I₂, натрийуретический пептид С, кинины) и сосудосуживающих (эндотелин-1, тромбоксан А₂, ангиотензин II) факторов и модулирует сократительную активность гладкомышечных клеток. В физиологических условиях преобладает высвобождение релаксирующих факторов. В нормально функционирующем эндотелии низкие уровни монооксида азота (NO) постоянно высвобождаются для поддержания кровеносных сосудов в состоянии дилатации. При различных сосудистых заболеваниях способность эндотелиальных клеток освобождать релаксирующие факторы уменьшается, в то время как образование сосудосуживающих факторов сохраняется или увеличивается. Так формируется состояние, определяемое как дисфункция эндотелия. При этом происходят патологические изменения сосудистого тонуса (повышение общего сосудистого сопротивления и артериального давления), структуры сосудов (нарушения структурной сохранности слоев сосудистой стенки и возникновение атерогенеза), иммунологических реакций, процессов воспаления, тромбообразования, фибринолиза [1, 3, 6].

В настоящее время существуют различные методы изучения состояния сосудистого эндотелия — инвазивные методики (ангиография с внутриаартериальным введением ацетилхолина), неинвазивные (наиболее распространена ультразвуковая визуализация участка плечевой артерии до и после ее окклюзии) и оценка биохимических маркеров. Наиболее востребованы неинвазивные методы, которые позволяют непосредственно в момент обращения пациента к врачу оценить состояние эндотелия. К ним относят метод фотоплетизмографии, позволяющий проводить измерение состояния эластичности крупных проводящих артерий, состояния сосудистого тонуса мелких мышечных артерий и артериол, а также проводить оценку функции эндотелия [7, 8].

В диагностике цереброваскулярных заболеваний в настоящее время превалируют ультразвуковые методы исследования, используемые для оценки кровотока в крупных и средних сосудах головы и шеи. В частности, ультразвуковое дуплексное сканирование позволяет достоверно определять скорость движения крови по сосудам, выявлять участки сужения (стеноза просвета) артерий головного мозга, участки с нарушенным кровотоком. Этот метод — один из самых достоверных в диагностике атеросклероза сосудов головного мозга. В свою очередь, одним из наиболее информативных ранних маркеров атеросклероза является увеличение толщины комплекса интима-медиа (КИМ) в общей сонной артерии [9–11].

Целью настоящего исследования было изучение корреляционных связей между показателями крово-

тока в церебральных артериях и функцией эндотелия при атеросклерозе сосудов головного мозга, а также возможности фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Пациенты и методы

Были обследованы 67 человек в возрасте от 30 до 80 лет. В основную группу вошли 52 пациента с хронической ишемией мозга (ХИМ): у 10 из них — I стадия заболевания, у 15 — II стадия и у 27 человек — III стадия. Контрольную группу составили 15 человек (здоровые добровольцы).

В исследование были включены пациенты, не имеющие острого нарушения мозгового кровообращения в анамнезе или перенесшие инсульт более чем за 1 год до проводимого исследования.

Критерии исключения пациентов из исследования: перенесенный инсульт менее, чем за 1 год до настоящего исследования; ХИМ в стадии декомпенсации; сахарный диабет; заболевания крови; васкулиты; признаки экстравазальной компрессии вертебральных артерий и вен; наличие острых воспалительных заболеваний на момент исследования; прием нитратосодержащих и других препаратов, влияющих на функцию эндотелия и тонус артерий.

Всем пациентам проводили неврологическое обследование, контроль уровня АД, исследование крови (определение уровня общего холестерина, триглицеридов, глюкозы), МРТ головного мозга (Tomikon S50, Bruker), ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС) брахиоцефальных артерий с определением линейной скорости кровотока (ЛСК) и толщины КИМ (ультразвуковая система GE Medical Systems VIVID 7). Оценку функции сосудистого эндотелия осуществляли с использованием фотоплетизмографического метода неинвазивным диагностическим комплексом «АнгиоСкан-01» («Фитон»). Проводили контурный анализ пульсовой волны объема и пробу с реактивной гиперемией (окклюзионная проба). Исследование выполняли в утренние часы, строго натощак, перед процедурой не разрешали курить и употреблять кофе. При проведении исследования пациенты находились в положении лежа на спине. Датчики аппарата «АнгиоСкан-01» устанавливали на концевых фалангах указательных пальцев рук, манжету манометра располагали на правом предплечье на 2–3 см выше локтевого сгиба.

Первоначально на аппарате «АнгиоСкан-01» проводили автоматизированный контурный анализ пульсовой волны, оценивали частоту пульса (ЧП), индекс жесткости (SI, отражает вязко-эластичные свойства крупных проводящих артерий, аорты), индекс отражения (RI, показатель состояния тонуса мелких резистивных артерий), индекс аугментации, нормализованный для ЧП равной 75 в минуту (AIp75, определяется жесткостью стенки аорты), центральное систолическое давление (SPa, величина систолического

давления в проксимальном отделе аорты). Затем в целях оценки функции эндотелия проводили окклюзионную пробу. В ходе нее анализировали изменение амплитуды пульсовой волны — индекс окклюзии, отражающий влияние синтезированного в ходе теста монооксида азота на гладкие мышцы артериальной стенки мелких резистивных артерий и артериол. А также вычисляли запаздывание пульсовой волны на участке дистальнее места окклюзии — сдвиг фаз, определяемый влиянием NO на гладкомышечные клетки артериальной стенки крупных мышечных артерий.

После проведенного комплексного обследования по описанной выше схеме десяти больным с III стадией ХИМ был назначен курс лечения депротеинизированным гемодериватом крови телят по 1000 мг/сут внутривенно капельно в течение 10 дней. После этого пациентам повторно проводили УЗДС и изучали функции эндотелия.

Данные анализировали с использованием программы «Statistica v. 6.0».

Результаты исследования и их обсуждение

Основные исследуемые параметры представлены в табл. 1. При оценке показателей крови у пациентов сравниваемых групп уровень холестерина и триглицеридов оказался ниже в контрольной группе и составил $4,9 \pm 0,3$ и $0,6 \pm 0,0$ ммоль/л соответственно. У пациентов с I, II и III стадиями ХИМ уровень холестерина равнялся $6,0 \pm 0,4$, $6,1 \pm 0,4$ и $6,0 \pm 0,6$ ммоль/л, а триглицеридов — $2,4 \pm 1,0$, $2,7 \pm 0,7$ и $2,6 \pm 0,2$ ммоль/л

соответственно. Уровень триглицеридов крови достоверно выше ($p < 0,001$) у пациентов с III стадией ишемии мозга по сравнению с контрольной группой.

Средние показатели уровня глюкозы крови в исследуемых группах были в пределах референсных значений и существенно не различались ($p > 0,05$).

У всех пациентов оценивали максимальную ЛСК по общим сонным артериям (ОСА), внутренним сонным артериям (ВСА) и средним мозговым артериям (СМА). В контрольной группе эти показатели составили $63,7 \pm 1,1$, $62,7 \pm 0,9$ и $94,5 \pm 0,7$ см/с соответственно и были в пределах нормы. В группе пациентов с I стадией ХИМ данные показатели от контрольной группы отличались незначительно — $60,0 \pm 2,5$, $60,0 \pm 2,1$ и $94,0 \pm 1,9$ см/с соответственно. Снижение ЛСК по ОСА, ВСА, СМА наблюдали у больных со II стадией ХИМ — $50,3 \pm 0,5$, $51,3 \pm 0,3$, $70,0 \pm 1,5$ см/с и с III стадией — $34,8 \pm 3,1$, $33,7 \pm 2,4$ и $54,1 \pm 1,1$ см/с. При III стадии ХИМ показатели ЛСК по всем сосудам были ниже нормальных или соответствовали нижней границе нормы. Линейная скорость кровотока по ОСА, ВСА и СМА у больных со II и III стадиями ХИМ была достоверно ниже ($p < 0,001$) по сравнению с испытуемыми контрольной группы.

При УЗДС также выявили изменение толщины КИМ сонных артерий: $0,7 \pm 0,0$ мм — в контрольной группе, $0,7 \pm 0,1$, $1,0 \pm 0,1$ и $1,2 \pm 0,1$ мм — у больных с I, II и III стадиями ишемии мозга соответственно. Увеличение индекса КИМ сонных артерий у больных с III стадией ХИМ достоверно различается ($p < 0,001$) с показателем контрольной группы.

Таблица 1. Показатели основных параметров в основной и контрольной группах

Показатель	Контрольная группа	Группа с хронической ишемией мозга		
		I стадия	II стадия	III стадия
Холестерин, ммоль/л	$4,9 \pm 0,3$	$6,0 \pm 0,4$	$6,1 \pm 0,4^*$	$6,0 \pm 0,6$
Триглицериды, ммоль/л	$0,6 \pm 0,0$	$2,4 \pm 1,0$	$2,7 \pm 0,7^*$	$2,6 \pm 0,2^{***}$
Глюкоза, ммоль/л	$5,1 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,4$	$5,4 \pm 0,3$
SI, мс	$6,9 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,5$	$7,9 \pm 0,2^{**}$	$8,1 \pm 0,3^{**}$
RI, %	$28,8 \pm 3,6$	$21,7 \pm 1,5$	$26,7 \pm 3,2$	$35,6 \pm 6,3$
AIp75, %	$-12,8 \pm 2,8$	$3,0 \pm 6,7$	$15,6 \pm 1,9^{***}$	$23,1 \pm 2,7^{***}$
SPa, мм рт.ст.	$113,0 \pm 3,7$	$124,5 \pm 7,6$	$125,3 \pm 2,6^*$	$137,9 \pm 5,1^{***}$
Индекс окклюзии	$2,6 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2^{**}$
Сдвиг фаз, мс	$11,0 \pm 0,7$	$8,7 \pm 1,2$	$6,4 \pm 0,7^{***}$	$4,5 \pm 0,9^{***}$
ЛСК по ОСА, см/с	$63,7 \pm 1,1$	$60,0 \pm 2,5$	$50,3 \pm 0,5^{***}$	$34,8 \pm 3,1^{***}$
ЛСК по ВСА, см/с	$62,7 \pm 0,9$	$60,0 \pm 2,1$	$51,3 \pm 0,3^{***}$	$33,7 \pm 2,4^{***}$
ЛСК по СМА, см/с	$94,5 \pm 0,7$	$94,0 \pm 1,9$	$70,0 \pm 1,5^{***}$	$54,1 \pm 1,1^{***}$
Толщина КИМ, мм	$0,7 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1^*$	$1,2 \pm 0,1^{***}$

Здесь и в табл. 2: SI — индекс жесткости; RI — индекс отражения; AIp75 — индекс аугментации при ЧП 75 в минуту; SPa — центральное систолическое давление; ЛСК — линейная скорость кровотока; ОСА — общая сонная артерия; ВСА — внутренняя сонная артерия; СМА — средняя мозговая артерия; КИМ — комплекс интима-медиа. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой

У 2 из 15 пациентов со II стадией ХИМ выявлены атеросклеротические бляшки, суживающие просвет до 30% диаметра сосуда. У 8 из 27 пациентов с III стадией ХИМ обнаружен стенозирующий атеросклероз церебральных артерий различной степени выраженности с максимальными значениями до 75% их диаметра.

При определении показателей на «АнгиоСкан-01» (см. табл. 1) получены следующие результаты контурного анализа пульсовой волны. Индекс жесткости различался во всех четырех рассматриваемых группах, причем ниже был в контрольной — $6,9 \pm 0,2$ мс, что соответствовало норме у здоровых людей [7]. У больных с I, II и III стадиями ХИМ он составлял $7,6 \pm 0,5$, $7,9 \pm 0,2$ и $8,1 \pm 0,3$ мс соответственно. У пациентов с III стадией ХИМ этот показатель соответствовал верхней границе нормы здоровых лиц. Такая же тенденция отмечена и по индексу аугментации при ЧП 75 в минуту. В контрольной группе он составил — $12,8 \pm 2,8\%$, у больных с I, II и III стадиями ХИМ — $3,0 \pm 6,7$, $15,6 \pm 1,9$ и $23,1 \pm 2,7\%$ соответственно. Несмотря на увеличение индекса аугментации с нарастанием стадии ХИМ, этот показатель не превышал нормальных значений данной возрастной группы. По индексу аугментации при ЧП 75 в минуту выявлены достоверные отличия значений у пациентов со II и III стадиями ХИМ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$).

Четких закономерностей изменений индекса отражения в зависимости от стадии ишемии мозга выявлено не было. В контрольной группе этот показатель составил $28,8 \pm 3,6\%$, у пациентов с I и II стадиями ХИМ — $21,7 \pm 1,5$ и $26,7 \pm 3,2\%$ соответственно. У пациентов с III стадией ишемии мозга индекс отражения превысил нормальные показатели и был равен $35,6 \pm 6,3\%$.

Центральное систолическое давление было выше у больных с III стадией ишемии мозга и составляло $137,9 \pm 5,1$ мм рт.ст., у пациентов с I и II стадиями — $124,5 \pm 7,6$ и $125,3 \pm 2,6$ мм рт.ст. Наиболее низкие значения наблюдали в контрольной группе — $113,0 \pm 3,7$ мм рт.ст.

В ходе окклюзионной пробы сдвиг фаз составил $11,0 \pm 0,7$ мс в контрольной группе, что соответствует нормальным значениям здоровых лиц. Во всех трех группах пациентов с атеросклерозом этот показатель был ниже нормы, и по мере прогрессирования атеросклероза отмечали его дальнейшее понижение. У больных с I, II и III стадиями ХИМ сдвиг фаз был равен $8,7 \pm 1,2$, $6,4 \pm 0,7$ и $4,5 \pm 0,9$ мс соответственно. Достоверные отличия по данному показателю выявлены у пациентов с II и III стадиями ХИМ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$).

Индекс окклюзии в контрольной группе и в группе больных со II стадией ХИМ был в пределах нормы для здоровых лиц ($2,6 \pm 0,2$ и $2,4 \pm 0,2$ соответственно) и ниже нормы у пациентов с I и III стадиями ишемии ($1,9 \pm 0,3$ и $1,6 \pm 0,2$).

При проведении корреляционного анализа между показателями, полученными при УЗДС и на «АнгиоСкан-01», была выявлена прямая корреляционная зависимость между максимальной ЛСК в исследуемых церебральных артериях и сдвигом фаз ($r = 0,95$) и обратная — между толщиной КИМ и сдвигом фаз ($r = -0,96$). Обратная корреляционная зависимость получена между скоростными показателями кровотока и показателями контурного анализа — индексом жесткости ($r = -0,83$) и индексом аугментации при ЧП 75 в минуту ($r = -0,92$). Прямую корреляционную связь наблюдали между толщиной КИМ и индексами жесткости и аугментации при ЧП 75 в минуту ($r = 0,84$ и $r = 0,93$ соответственно).

При анализе полученных результатов обращают на себя внимание наиболее четкие отличия между испытуемыми контрольной группы и пациентами с ХИМ, начиная со II стадии.

Основываясь на том факте, что депротеинизированный гемодериват крови телят влияет на вазомоторную и метаболическую функцию эндотелия здоровых людей [12], мы изучили его действие на эндотелиальную функцию сосудов у пациентов с церебральным атеросклерозом.

Таблица 2. **Динамика показателей на фоне лечения депротеинизированным гемодериватом крови телят у пациентов с III стадией ХИМ (получены на «АнгиоСкан-01» и при УЗДС)**

Показатель	До лечения	После лечения
SI, мс	$7,7 \pm 0,3$	$8,1 \pm 0,2$
RI, %	$41,2 \pm 4,6$	$41,1 \pm 6,3$
AIp75, %	$22,2 \pm 3,0$	$26,8 \pm 4,0$
SPa, мм рт.ст.	$132,6 \pm 6,2$	$129,6 \pm 5,3$
Индекс окклюзии	$1,6 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2^*$
Сдвиг фаз, мс	$4,5 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,5^*$
ЛСК по экстракраниальным ПА, см/с	$32,8 \pm 2,2$	$43,6 \pm 2,5^{**}$
ЛСК по интракраниальным ПА, см/с	$33,4 \pm 1,9$	$42,3 \pm 2,0^{**}$
ЛСК по ОА, см/с	$50,3 \pm 1,6$	$56,1 \pm 1,8^*$

ОА — основная артерия; ПА — позвоночные артерии. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с соответствующими показателями до лечения

После проведения курса лечения депротеинизированным гемодериватом крови телят у пациентов с III стадией ХИМ при УЗДС было выявлено увеличение ЛСК по экстра- и интракраниальным отделам позвоночных артерий ($32,8 \pm 2,2$ до $43,6 \pm 2,5$ см/с и с $33,4 \pm 1,9$ до $42,3 \pm 2,0$ см/с соответственно; $p < 0,01$) и по основной артерии ($50,3 \pm 1,6$ до $56,1 \pm 1,8$ см/с; $p < 0,05$). При проведении окклюзионной пробы были выявлены изменения показателей на «АнгиоСкан-01». Данные представлены в табл. 2. Отмечено нарастание сдвига фаз с $4,5 \pm 0,5$ до $6,1 \pm 0,5$ мс ($p < 0,05$) и индекса окклюзии с $1,6 \pm 0,2$ до $2,3 \pm 0,2$ ($p < 0,05$).

При изучении корреляционной связи между результатами при УЗДС и показателями на «АнгиоСкан-01» после проведения курса лечения депротеинизированным гемодериватом крови телят установлено наличие прямой корреляции между нарастанием ЛСК по позвоночным и основной артериям и уменьшением выраженности эндотелиальной дисфункции в крупных мышечных артериях ($r = 0,99$). Несмотря на улучшение показателей функции эндотелия мелких мышечных артерий (индекс окклюзии), корреляции с данными УЗДС не обнаружено.

Таким образом, у пациентов с атеросклерозом магистральных прецеребральных артерий и ХИМ наряду со снижением линейной скорости кровотока при УЗДС наблюдали снижение вязко-эластических свойств аорты, а также дисфункцию эндотелия в крупных мышечных артериях, что коррелирует с изменением толщины КИМ сонных артерий. Не выявлено связи между данными УЗДС и показателями функции эндотелия мелких (мышечных) артерий. Вероятно, это можно объяснить тем, что при атеросклерозе в процесс вовлечены артерии крупного и среднего калибров (эластического и мышечно-эластического типа).

Снижение ЛСК по ОСА, ВСА, СМА и увеличение толщины КИМ наблюдали у больных со II и III стадиями ХИМ. В то же время показатель, характеризующий функцию эндотелия (сдвиг фаз), имел отклонения от нормальных значений и у пациентов с I стадией. Это согласуется с мнением ряда авторов, что пусковую роль в развитии атеросклероза играет повреждение эндотелия, и его дисфункция выявляется еще до развития атеросклеротических изменений артериальной стенки [9, 13–15]. Показательно в связи с этим, что наиболее чувствительным среди изучаемых параметров при атеросклерозе сосудов мозга является сдвиг фаз в ходе окклюзионной пробы, который определяется влиянием монооксида азота на гладкомышечные клетки артериальной стенки крупных мышечных артерий.

Результаты, полученные после проведения курса лечения депротеинизированным гемодериватом крови телят, позволяют сделать вывод, что препарат при курсовом назначении улучшает эндотелиальную функцию крупных сосудов мышечного типа и эффективен при лечении пациентов с атеросклерозом.

Литература

1. Чазов Е.И., Кухарчук В.В., Бойцов С.А. Руководство по атеросклерозу и ишемической болезни сердца. М.: Медиа Медика, 2007. 736 с.
2. Федин А.И. Профилактика инсульта // Неврол. вестн. 2005. Т.37. Вып.1–2. С.93–104.
3. Федин А.И., Калуга А.С., Миронова О.П., Соловьева Э.Ю. Роль уровня гомоцистеина в патогенезе когнитивных нарушений у пациентов с хронической ишемией головного мозга // Журн. неврол. и психиатр. 2009. Т.109. №11. С.51–54.
4. Bonetti P.O., Lerman L.O., Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2003. V.23. P.168–175.
5. Verma S., Buchanan M.R., Anderson T.J. Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease // Circulation. 2003. V.108. P.2054–2059.
6. Widlansky M.E., Gokce N., Keaney J.F.Jr., Vita J.A. The clinical implications of endothelial dysfunction // J. Am. Coll. Cardiol. 2003. V.42. P.1149–1160.
7. Парфенов А.С. Экспресс-диагностика сердечно-сосудистых заболеваний // Мир измерений. 2008. №6. С.74–82.
8. Парфенов А.С. Клиническая значимость современных методов оценки функции эндотелия: достижения и перспективы // Вестн. МЕДСИ. 2009. №3. С.24–31.
9. Стулин И.Д. Ультразвуковые методы диагностики в неврологии // Клин. вестн. Кремлвск. Мед. 2003. №2. С.23–28.
10. Blankenhorn D.H., Selzer R.H., Crawford D.W. et al. Beneficial effects of colestipol-niacin therapy on the common carotid artery. Two- and four-year reduction of intima-media thickness measured by ultrasound // Circulation. 1993. V.88. P.20–28.
11. Crouse J.R., Goldbourt U., Evans G. et al. Arterial enlargement in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) cohort. In vivo quantification of carotid arterial enlargement. The ARIC Investigators // Stroke. 1994. V.25. P.1354–1359.
12. Федорович А.А., Рогоза А.Н., Канищева Е.М., Бойцов С.А. Динамика функциональной активности микрососудистого эндотелия в процессе острого фармакологического теста препаратом актовегин // Consilium medicum. 2007. Т.12. №2. С.36–45.
13. Ross R., Glomset J. The pathogenesis of atherosclerosis: part 1 // N. Engl. J. Med. 1976. V.295. P.369–377, 420–428.
14. Кобалава Ж.Д. Основы превентивной терапии заболеваний, обусловленных атеросклерозом // Журн. практич. врача. 1996. №7. С.10–12.
15. Шляхто Е.В., Беркович О.А., Моисеева О.М. Клеточные и молекулярно-генетические аспекты эндотелиальной дисфункции // Вестн. РАМН. 2004. №10. С.50–52.

Информация об авторах:

Федин Анатолий Иванович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 111539, Москва, ул. Вешняковская, 21
Телефон: (495) 928-9506
E-mail: fedin.anatoly@gmail.com

Парфенов Александр Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Гематологического научного центра
Адрес: 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4а
Телефон: (495) 662-1150

Миронова Ольга Петровна, кандидат медицинских наук, профессор кафедры неврологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117593, Москва, Литовский б-р, 1а
Телефон: (499) 400-4518

Абдрахманова Елена Константиновна, врач функциональной диагностики Центральной клинической больницы Святителя Алексия
Адрес: 119071, Москва, Ленинский пр-т, 27
Телефон: (495) 952-4302

Старых Елена Владимировна, доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 119071, Москва, Ленинский пр-т, 27
Телефон: (495) 952-4302
E-mail: starykh_elena@mail.ru

Современные возможности исследования мозгового кровообращения и уровня церебральной перфузии у больных с окклюзирующими поражениями брахиоцефальных артерий

И.П.Асланиди¹, Л.И.Пышкина², Т.Н.Сергуладзе¹

¹Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева, Москва (директор — акад. РАН и РАМН Л.А.Бокерия);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра неврологии и нейрохирургии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — акад. РАМН, проф. Е.И.Гусев)

В статье представлен литературный обзор современных данных по методам исследования мозгового кровотока на экстра- и интракраниальном уровнях при окклюзирующих заболеваниях брахиоцефальных артерий. У больных с ишемией головного мозга описаны возможности оценки уровня перфузии неинвазивными методами — однофотонной эмиссионной компьютерной томографией с ^{99m}Tc-ГМПАО и ультразвуковыми методами диагностики с функциональными нагрузочными пробами.

Ключевые слова: церебральный атеросклероз, ишемический инсульт, ауторегуляция, каротидный стеноз, ультразвуковое дуплексное сканирование

Present capabilities of brain circulation evaluation and level of cerebral perfusion in patients with brachiocephalic arteries occlusive disease

I.P.Aslanidi¹, L.I.Pyshkina², T.N.Serguladze¹

¹Bakoulev Scientific Center of Cardiovascular Surgery, Moscow (Director — Acad. of RAS and RAMS L.A.Bockeria);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Neurology and Neurosurgery of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Acad. of RAMS, Prof. E.I.Gusev)

The article contains modern data review of a brain perfusion on extra- and intracranial levels during occlusion diseases of brachiocephalic arteries. In patients with brain ischemia there were described the possibilities of assessing the level of perfusion by noninvasive methods: single-proton emission computed tomography with ^{99m}Tc-HMPAO and ultrasound diagnostic methods with functional loading tests.

Key words: cerebral atherosclerosis, ischemic stroke, autoregulation, carotid stenosis, ultrasonic duplex scanning

Специальные анатомические и функциональные особенности делают головной мозг (ГМ) уникальным, существенно отличающимся от других органов человеческого организма. Прежде всего, поражает исключительная способность системы мозгового кровообращения к саморегуляции, регуляции перфузии и клеточного метаболизма.

Для корреспонденции:

Сергуладзе Тина Нодариевна, кандидат медицинских наук, врач функциональной диагностики рентгеновского отделения Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева
Адрес: 119049, Ленинский пр-т, 8, корп. 7
Телефон: (499) 236-9865
E-mail: serguladze74@mail.ru

Статья поступила 18.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Внутричерепные артерии отличаются от остальных артерий организма. Так как череп защищает их от внешнего давления, стенки сосудов становятся тоньше. В медию нет эластических волокон, однако мышечные артерии коры ГМ имеют хорошо развитую внутреннюю эластичную оболочку [1]. Еще более удивительная особенность системы мозгового кровообращения – гематоэнцефалический барьер, состоящий из специальных эндотелиальных клеток, находящихся в плотном контакте с мозговыми капиллярами. Он регулирует вход высокомолекулярных и гидрофильных веществ в центральную нервную систему. Эти вещества транспортирует общий поток крови, и они с легкостью попадают в другие органы тела, но

не в ГМ [2]. Мозг – единственный орган, практически лишенный энергетических запасов. Подачу кислорода и глюкозы обеспечивает мозговой кровоток (МКТ). Нейронная активность зависит от непрерывности этой подачи [3], что делает мозг крайне чувствительным и уязвимым к незначительным изменениям МКТ. Сосудистая система мозга обладает механизмом саморегуляции для поддержания мозгового кровотока.

Несмотря на разнообразие возможностей исследования мозгового кровотока, не существует конкретной и единственной методики, позволяющей оценить состояние церебрального кровообращения. В «пирамиде» методов исследования сосудистой патологии головного мозга, а также при изучении реактивности мозговых сосудов все составляющие крайне важны и дополняют друг друга. До недавнего времени многие диагностические приемы использовали только в научных разработках. Однако несмотря на, казалось бы, усовершенствованные алгоритмы обследований при различных видах интра- и экстракраниальной сосудистой патологии, необходимо внедрять новые диагностические методики, позволяющие полноценно понять и функционально оценить состояние

мозговой гемодинамики. Крайне важно комплексно подходить к обследованию церебрального кровотока у пациентов с сочетанным многососудистым поражением ветвей дуги аорты и коронарных артерий. Специалисты, занимающиеся обследованием и лечением данной категории больных, должны иметь определенный объем знаний как в области кардиологии и кардиохирургии, так и в практической неврологии и цереброангиологии.

В настоящее время существует множество новейших диагностических методов исследования патологии сосудов головного мозга, лидирующее место среди которых занимает ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС).

При исследовании брахиоцефальных и интракраниальных сосудов производят локацию и визуализацию их среза. Ультразвуковое дуплексное сканирование позволяет визуализировать почти все артерии, питающие головной мозг, определяя линейную скорость и направление кровотока. Использование транскраниального дуплексного сканирования способствует более достоверной диагностике локализации поражения сонных и позвоночных артерий (рис. 1).

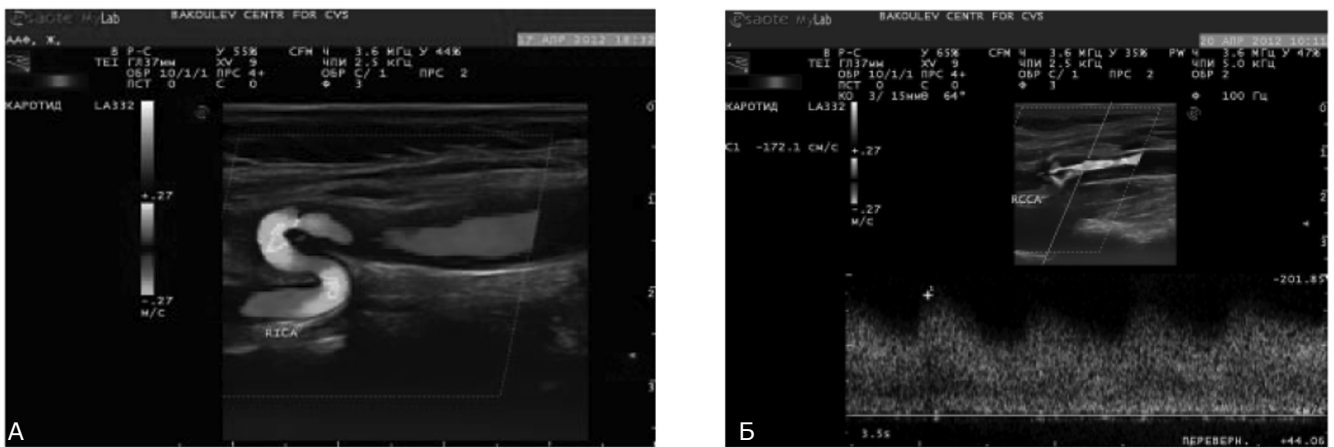


Рис. 1. Результаты ультразвукового дуплексного сканирования:
 А — S-образная деформация («кинкинг») внутренней сонной артерии;
 Б — критический стеноз внутренней сонной артерии

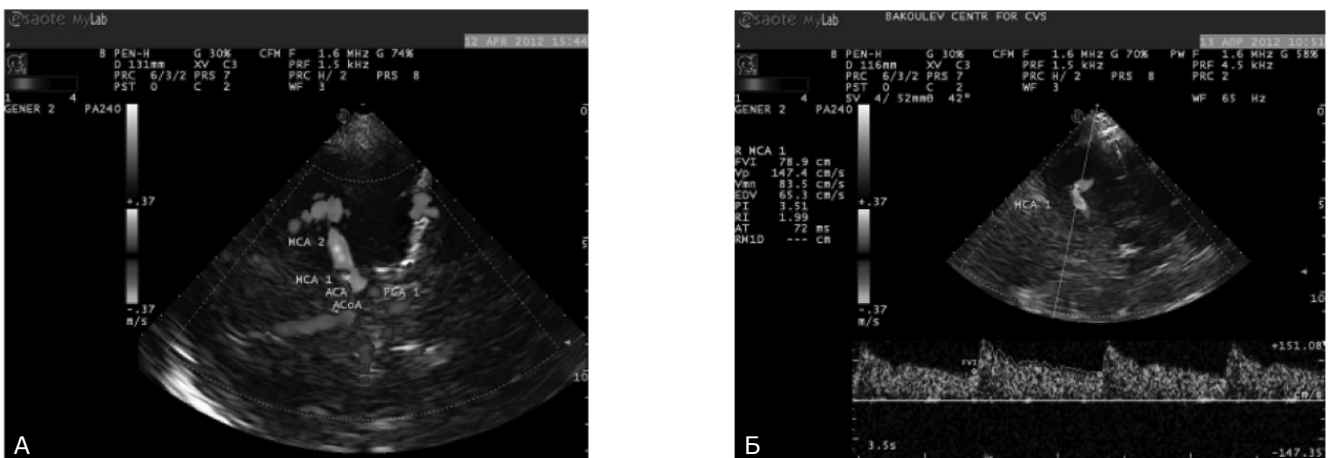


Рис. 2. Визуализация внутримозговых артерий в режиме ультразвукового цветного дуплексного сканирования:
 А — артерии виллизиева круга;
 Б — кровоток по средней мозговой артерии со спектральным анализом

Транскраниальное дуплексное сканирование (ТКДС) — один из наиболее достоверных методов исследования величины, направления и спектральных составляющих кровотока в интракраниальных ветвях внутренней сонной артерии (ВСА), задних мозговых артериях и коллатерального кровообращения по передней и задней соединительным артериям, а также по глазничному анастомозу в норме и при окклюзии ВСА. По своей чувствительности он превосходит золотой стандарт методов исследования кровеносных сосудов — ангиографию. Немаловажна роль ТКДС в выявлении аневризмы артерий и артериовенозных мальформаций сосудов основания мозга (рис. 2).

Наш многолетний опыт демонстрирует, что обязательное скрининговое исследование методом УЗДС и дальнейшее более детальное обследование мозгового кровообращения при помощи функциональных нагрузочных проб значительно улучшают результаты оперативного и консервативного лечения пациентов с сердечно-сосудистой патологией.

Ауторегуляция и вазодилататоры. Особенности церебральной гемодинамики

Ауторегуляция — это механизм, который позволяет регионарному мозговому кровотоку (рМКТ) оставаться постоянным в широком диапазоне колебаний регионального церебрального перфузионного давления (рЦПД) [4]. В физиологических условиях системное артериальное давление определяет рЦПД, так как церебральное венозное давление незначительно. Условия, которые воздействуют на приток артериальной крови или на адекватный венозный отток, могут изменить рЦПД глобально (например, снижение системного артериального давления, повышение внутричерепного давления) или локально (например, локальная артериальная облитерация, локальный венозный тромбоз). Основной компенсаторный ответ зависит от способности прекапиллярных резистивных сосудов реагировать на колебания уровня рЦПД. Для поддержания рМКТ пиальные артериолы сужаются при повышении уровня рЦПД и расширяются при его понижении.

Первые публикации о реактивности сосудов мозга как о свойстве, которое можно измерить, относят к концу 60-х гг. [5]. В дальнейшем показатели реактивности стали широко регистрировать наряду с количественными показателями кровотока [6]. Для определения количественных характеристик ауторегуляции необходимо исследовать изменения кровотока при воздействии различных функциональных проб, вызывающих вазодилаторную или вазоконстрикторную реакцию. Изменение линейной скорости кровотока (ЛСК) или регионарного мозгового кровотока под действием функциональных проб обозначают термином «цереброваскулярная реактивность» (ЦВР). Для количественной оценки ЦВР используют индексы реактивности, представляющие собой отношение показателей кровотока во время пробы к

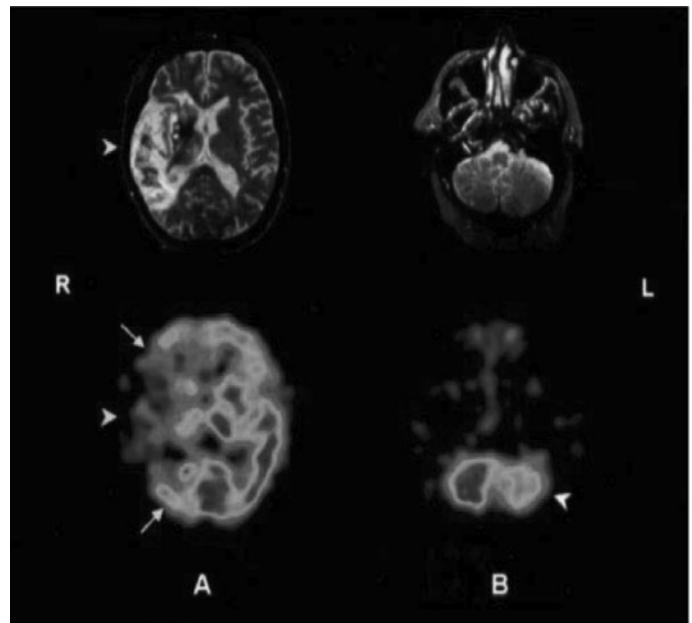


Рис. 3. Изображения МРТ T_2 -взвешенные (наверху) и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ГМПАО (внизу). Срезы на уровне базальных ганглиев (А) и мозжечка (В) у пациента с инфарктом в бассейне правой средней мозговой артерии

А — изображение ОФЭКТ показывает большую протяженность ишемии, чем МРТ (стрелки и указатели слева); В — анатомическая картина полушарий мозжечка нормальная, при этом в левом полушарии мозжечка (указатель справа) пониженное поглощение трейсера (гипоперфузия) из-за кросс-кортикоцеребеллярного диашиза [19]

исходному значению этого же показателя в покое непосредственно перед функциональной нагрузкой. В клинической практике при оценке ЦВР в каротидном бассейне головного мозга с помощью транскраниальной доплерографии (ТКДГ) чаще других применяют два вида тестов:

- тесты, вызывающие изменения газового состава артериальной крови, — гиперкапнические (ингаляция 5–7% диоксида углерода, произвольная задержка дыхания, внутривенное введение 1 г ацетазоламида) и гипокапнически-гипоксические (гипервентиляция, ингаляция кислорода) нагрузки;
- тесты с изменением перфузионного давления в мозговых артериях — ортостатическая и антиортостатическая нагрузки, тест компрессии общей сонной артерии (ОСА), тест нефармакологической артериальной гипотензии.

Тесты, приводящие к изменению объема притекающей крови, вызывают реакцию системы регуляции кровообращения преимущественно по миогенному и, вероятно, по нейрогенному контуру за счет барорецепторного аппарата. Сущность подобных тестов лежит в остром изменении уровня трансмурального давления, что сопровождается соответствующим изменением тонуса резистивных сосудов. Проба Вальсальвы,

орто- и антиортостатические нагрузки не лишены целого ряда недостатков (трудности дозирования, ярко выраженный индивидуальный уровень чувствительности, определяемый степенью тренированности и др.), обуславливающих их ограниченное применение.

При проведении компрессионного теста проводят пальцевую компрессию общей сонной артерии в течение пяти кардиоциклов с прекращением компрессии в фазу диастолы. Регистрируют ЛСК в ипсилатеральной средней мозговой артерии (СМА) до, во время и на протяжении 10–15 с после прекращения компрессии. По завершении компрессии в норме отмечают выраженный подъем ЛСК — транзиторный гиперемический ответ, длительность которого обычно не превышает 10 с. Он возникает на фоне стабильных показателей центральной гемодинамики, что позволяет объяснять увеличение ЛСК только церебральными механизмами [7]. С учетом того, что показатели периферического сопротивления во время гиперемического ответа достоверно ниже исходных показателей, предполагают, что он является следствием снижения циркуляторного сопротивления в бассейне СМА в ответ на снижение перфузионного давления. Таким образом, в настоящее время существует широкий арсенал тест-нагрузок, позволяющих оценивать состояние церебрального перфузионного резерва с помощью ТКДГ.

Использование ТКДГ с функциональными тестами у пациентов с окклюзирующими поражениями магистральных артерий головного мозга позволило прогнозировать ишемические поражения головного мозга, оптимизировать отбор пациентов, нуждающихся в хирургическом вмешательстве [8]. Изменения цереброваскулярной реактивности у пациентов с окклюзирующим поражением ВСА легли в основу классификации коллатерального кровоснабжения и определения показателей к созданию экстра-интракраниального анастомоза [9]. Наибольшее количество исследований посвящено оценке риска развития нарушений мозгового кровообращения у пациентов с гемодинамически значимыми стенозами и окклюзиями ВСА.

Изучение состояния резервов коллатерального кровообращения у больных с нарушениями мозгового кровообращения показало, что при недостаточных резервах коллатерального кровоснабжения повторные инсульты возникают значительно чаще [10] и неврологический дефицит при окклюзирующих поражениях магистральных артерий головного мозга более грубый [11]. При оценке наличия функционирующих соединительных артерий у пациентов с ишемическими инсультами на фоне гемодинамически значимого поражения ВСА у 48% пациентов выявлено отсутствие функционирующей передней и у 57% — задней соединительных артерий [12]. Авторы считают, что такой неожиданно высокий процент отсутствия функционирующей передней соединительной артерии у пациентов с развившимися ишемическими инсультами доказывает, насколько значи-

ма роль этой артерии в предотвращении ишемии мозга.

Для определения реактивности вертебробазилярного бассейна применяют метод нахождения прироста линейной скорости кровотока по задней мозговой артерии при проведении пробы с фотонагрузкой. Нормальным значением индекса фотореактивности является увеличение скорости кровотока по задним мозговым артериям более чем на 25% [13, 14].

Клиническая значимость перфузионной однофотонной эмиссионной компьютерной томографии головного мозга

Перфузионная однофотонная эмиссионная компьютерная томография головного мозга (ОФЭКТ ГМ) — это метод функциональной нейровизуализации, который позволяет неинвазивным способом изучать физиологические и патофизиологические явления, происходящие в головном мозге. При соблюдении соответствующей техники и аккуратной интерпретации полученной информации перфузионная ОФЭКТ ГМ доказала свою значимость в ведении пациентов кардио- и ангиохирургического профиля. ОФЭКТ нашла клиническое применение в диагностике, отслеживании пациентов и в дальнейшем выборе тактики лечения [15].

ОФЭКТ ГМ предоставляет трехмерную информацию о перфузии и метаболическом статусе мозговой ткани. Эта информация часто служит дополнением к анатомическим данным, полученным структурными методами нейровизуализации, такими как КТ и МРТ.

Области ГМ, получающие скудные афферентные сигналы, начинают гиподисфункционировать, снижается их метаболизм, и они выявляются на изображениях ОФЭКТ в виде зон с низким уровнем поглощения. Это проливает свет на патофизиологию клинических симптомов, связанных с анатомически сохранными областями ГМ [16, 17]. Тем не менее наиболее часто встречающийся паттерн, известный как «кросс-кортикоцеребеллярный диализ», как правило, не имеет клинически значимых последствий (рис. 3) [18].

Как известно, атеросклеротические окклюзирующие поражения магистральных артерий головы, особенно внутренних сонных артерий, при недостаточном коллатеральном кровоснабжении могут вызвать локальное снижение МК, что ведет к церебральной ишемии и повышенному риску развития острых нарушений мозгового кровообращения. По данным литературных источников, ОФЭКТ с ^{99m}Tc -гексаметилпропиленаминоксим (^{99m}Tc -ГМПАО) в комплексе с другими методами нейровизуализации (магнитно-резонансные томография и ангиография) успешно применяют у пациентов с гипоплазией, стенозом и патологической извитостью магистральных артерий головы (по данным МРА), ишемическими инсультами и симптомами транзиторных ишемических атак в анамнезе [18].

В отличие от коронарного атеросклероза, раннее выявление стенозов каротидных артерий разработано еще недостаточно, и пациенты обращаются за медицинской помощью уже со стойким неврологическим дефицитом после перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения.

В то же время на большом материале межцентровых проспективных исследований показано, что своевременная и адекватно подобранная терапия, как консервативная, так и оперативная (каротидная эндартерэктомия, каротидно-подключичное шунтирование), приводят к резкому снижению риска ишемического инсульта [20].

По этой причине адекватная оценка состояния мозгового кровообращения у больных с повышенным риском ишемического инсульта остается актуальной медицинской проблемой. Важен также дифференцированный подход в выборе тактики лечения для таких пациентов. Патфизиологически очевидно, что реконструктивное ангиохирургическое вмешательство показано в первую очередь тем пациентам, у которых вследствие атеросклероза сонных артерий существенно снижен или исчерпан функциональный перфузионный резерв цереброваскулярного русла, но неврологический дефицит минимален или отсутствует. Перфузионный резерв определяют при этом как способность сосудистого русла к увеличению кровотока через реакцию вазодилатации в соответствии с изменяющейся метаболической потребностью [2, 5, 16, 20].

ОФЭКТ дает возможность получить информацию о разных аспектах функционирования головного мозга, в частности, метаболической активности клеток, перфузии мозговой ткани, ее васкуляризации, экспрессии рецепторов и др. Этот метод позволяет на практике осуществить топическую оценку состояния микроциркуляции, регионарного мозгового кровотока и функционального резерва цереброваскулярного русла. ОФЭКТ головного мозга в настоящее время широко применяют для диагностики острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, для определения прогноза у больных с хроническими нарушениями кровообращения, тактики лечения и контроля эффекта проводимой терапии. Перфузионная ОФЭКТ головного мозга с использованием функциональных проб рекомендована для ранней диагностики ишемии головного мозга в публикациях секции по ядерной медицине МАГАТЭ [18, 20, 21].

Отечественные работы по результатам обследований пациентов с каротидными стенозами методом перфузионной ОФЭКТ головного мозга крайне противоречивы и находятся в стадии формирования и разработки стандартов. Однако существует общее мнение авторов о том, что состояние региональной перфузии головного мозга зависит от многих факторов, а не только от состояния кровоснабжающей системы. Перфузия зависит от функциональных потребностей мозга, состояния метаболизма в том или ином регио-

не, от способностей и состояния ауторегуляции надсегментарных отделов вегетативной нервной системы в обеспечении жизнедеятельности и поддержании гомеостаза [22].

В НЦССХ им. А.Н.Бакулева были пролечены 39 пациентов с окклюзирующими поражениями брахиоцефальных артерий. По данным ОФЭКТ ГМ с ^{99m}Tc-ГМПАО в покое и с нагрузочной пробой с персантином, у 56% больных до реконструктивной операции на брахиоцефальных артериях выявлена асимметрия кровоснабжения той или иной степени в бассейнах критически стенозированной внутренней сонной артерии с признаками гипоперфузии очагового характера областей полушарий. После хирургической коррекции стенозов (85% и более) на томограммах отмечено улучшение кровоснабжения в полушариях, рост показателей цереброваскулярного резерва.

Метод обладает высокой точностью в диагностике изменений показателей цереброваскулярного резерва у кардиохирургических больных до и после оперативного вмешательства в условиях искусственного кровообращения. Анализ и обобщение полученных с помощью ОФЭКТ данных дают возможность оценить влияние продолжительности искусственного кровообращения и времени пережатия аорты, а также величины фракции выброса левого желудочка на мозговую гемодинамику.

В течение последних 20 лет считали, что повышенная фракция экстракции кислорода (ФЭК), определенная позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ), отражает критическое падение церебрального перфузионного давления, известного как «нищая» перфузия. Последние статистические анализы доказали, что повышенная ФЭК может быть независимым фактором риска последующего ишемического инсульта у больных с окклюзирующей патологией сонных артерий.

Для оценки резерва церебральной перфузии у пациентов с окклюзирующей каротидной патологией также используют дипиридабол, поскольку ОФЭКТ или компьютерная томография с холодным ксеноном более доступны и могут быть выполнены с меньшими затратами, чем ПЭТ [23]. Недавние исследования доказали, что количественные измерения мозгового кровотока и ЦВР могут служить предиктором ишемического инсульта у пациентов со стенозом внутренней сонной артерии или окклюзией средней мозговой артерии [24]. Т.Огасавара и соавт. (2009) также сообщали об аналогичных результатах. Они предположили, что «нищую» перфузию легче выявлять с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, чем позитронно-эмиссионной, если цереброваскулярная реактивность сравнима с ФЭК [25]. Тем не менее остается спорным вопрос о том, связано ли напрямую нарушение цереброваскулярной реактивности у больных с окклюзирующей каротидной патологией с повышением фракции экстракции кислорода.

Литература

1. Бокерия Л.А. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М., 2003.
2. Grefkes C., Nowak D.A., Eickhoff S.B. et al. Cortical connectivity after subcortical stroke assessed with functional magnetic resonance imaging // *Ann. Neurol.* Feb 2008. V.63(2). P.236–246.
3. Muroi C., Khan N., Bellut D. et al. Extracranial-intracranial bypass in atherosclerotic cerebrovascular disease: report of a single centre experience // *Br J Neurosurg.* Jun 2011. V.25(3). P.357–362.
4. Лаврентьев А.В. Патопфизиология ишемии головного мозга применительно к оперативной реваскуляризации головного мозга // Лаврентьев А.В., Пирцхалаишвили З.К., Морозов К.М. и др. Региональное кровообращение и микроциркуляция. М., 2002. Т.1. №1. С.32–37.
5. Pareés I., Pujadas F., Hernández-Vara J. et al. Reversible hemichorea associated with extracranial carotid artery stenosis // *J. Neurol. Sci.* Jan 2011. V.300(1–2). P.185–186.
6. Kim E., Sohn C.H., Na D.G. et al. Perfusion computed tomography evaluation of cerebral hemodynamic impairment in patients with unilateral chronic steno-occlusive disease: a comparison with the acetazolamide challenge ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneamine oxime single-photon emission computed tomography // *J Comput Assist Tomogr.* Jul-Aug 2009. V.33(4). P.546–551.
7. Верещагин Н.В. Патология вертебробазилярной системы и нарушения мозгового кровообращения. М.: Медицина, 1980. 311 с.
8. Соколова Л.П. Особенности кровообращения головного мозга при додементных когнитивных расстройствах различного генеза // *Совр. пробл. науки и обр.* 2011. №4. С.56–58.
9. Kawashima M., Noguchi T., Yakushiji Y. et al. Leptomeningeal collateral and cerebral hemodynamics in patients with ICA and MCA steno-occlusion // *Neurol. Res.* Apr 2011. V.33(3). P.307–313.
10. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга // М.: Медицина, 2001. 328 с.
11. Moody E.B., Dawson R.C., Sandler M.P. ^{99m}Tc-HMPAO SPECT imaging in interventional neuroradiology: validation of balloon test occlusion // *AJNR Am J Neuroradiol.* 1991. V.12. P.1043–1044.
12. Сосудистые заболевания нервной системы / Под ред. Е.В.Шмидт. М.: Медицина, 1975. 664 с.
13. Лелюк В.Г., Лелюк С.Э. Транскраниальное дуплексное сканирование: Метод. пособие. М., 2003.
14. Langner S., Fleck S., Seipel R. et al. Perfusion CT scanning and CT angiography in the evaluation of extracranial-intracranial bypass grafts // *Neurosurgery.* Apr 2011. V.114(4). P.978–983.
15. Knop J., Thie A., Fuchs C. et al. ^{99m}Tc-HMPAO-SPECT with acetazolamide challenge to detect hemodynamic compromise in occlusive cerebrovascular disease // *Stroke.* 1992. V.23. P.1733–1742.
16. Качеишвили М.Ю. Оценка мозгового кровотока и цереброваскулярного резерва у больных с приобретенными пороками сердца до и после хирургического лечения по данным ОФЭКТ с ^{99m}Tc-церефектом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005.
17. Шахнович В.А. Ишемия мозга. Нейросонология. М.: АСТ, 2002.
18. Catafau A.M. Brain SPECT in clinical practice. Part I: perfusion // *J. Nucl. Med.* 2010. V.42. №2. P.259–271.
19. Одинак М.М., Михайленко А.А., Иванов Ю.С., Семин Т.Ф. Сосудистые заболевания головного мозга. СПб.: Гиппократ, 1997. 160 с.
20. Верещагин Н.В., Моргунов В.А., Гулевская Т.С. Патология головного мозга при атеросклерозе и артериальной гипертензии. М.: Медицина, 1997. 288 с.
21. Gerloff C., Bushara K., Sailer A. et al. Multimodal imaging of brain reorganization in motor areas of the contralesional hemisphere of well recovered patients after capsular stroke // *Brain.* Mar 2006. V.129(3). P.791–808.
22. Hirooka R., Ogasawara K., Inoue T. et al. Simple assessment of cerebral hemodynamics using single-slab 3D time-of-flight MR angiography in patients with cervical internal carotid artery steno-occlusive diseases: comparison with quantitative perfusion single-photon emission CT // *AJNR Am J Neuroradiol.* Mar 2009. V.30(3). P.559–563.
23. Mountz J.M. Nuclear medicine in the rehabilitative treatment evaluation instroke recovery. Role of diaschisis resolution and cerebral reorganization // *Eura Medicophys.* Jun 2007. V.43(2). P.221–239.
24. Kuroda S. Utility and validity of SPECT and PET in the perioperative managements of patients with cervical internal carotid artery stenosis // *Brain Nerve.* Sep 2011. V.63(9). P.933–944.
25. Murakami T., Ogasawara K., Yoshioka Y. et al. Brain temperature measured by using proton MR spectroscopy predicts cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy // *Radiology.* Sep 2010. V.256(3). P.924–931.

Информация об авторах:

Асланиди Ираклий Павлович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева
Адрес: 121552, Рублевское ш., 135
Телефон: (495) 414-7639
E-mail: petom@mail.ru

Пышкина Людмила Ильинична, доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117049, Москва, Ленинский пр-т, 8, корп. 8
Телефон: (495) 236-3288
E-mail: pyshlip@mail.ru

Клинические формы туберкулеза у детей раннего и дошкольного возраста с носительством вирусов герпеса в мононуклеарных клетках крови

О.В.Панова¹, В.А.Стаханов¹, М.А.Стенина², Д.А.Воеводин², Л.И.Кривов²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра фтизиатрии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. В.А.Стаханов);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, лаборатория фундаментальной и прикладной иммунологии, Москва

Целью исследования была оценка клинических особенностей течения туберкулезного процесса у детей раннего и дошкольного возраста на фоне герпесвирусной инфекции. Наличие вирусной инфекции констатировали при обнаружении ДНК вирусов Эпштейна–Барр, герпеса VI типа, цитомегаловируса в мононуклеарных клетках крови детей. Из 61 обследованного ребенка по результатам ПЦР-диагностики 28 детей (1-я группа) были инфицированы вирусами герпеса, 33 ребенка (2-я группа) данными вирусами не инфицированы. Сопутствующую патологию чаще имели дети в 1-й группе. Вирусами герпеса были инфицированы 12 из 14 детей с диагнозом туберкулезной интоксикации. Туберкулезная интоксикация в структуре клинических форм туберкулеза в 1-й группе составляла 43% и во 2-й группе — лишь 6%. Обсуждена роль вирусной супрессии дендритных клеток как возможного фактора подавления специфического иммунного ответа на микобактерии туберкулеза в лимфатических узлах средостения и возникновения «малых» форм туберкулеза у детей.

Ключевые слова: герпесвирусная инфекция, вирус Эпштейна–Барр, вирус герпеса человека VI типа, мононуклеарные клетки крови, туберкулезная интоксикация, ассоциация, «малые» формы туберкулеза

Clinical forms of tuberculosis in infants and preschool children with carriage of herpes viruses in the blood mononuclear cells

O.V.Panova¹, V.A.Stakhanov¹, M.A.Stenina², D.A.Voevodin², L.I.Krivov²

¹The Russian National Research University named after N.I.Pirogov, Department of Phthysiology, Moscow (Head of the Department — Prof. V.A.Stakhanov);

²The Russian National Research University named after N.I.Pirogov, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Laboratory of Fundamental and Applied Immunology, Moscow

The aim of the study was to evaluate the clinical features of the course of tuberculosis in infants and preschool children against herpes infection. The presence of viral infection was noted on detection of DNA viruses: the Epstein–Barr virus, herpes simplex virus type VI, cytomegalovirus in blood mononuclear cells of children. According to the results of PCR diagnosis, 28 (the 1st group) of the 61 children surveyed were infected with herpes viruses, 33 children (the 2nd group) — were not infected with those viruses. The frequency of comorbidity was higher in the 1st group. 12 of 14 children diagnosed with tuberculosis intoxication were infected with herpes viruses. Tuberculosis intoxication in the structure of the clinical forms of tuberculosis in the 1st group was 43%, and in the 2nd group was only 6%. The role of viral suppression of dendritic cells as a possible factor in the suppression of specific immune response to *Mycobacterium tuberculosis* in the mediastinal lymph nodes and the emergence of «minor» forms of tuberculosis in children was discussed.

Key words: herpes virus infection, Epstein–Barr virus, human herpes virus type VI, blood mononuclear cells, tuberculosis intoxication, association, «minor» forms of tuberculosis

Для корреспонденции:

Панова Ольга Викторовна, ассистент кафедры фтизиатрии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 113209, Москва, Севастопольский пр-т, 26

Телефон: (495) 120-5110

E-mail: alstrameriaC@yahoo.com

Статья поступила 18.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Проблема сочетания туберкулеза и вирусной инфекции на сегодняшний день недостаточно освещена в литературе. По результатам ряда исследований, мононуклеарные клетки (МНК) крови больных туберкулезом детей могут содержать геном вирусов герпеса, а в осадках мочи с высокой частотой обнаруживают антигены вирусов герпеса и Коксаки

[1, 2]. Другие авторы констатируют сочетание туберкулезной и цитомегаловирусной инфекции у детей и подростков [3], а также высокую инфицированность вирусами простого герпеса взрослых, больных туберкулезом [4]. Таким образом, герпетическая инфекция представляет большой интерес для фтизиопедиатров, поскольку вирусы герпеса распространены повсеместно и первичное инфицирование ими происходит в раннем детском возрасте [5]. Следует отметить, что на фоне значительной супрессии иммунной системы вирусы герпеса могут послужить развитию заболеваний, вызываемых вирусом Эпштейна-Барр (ЭБВ), таких как инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, вирусом герпеса человека VI типа (ВПГ-VI), таких как менингит, менингоэнцефалит, и т.д.

В настоящее время не существует данных о том, как сочетаются две инфекции. Логично предположить, что герпесвирусная и туберкулезная инфекции могут взаимно неблагоприятно влиять друг на друга. У детей на фоне незрелости иммунной системы герпесвирусная инфекция может приводить к изменению клинического течения туберкулезного процесса, и, наоборот, активная туберкулезная инфекция может приводить к изменению течения герпесвирусной инфекции.

При реактивации туберкулезной инфекции вирусная инфекция играет неспецифическую роль стимулятора синтеза в иммунной системе TNF- α и других цитокинов, усиливающих размножение возбудителя туберкулеза в макрофагах [6]. Подобным механизмом действия в полной мере обладают считающиеся условно-патогенными для человека вирусы герпеса, паразитирующие в клетках иммунной системы.

Целью настоящего исследования было изучение клинических особенностей течения туберкулезной инфекции у детей раннего и дошкольного возраста на фоне герпетической инфекции.

Пациенты и методы

Под наблюдением были дети в возрасте от 6 мес до 6 лет (61 ребенок), находившиеся на обследовании и лечении в детском отделении ТКБ № 7 г. Москвы.

В структуре клинических форм первичного туберкулеза преобладал туберкулез внутригрудных лимфатических узлов — 35 (57,4%) человек. Диагноз туберкулезной интоксикации был установлен у 14 (23%) детей, первичный туберкулезный комплекс отмечен у 5 (8,2%), туберкулез внелегочных локализаций — у 4 (6,5%) больных, 3 (4,9%) детей были инфицированы *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) без каких-либо рентгенологических и лабораторных признаков локальной формы туберкулеза и симптомов интоксикации. У 15 (25%) из всех обследованных детей выявили осложненное течение первичного туберкулеза и распространенный объем поражения.

У 46 (75,4%) из обследованных детей установлен контакт с больными туберкулезом взрослыми, однако

только у 18 (39,1%) из них заболевание было выявлено при обследовании по поводу данного контакта, у остальных 28 (60,9%) детей — другими методами.

Из 9 детей в возрасте до 1 года, составивших 14,8% всех обследованных, поводом для обследования в противотуберкулезном диспансере у 7 (77,8%) человек был контакт с больным туберкулезом, а у 2 (22,2%) — наличие жалоб. Дети в возрасте от 1 года до 2 лет составили 14 (22,9%) человек. Из них 10 (71,4%) человек были выявлены по результатам туберкулинодиагностики и 4 (28,6%) человека при обследовании по контакту с больными туберкулезом взрослыми. Детей в возрасте от 2 до 4 лет было 22 (36,1%) человека. Из них 20 (90,9%) пациентов выявили по результатам массовой туберкулинодиагностики и 2 (9,1%) — при обращении с жалобами. В возрасте от 4 до 6 лет были обследованы 16 (26,2%) детей. Из них 9 (56,2%) человек были выявлены по результатам массовой туберкулинодиагностики и 7 (43,8%) — при обследовании в связи с контактом со взрослыми больными.

У 41 пациента (67,2%) туберкулез диагностировали своевременно, т.е. процесс находился в фазе инфильтрации, либо не было отмечено признаков локальной формы заболевания.

Всех детей обследовали с помощью комплекса клинических, лабораторных и рентгенологических методов. Рентгенотомографическое исследование включало у всех детей обзорную рентгенографию органов грудной клетки в прямой и боковых проекциях, линейную томографию органов грудной клетки через проекцию корней легких.

Присутствие в мононуклеарных клетках крови детей ДНК вирусов герпеса (ЭБВ, ВПГ-VI, цитомегаловируса) устанавливали на основании результатов ПЦР-диагностики. Мононуклеарные клетки крови для постановки ПЦР получали при фракционировании на градиенте плотности фиколл-верографин 2,5 мл крови, помещенной в пробирку с раствором антикоагулянта (ЭДТА). Дальнейшее выделение из клеток ДНК, ее амплификацию и детекцию производили в соответствии с инструкцией фирм-производителей тест-систем для выявления вирусных и микробных возбудителей. Для выявления ДНК *M. tuberculosis* использовали тест-систему фирмы «ДНК-технология», ДНК вирусов герпеса — тест-систему компании «Биоком».

МНК крови тестировали на наличие в них ДНК *M. tuberculosis*, вирусов простого герпеса I, II типов (HNV-1, -2), вируса Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирусов (CMV), вирусов герпеса VI, VII, VIII типов (HNV-6, -7, -8), вируса ветряной оспы (VZV).

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам ПЦР-диагностики были сформированы две группы детей. В 1-ю группу включили 28 детей, у которых в МНК крови обнаружили ДНК вирусов герпеса. В спектре выявляемых в этой подгруппе возбудителей доминировал ЭБВ — у 14

(50%) детей. Частота обнаружения генома ВПГ-VI в 1-й группе составила 14,3% (4 больных), а цитомегаловируса — 3,6% (1 пациент). У 6 (21,4%) детей одновременно определили ДНК ЭБВ и ВПГ-VI. У 3 (10,7%) пациентов обнаружена ДНК вируса герпеса VII типа. Во 2-ю группу включили 33 ребенка, в МНК крови которых ДНК вирусов герпеса методом ПЦР обнаружена не была.

В обеих группах детей, больных туберкулезом, примерно одинаковым было число пациентов из семей с низким социальным статусом (70 и 64% соответственно), детей, которым нерегулярно проводили туберкулиновые пробы (43 и 33%), а также с длительным (более 12 мес) периодом инфицирования МБТ (31 и 22%). Дети как в 1-й, так и во 2-й группе, имели средний размер поствакцинального рубца (после вакцинации бациллой Кальметта-Герена) — 3–5 мм. Частота сопутствующей патологии у детей с положительным и отрицательным результатами ПЦР на наличие ДНК вирусов герпеса отчетливо различалась и составила в 1-й группе $64 \pm 0,09\%$ и во 2-й — $30 \pm 0,08\%$ ($p = 0,01$). Структура сопутствующей патологии у детей в обеих группах представлена на рисунке. Обращает на себя внимание наличие в 1-й группе большого числа детей с поражением ЦНС, пороками развития, заболеваниями ЛОР-органов и аллергическими заболеваниями.

Проведен сравнительный анализ особенностей течения туберкулезного процесса у детей в 1-й и 2-й группах. Согласно результатам клинико-рентгенологического обследования, у детей и с положительным, и с отрицательным результатом ПЦР-диагностики с одинаковой частотой отмечено наличие интоксикационного синдрома ($23 \pm 0,08$ и $21 \pm 0,1\%$ соответственно, $p = 0,365$). При этом распространенный процесс чаще выявляли у детей во 2-й группе, чем в 1-й ($51 \pm 0,06$ и $28 \pm 0,06\%$ соответственно, $p = 0,1$). Достоверных различий в результатах туберкулинодиагностики у детей обеих групп не установлено.

Проведен сравнительный анализ структуры клинических форм первичного туберкулеза у детей 1-й и 2-й групп. В 1-й группе диагноз туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов и туберкулезной интоксикации был поставлен с примерно одинаковой частотой — 14 (50%) и 12 (43%) детям соответственно ($p > 0,05$), а доля детей с прочими клиническими формами составила 7%. У детей во 2-й группе структура клинических форм первичного туберкулеза отличалась. Преобладали больные с туберкулезом внутригрудных лимфатических узлов (73%), доля детей с туберкулезной интоксикацией была достоверно меньше и составила только 6% ($p < 0,05$), а детей с другими клиническими формами — 21%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что такая клиническая форма как туберкулезная интоксикация тесно ассоциирована с носительством в МНК крови генома вирусов герпеса — 43% детей с положительным результатом ПЦР-диагностики против 6% детей с отрицательным ре-

зультатом ($p < 0,05$). В связи с этим, отдельно проведен анализ группы детей с диагнозом туберкулезной интоксикации.

Группа из 14 детей с диагнозом туберкулезной интоксикации была представлена 8 (57,1%) детьми раннего возраста и 6 (42,9%) детьми дошкольного возраста. Из них 10 (71,4%) человек были впервые обследованы в противотуберкулезном диспансере в связи с контактом с больными взрослыми. Превентивную химиотерапию дети не получали.

Диагноз туберкулезной интоксикации был установлен на основании наличия у пациентов контакта с больными туберкулезом взрослыми, результатов туберкулинодиагностики («виража» туберкулиновых реакций, гиперергической реакции на туберкулин), интоксикационного синдрома (бледность, вялость, периорбитальный цианоз, снижение веса, понижение аппетита, субфебрильная температура, изменения лабораторных показателей), увеличения нескольких групп (6–8) периферических лимфатических узлов [7].

Из 14 больных с диагнозом туберкулезной интоксикации контакт с больными взрослыми был установлен у 12 (85,7%) пациентов. У 9 (75%) из них контакт был постоянным, у 3 (25%) — эпизодическим, у 8 (66,7%) пациентов — бациллярным.

Из очага смерти от туберкулеза были 4 (28,6%) больных с диагнозом туберкулезной интоксикации. У 9 (64,3%) пациентов установлена гиперергическая реакция на туберкулин, у 5 (35,7%) — «вираж» туберкулиновых реакций.

У 3 (21,4%) пациентов симптомы интоксикации были выражены слабо и представлены вялостью, слабостью, бледностью кожных покровов, пониженным весом. У 10 (71,4%) детей симптомы интоксикации были выражены умеренно и представлены интоксикационным синдромом и изменениями ряда лабораторных показателей (умеренный лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг лейкоцитарной формулы, лимфопения, моноцитоз, незначительное ускорение СОЭ). У 1 (7,1%) ребенка интоксикационный синдром был значительно выражен и, помимо интоксикационного синдрома и изменений лабораторных показателей, проявлялся периодическим повышением температуры до субфебрильных цифр.

Как известно, туберкулезная интоксикация отличается от туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов и других локальных клинических форм туберкулеза в первую очередь отсутствием по результатам рентгеномографического исследования локальных изменений во внутригрудных лимфатических узлах и легких. Однако результаты применения компьютерной томографии (КТ) позволяют утверждать, что рентгенологические различия туберкулезной интоксикации и туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов носят, скорее, количественный характер [8]. Детям, включенным в исследование, КТ грудной клетки не проводили, но применение одних и тех же стандартных лучевых методов (обзорная рентгено-

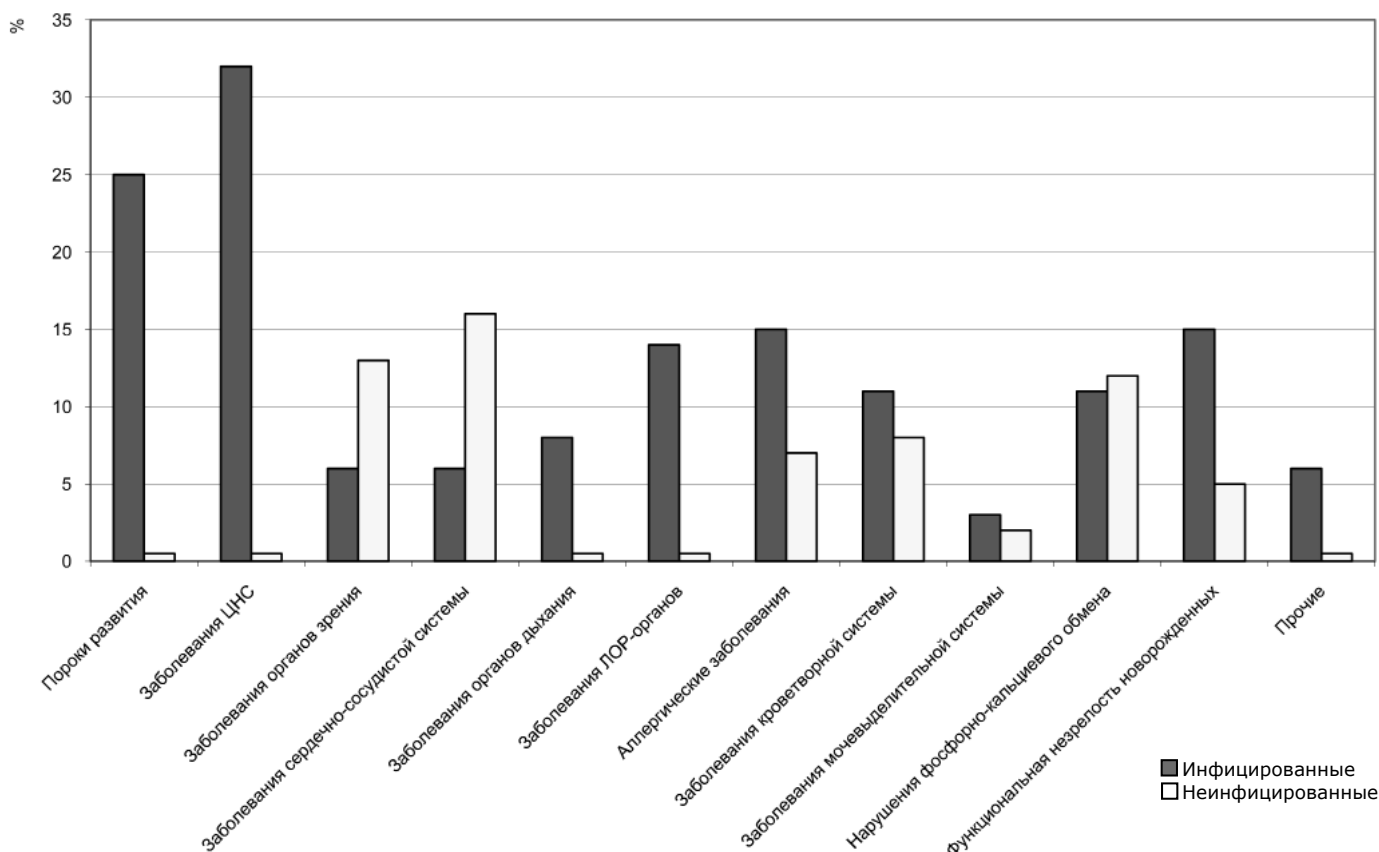


Рисунок. Структура сопутствующей патологии у больных туберкулезом детей в зависимости от наличия или отсутствия герпетической инфекции

графия, томография органов грудной клетки) позволило достоверно чаще ($p < 0,05$) выявить локальные изменения в органах дыхания у детей 2-й группы, у которых ДНК вирусов герпеса методом ПЦР не выявлена.

Обнаруженный нами факт ассоциации туберкулезной интоксикации как самостоятельной клинической формы туберкулеза с носительством в МНК крови ДНК вирусов герпеса можно объяснить с позиций возможного влияния вирусов на способность макрофагов/дендритных клеток вызывать в лимфатических узлах первичный иммунный ответ на *M. tuberculosis*. Исследования ряда авторов [9] показали, что у мышей при ингаляционном способе заражения микобактериями туберкулеза дендритные клетки захватывают их в легком и транспортируют в лимфатические узлы. В лимфоидной ткани дендритные клетки представляют иммунной системе антигены МБТ, запуская таким образом иммунный ответ с накоплением клеток-эффекторов. *M. tuberculosis* уклоняется от контроля иммунной системы, нарушая миграцию дендритных клеток и презентацию ими антигенов.

В отношении ряда вирусов, в частности, вируса простого герпеса и вируса герпеса VI типа, показано, что вирусная инфекция тормозит созревание дендритных клеток [10, 11]. Она вмешивается в процесс, в ходе которого дендритные клетки утрачивают спо-

собность к захвату в периферических тканях антигенов и последующей миграции в лимфатические узлы и становятся специализированными, представляющими антиген клетками. Известно, что при инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барр, вирионы, попадая в моноциты, подавляют их дифференцировку в дендритные клетки [12]. Можно предположить, что при наличии вирусной инфекции выраженный иммунный ответ на *M. tuberculosis* во внутригрудных лимфатических узлах может не развиваться вследствие «двойной» супрессии макрофагов/дендритных клеток возбудителем туберкулеза и герпетическими вирусами.

Согласно полученным нами данным, можно сделать вывод, что дети с такой вызывающей определенные трудности для врачей клинической формой первичного туберкулеза, как туберкулезная интоксикация, требуют проведения дополнительных мероприятий. Необходимы диагностические исследования (иммунологические и молекулярно-генетические, компьютерная томография), повышающие эффективность диагностики туберкулезной и вирусной инфекции, а также особые терапевтические мероприятия, направленные на подавление репликации вирусов герпеса и устранение вирусной супрессии иммунной системы, в сочетании с рациональным противотуберкулезным лечением.

Литература

1. Нелюбин В.Н., Мудров В.П., Панова О.В. и др. Микст-инфекция *Mycobacterium tuberculosis*, Epstein-Barr virus, Herpes human virus VI у детей // *Межд. мед. журн.* 2005. №4. С.100–101.
2. Стенина М.А., Воеводин Д.А., Стаханов В.А. и др. Тканевая гипоксия и дисбиоз кишечника при туберкулезе у детей // *Бюл. экспер. биол. и мед.* 2003. №2. С.205–207.
3. Сиренко И.А., Шматько С.А., Смелянская М.В. и др. Влияние цитомегаловирусной инфекции на течение туберкулеза у детей и подростков // *Пробл. туб. и бол. легких.* 2003. №8. С.7–9.
4. Каралян М.А., Степанян С.М., Улумян А.К., Карапетян Э.Т. Естественно-киллерный иммунодефицит и герпесвирусная инфекция при туберкулезе // *Пробл. туб. и бол. легких.* 2007. №3. С.25–28.
5. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н. и др. Герпесвирусная инфекция. М.: Медицина, 2007. 120 с.
6. Naguchi S., Day N.K., Kamchaisatian W. et al. LMP-420, a small-molecule inhibitor of TNF-alpha, reduces replication of HIV-1 and *Mycobacterium tuberculosis* in human cells // *AIDS Res Ther.* 2006. №31. P.3–8.
7. Король О.И., Лозовская М.Э., Ключкова Л.В. и др. Диагностика, клиника и лечение туберкулеза у детей и подростков. Спб., 2003. 124 с.
8. Гегеева Ф.Е., Лазарева Я.В., Аксенова В.А. Сравнительная характеристика рентгенологического исследования для диагностики «малых» форм туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов // *Пробл. туб. и бол. легких.* 2006. №5. С.23–28.
9. Wolf A.J., Linas B., Trevejo-Nunez G.J. et al. *Mycobacterium tuberculosis* infects dendritic cells with high frequency and impairs their function in vivo // *J. Immunol.* 2007. V.179. №4. P.2509–2519.
10. Salio M., Cella M., Suter M., Lanzavecchia A. Inhibition of dendritic cell maturation by herpes simplex virus // *Eur. J. Immunol.* 1999. V.29. №10. P.3245–3253.
11. Kakimoto M., Hasegawa A., Fujita S., Yasukawa M. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection // *J. Virol.* 2002. V.76. №20. P.10338–10345.
12. Li L., Liu D., Hutt-Fletcher L. et al. Epstein-Barr virus inhibits the development of dendritic cells by promoting apoptosis of their monocyte precursors in the presence of granulocyte macrophage-colony-stimulating factor and interleukin-4 // *Blood.* 2002. V.99. №10. P.3725–3734.

Информация об авторах:

Стаханов Владимир Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фтизиатрии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 113209, Москва, Севастопольский пр-т, 26
Телефон: (495) 120-5110
E-mail: stakhanov03@rambler.ru

Стенина Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор лаборатории фундаментальной и прикладной иммунологии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4565
E-mail: stenina_ma@rsmu.ru

Воеводин Дмитрий Анатольевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фундаментальной и прикладной иммунологии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4565

Кривов Леонид Иванович, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории фундаментальной и прикладной иммунологии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4565

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА



VIII Международная (XVII Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых

Москва, 21 марта 2013 г.

Молодежное научное общество Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова приглашает студентов и молодых ученых (до 35 лет) принять участие в VIII Международной (XVII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых.

В рамках конференции будут работать следующие секции: акушерство и гинекология, анестезиология и реаниматология, внутренние болезни, детская хирургия, заболевания органов головы и шеи, медико-биологические проблемы, медицинская психология и психиатрия, молекулярная биология и медицинские нанобиотехнологии, общественное здоровье, экономика здравоохранения и гуманитарные науки, педиатрия, хирургические болезни. Рабочие языки конференции: русский, английский.

Тезисы научных работ будут опубликованы в специальном выпуске журнала «Вестник Российского государственного медицинского университета», который имеет аттестацию ВАК. Электронная версия журнала будет размещена на сайте конференции.

Адрес проведения конференции: Москва, ул. Островитянова, 1.

Сайт конференции: pirogovka.rsmu.ru

E-mail: sno@rsmu.ru

Оперативное лечение болезни Пейрони. Часть 1. Возможности человеческого тела

Г.И.Назаренко¹, С.П.Даренков², О.Н.Зырянова¹, А.Д.Саркисян¹

¹Медицинский центр Банка России, Москва

(директор — акад. РАН, проф. Г.И.Назаренко);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра урологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. С.П.Даренков)

Статья посвящена современным техникам оперативного лечения болезни Пейрони. На сегодняшний день оперативное лечение является основным эффективным способом терапии симптоматической болезни Пейрони. Предложено множество техник, которые можно разделить на две группы операций: укорачивающие (операция Несбита и ее модификации, пликационные) и удлиняющие (лоскутные) корпоропластики. Укорачивающие методики доказали свою эффективность и при соблюдении определенных показаний к их использованию расцениваются специалистами и пациентами как удовлетворительные. Среди них наиболее предпочтительными являются модификации операции Несбита. При удлиняющих корпоропластиках сегодня, вероятно, нет необходимости в полном иссечении бляшки, а наиболее спорным вопросом является выбор оптимального пластического аутоматериала. Автор представил случай из собственного опыта оперативного лечения симптоматической болезни Пейрони.

Ключевые слова: болезнь Пейрони, оперативное лечение, пластический материал

Surgical treatment of Peyronie's disease. Part 1. The possibilities of the human body

G.I.Nazarenko¹, S.P.Darenkov², O.N.Zyryanova¹, A.D.Sarkisyan¹

¹Medical Centre of Bank of Russia, Moscow

(Director — Acad. of RAS, Prof. G.I.Nazarenko);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Urology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. S.P.Darenkov)

The article is devoted to modern techniques of surgical treatment of Peyronie's disease. To date, surgery is the main effective means of therapy of this symptomatic disease. There is proposed a set of techniques that can be divided into two groups of operations: shortening (Nesbit operation and its modifications, plication) and lengthening (patchwork) corporoplasty. Shortening techniques proved to be effective, and subjected to certain indications for their use, are considered satisfactory by professionals and patients. Among them the most preferred are modified Nesbit operations. When prolonging corporoplasty today probably there is no need for complete excision of the plaque, and the most contentious issue is the selection of optimal plastic automaterial. The author presented a case of his own experience of surgical treatment of Peyronie's disease symptom.

Key words: Peyronie's disease, surgical treatment, plastic material

Клиническая картина болезни Пейрони не является жизнеугрожающей, однако ее проявления могут приводить к сексуальной дисфункции и значительному ухудшению качества жизни пациентов. В недавних эпидемиологических исследованиях сообщается об общей распространенности болезни Пейрони в пределах 3–5% общей мужской популяции [1].

Для корреспонденции:

Саркисян Армен Джаникович, кандидат медицинских наук, врач-уролог отделения урологии стационара Медицинского центра Банка России

Адрес: 117593, Москва, Севастопольский пр-т, 66

Телефон: (495) 676-8142

E-mail: a.sarkisyan@rambler.ru

Статья поступила 04.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Примерно две трети больных составляют мужчины в возрасте 40–60 лет. Около 22% поражений белочной оболочки являются бессимптомными. От 20 до 50% пациентов с болезнью Пейрони имеют опыт спонтанного регресса симптомов [2]. Несмотря на это предложено множество вариантов консервативной и оперативной коррекции клинических проявлений болезни Пейрони.

Существует всего несколько контролируемых исследований, свидетельствующих об эффективности консервативной терапии на ранней активной фазе заболевания, связанной с болью и воспалением, но противоречия их результатов диктуют необходимость дальнейших контролируемых исследований [3].

Поскольку консервативная терапия малоэффективна, то хирургические методы признаются основными в лечении таких симптомов болезни Пейрони, как деформация полового члена, препятствующая проведению полноценного полового акта, и связанная с заболеванием примерно в 30% случаев эректильная дисфункция [4]. Для коррекции указанных симптомов авторами за годы практики предложено более сотни различных операций, но их неоднородная эффективность делает актуальным изучение и использование усовершенствованных и новых хирургических методик.

Для литературного поиска использованы информационные ресурсы pubmed, tripdatabase, dynamed, medline, cohrrhein library. Авторами найдено более 50 различных источников литературы, среди которых обнаружены клинические руководства и систематические обзоры по данной теме.

Оперативное лечение используют для выпрямления полового члена с максимально возможным сохранением его длины и коррекции выраженной эректильной дисфункции путем фаллопротезирования. Выпрямление полового члена достигают либо удлинением на короткой стороне, либо укорочением длинной стороны. Таким образом, существуют две группы операций, направленных на коррекцию деформации полового члена: укорачивающие (операция Несбита и ее модификации, пликационные) и удлиняющие (лоскутные) корпоропластики [5]. Укорачивающие корпоропластики выполняют на противоположной искривлению (выпуклой) стороне полового члена в месте максимальной деформации. Степень (угол) деформации, при которой целесообразно проводить укорачивающую корпоропластику остается предметом дискуссий. В.А.Ковалевым и соавт. (2001) эмпирически, а затем и математически был рассчитан коэффициент укорочения, предопределяющий относительную потерю длины полового члена при выполнении пликационных методик в зависимости от угла деформации. Так, при угле деформации 45° средний коэффициент укорочения составит 0,8 и соответствует потере длины на 20%. При угле деформации 60° и более коэффициент укорочения — 0,7, а потеря длины будет превышать в среднем 30% [6]. Ряд других авторов придерживаются мнения о том, что укорачивающие методики подходят для пациентов с девиацией полового члена менее 60° , с хорошей эректильной функцией, при достаточной длине полового члена (либо при прогнозируемом укорочении длины менее чем на 20% от первоначальной) [7]. Окончательное решение в выборе между укорачивающими и лоскутными корпоропластиками принимается в беседе хирурга и пациента. На сегодняшний день в мире существует множество вариантов укорачивающих операций, многие из которых являются модификациями техники Несбита. В 1965 г. R.H.Nesbit предложил свою методику для коррекции девиации полового члена при врожденной эректильной деформации. Методика заключалась в иссечении белочной оболочки

в виде эллипса шириной 1 мм на каждые 10° деформации [8]. J.P.Pryor и J.M.Fitzpatrick в 1979 г. первыми применили подобную технику при болезни Пейрони [9]. Наиболее крупные серии наблюдений представлены D.J.Ralph и G.Savoca. В исследовании D.J.Ralph и соавт. (1995) с участием 359 мужчин, подвергшихся операции по методике Несбита, с более чем 15-летним периодом наблюдения: у 82% мужчин достигнута полная коррекция деформации полового члена, укорочение полового члена отмечено у всех пациентов, а ухудшение эректильной функции у 1,6% пациентов [10]. G.Savoca и соавт. (2003) представили результаты лечения 279 пациентов по методике Несбита при среднем периоде наблюдения 89 месяцев. Полная коррекция деформации полового члена была получена у 86,3% пациентов, укорочение полового члена от 1,5 до 3 см наблюдалось в 17,4% случаев, уменьшение чувствительности и эректильная дисфункция выявлены у 11 и 11,5% мужчин соответственно, но только у 2,3% из них это послужило причиной сексуальной дисфункции. Общая удовлетворенность результатами операции достигнута у 83,5% пациентов [11]. С учетом данных других авторов, общая удовлетворенность пациентов методикой варьирует от 67 до 100%. Частота неудач составляет от 7 до 21%. Они связаны в основном со свойствами используемых рассасывающихся шовных материалов [7].

При изучении недостатков и осложнений выявлены 3 основных фактора неблагоприятного исхода, характерные для всех укорачивающих методик: нарушение эректильной функции, укорочение полового члена более чем на 2 см, рецидив деформации полового члена больше чем на 30° .

В 1990 г. D.Yachia представил свою модификацию операции Несбита, которая основана на поперечном ушивании одной или нескольких продольных корпоротомий на выпуклой стороне полового члена. Положительный эффект данной операции варьирует от 80 до 95%, а осложнения и критерии неудачи аналогичны операции Несбита [12].

E.Essed и F.H.Schroeder (1985) предложили менее инвазивный способ коррекции девиации полового члена без корпоротомии с эффективностью до 96%. Однако, по данным других авторов, частота рецидива значимого искривления полового члена при использовании данной техники в отдаленном периоде составляет 23–27% [13, 14].

В 1992 г. Donatucci и T.F.Lue описали упрощенную технику пликаций (позднее измененную S.S.Gholami). Она подразумевает несколько параллельных пликаций белочной оболочки ниже сосудисто-нервного пучка. Выпрямление полового члена было достигнуто у 93% из 132 пациентов, у 41% укорочение составило 0,5–1,5 см, 12% при пальпации ощущали швы и узлы, у 11% были болезненные эрекции, 6% отметили снижение чувствительности полового члена [15].

Пальпаторное ощущение швов, гранулемы, болезненные эрекции и даже образование фистул являются характерными осложнениями пликационных мето-

дик, связанных с использованием нерассасывающегося шовного материала [16]. В литературе описано еще несколько различных способов пликаций (техника Ebbehøj–Metz, неполные корпоротомии с попеременной пликацией и др.), которые являются модификациями более известных техник, но не превзошли их по эффективности и количеству осложнений. Несмотря на эффективность и относительную простоту выполнения возможности пликационных методов оказались ограниченными в более тяжелых случаях деформаций.

При комбинированных формах и девиации полового члена более 60°, деформации по типу «песочных часов», при угрозе значительного укорочения полового члена применяют лоскутные или удлиняющие корпоропластики. Суть методик состоит в рассечении или полном иссечении бляшки и замещении дефекта белочной оболочкой пластическим материалом [17]. В 1947 г. O.S.Lowsley первым выполнил лоскутную корпоропластику после иссечения бляшки. Он использовал жировой лоскут в качестве замещающего материала, что привело к положительному эффекту у 66% преимущественно молодых пациентов с дорсальной кривизной полового члена [18]. Следует отметить, что после лоскутных корпоропластик эректильная дисфункция и уменьшение чувствительности головки полового члена возникает чаще, чем после укорачивающих. Причина в большем интраоперационном повреждении сосудисто-нервного пучка и рассечении фасции Бака, большем нарушении и дефиците эректильной ткани, неполном соответствии ее свойствам нового пластического материала. Ухудшение эрекции чаще происходит из-за фиброза кавернозной ткани и повреждении веноокклюзивного механизма. Полное иссечение бляшки может также привести к более выраженной эректильной дисфункции, чем ее простое рассечение [4, 5]. Несмотря на это, до 1991 г. большинство хирургов использовали полное иссечение бляшки, пока M.K.Gelbard и B.Hayden (1991) не предложили ее рассечение для уменьшения эректильных осложнений. В качестве трансплантата авторы методики использовали височную фасцию [19].

Оптимальный материал для трансплантата является предметом спора многих специалистов и сегодня. Важно, чтобы выбранный для замещения материал был максимально приближен к белочной оболочке полового члена по биофизическим, анатомическим и клиническим характеристикам [20]. Определены характеристики, которыми должен обладать идеальный материал. Он должен быть способен к фиксации, иметь тканевую совместимость, иметь низкий риск антигенности и передачи инфекции, вызывать минимальное воспаление и коллагенизацию окружающих тканей. Идеальный материал должен быть также прочным и эластичным, различных размеров и невысокой стоимости. По происхождению все используемые материалы можно разделить на аутологичные, гетерологичные и синтетические. Аутологичными считаются ткани, взятые с тела этого же па-

циента (вена, височная фасция, кожа, влагалищная оболочка, широкая фасция бедра, апоневроз прямой мышцы живота). Гетерологичные материалы (экстрацеллюлярный матрикс) — это измененный с помощью генной инженерии биологический материал, взятый от другого человека (гомографт) или животного (ксенографт), такие как аллодерм, пельвикол, твердая мозговая оболочка, перикард. Наиболее известные синтетические материалы — gore-tex, dacron, silastic. Среди аутологичных материалов самым популярным является стенка большой подкожной вены бедра [3]. Ее преимущества в том, что питание венозной стенки происходит за счет хорошего кровоснабжения кавернозных тел и быстрого прорастания в нее коллатералей, вызывая минимальные воспалительную реакцию и риск отторжения. Кроме того, за счет мышечной стенки она имеет достаточную прочность и эластичность, эндотелий при контакте с кавернозной тканью вызывает ее минимальный фиброз, а размер венозного лоскута легко варьируется. Но необходимость адекватного питания за счет анастомозирования с хорошо кровоснабжаемой тканью не позволяет использовать венозный лоскут при одновременном фаллопротезировании или в сочетании с синтетическими материалами [21]. Опубликованы положительные результаты использования венозного лоскута различными авторами. Так, рецидив деформации отмечен в 5–15% случаев, ухудшение эректильной функции отметили от 6 до 35% пациентов, а укорочение полового члена выявлено у 17–40% пациентов, а общая удовлетворенность исходом операции достигла 96% [22, 23]. Другим популярным аутологичным материалом является дермальный лоскут, который делают из кожи мошонки, полового члена или подвздошной области. Его преимущества в легкости изготовления, хорошей упругости и биосовместимости, вариабельности размеров и толщины. В 1974 г. C.J.Jr.Devine и C.E.Horton первыми использовали кожный трансплантат в качестве материала, замещающего дефект белочной оболочки после полного иссечения бляшки. Успех был достигнут в 70% случаев [24]. По данным других авторов, полная коррекция девиации полового члена достигнута в 60–84% случаев, эректильная дисфункция после операции выявлена у 16–40% пациентов, а укорочение полового члена у 30% пациентов [25]. Однако при длительных наблюдениях общая удовлетворенность пациентов исходом операций не превысила 70–75% [26]. Такие результаты использования кожного лоскута связаны с быстрой потерей формы и сокращением лоскута из-за наличия в нем кожных пор и с длительной реваскуляризацией, а также с высокой послеоперационной фиброзной реактивностью и связанным с этим фиброзом прилегающей кавернозной ткани, что приводит к большей эректильной дисфункции. Высокая бактериальная обсемененность кожного трансплантата приводит к увеличению гнойных осложнений и повторных операций, особенно при одновременном протезировании полового члена [20].

В реконструктивно-пластической урологии так- же нередко в качестве пластического материала используется слизистая ротовой полости. Широко известны примеры ее успешного применения при пластике уретры по различным методикам. В 2003 г. А.Р.Kakonashvili и Т.Т.Shioshvili использовали слизистую оболочку щеки в экспериментальной работе на собаках [27] и показали, что данный материал имеет хорошую прочность, эластичность и способность к быстрой реваскуляризации, сопоставимые с другими аутологичными материалами. А уже в 2005 г. Т.Т.Shioshvili и А.Р.Kakonashvili представили результаты использования слизистой оболочки щеки в оперативном лечении 26 пациентов с болезнью Пейрони. При средней длительности наблюдения около 3 лет у 92,3% пациентов достигнута полная коррекция девиации, у 2 (7,7%) пациентов отмечен рецидив девиации менее 10°, укорочение длины полового члена около 1 см отмечено у 4 (15,4%) пациентов, у 2 (7,7%) пациентов выявлено ухудшение эректильной функции [28]. В.Liu, X.W.Zhu и соавт. (2009) опубликовали свои результаты лоскутной корпоропластики с применением слизистой оболочки щеки. Из 27 человек, которые подверглись оперативному лечению, у 3 (11,1%) пациентов отмечен незначительный рецидив девиации, у 2 (7,4%) пациентов — укорочение полового члена около 1 см. Период наблюдения составил от полугода до 7 лет [29]. Luigi Cormio и соавт. (2009) в своей работе отразили результаты 15 лоскутных корпоропластик с использованием слизистой оболочки щеки. При коротком периоде наблюдения полная коррекция девиации достигнута у всех пациентов (100%), укорочения полового члена и ухудшения эректильной функции не выявлено ни у одного пациента, общая удовлетворенность результатами операции достигнута у 93,3% пациентов и у 100% их партнерш [30]. Никто из авторов не отметил осложнений при использовании данного аутоматериала.

Для замещения дефекта белочной оболочки использовалась также влагалищная оболочка яичка. Полное выпрямление полового члена достигнуто в 88% случаев, однако послеоперационная эректильная дисфункция и укорочение полового члена выявлены у 68 и 96% пациентов соответственно. Следует отметить, что существующие небольшие серии наблюдений не могут дать объективной оценки результатам использования данного материала [31].

Для максимального приближения свойствам пластического материала к свойствам белочной оболочки в лоскутной корпоропластике использовали собственно белочную оболочку кавернозных тел из проксимальной части и ножек полового члена. С.Teloken и соавт. (2000) получил положительные функциональные и косметические результаты у 6 из 7 наблюдаемых им пациентов [32]. По данным других авторов, полная коррекция девиации полового члена достигнута у 96,2% мужчин, максимальная частота послеоперационной эректильной дисфунк-

ции составила 19,3%, а общая удовлетворенность достигнута у 93,5% пациентов [33].

Опыт использования твердой мозговой оболочки, височной фасции, апоневроза прямой мышцы живота и широкой фасции бедра в литературе представлен небольшим количеством работ с ограниченными и короткими сериями наблюдений.

Исходя из приведенного обзора литературы, можно заключить, что на сегодняшний день укорачивающие и лоскутные корпоропластики не являются взаимозаменяемыми при коррекции симптомов болезни Пейрони. Определяющими параметрами в выборе между лоскутными и укорачивающими корпоропластиками являются угол, сложность деформации и длина полового члена, наличие эректильной дисфункции, а иногда — желание пациента. Среди укорачивающих методик актуальными являются операция Несбита и ее модификации, которые наряду с пликациями белочной оболочки могут выполняться как самостоятельно, так и в сочетании с удлиняющими корпоропластиками. В качестве пластического аутологичного материала для лоскутных корпоропластик наиболее оптимальные результаты имеет венозная стенка. Многообещающими выглядят результаты использования слизистой щеки. Но для полной оценки ее пригодности необходимо дальнейшее изучение. Данные материалы обладают свойствами, сходными с белочной оболочкой, и умеренной морбидностью при их заборе. В качестве обобщения представляем один из случаев собственного опыта оперативного лечения симптоматической болезни Пейрони (рис. 1–5).



Рис. 1. Эректильная деформация полового члена. Пациент в возрасте 62 лет обратился с жалобами на дорсолатеральную эректильную деформацию полового члена, невозможность проведения полового акта, ухудшение эректильной функции. Сумма баллов по анкете МИЭФ-5 19 баллов. Пациенту предложено оперативное лечение, от одномоментного фаллопротезирования отказался

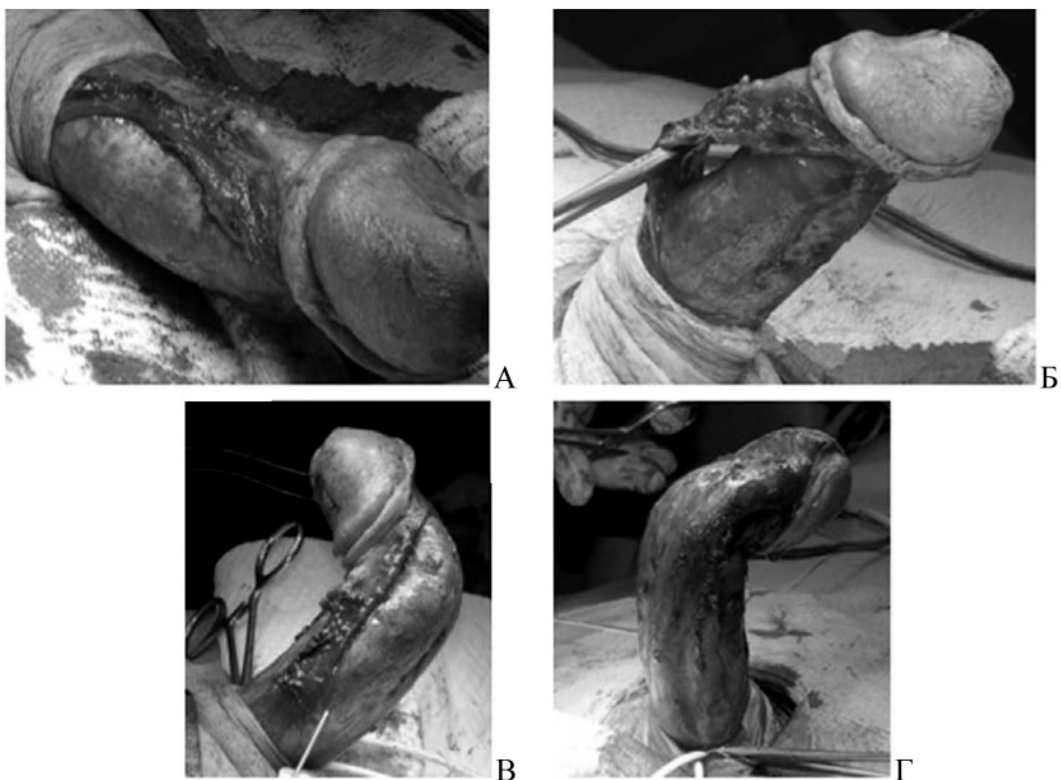


Рис. 2. **Комбинированная корпоропластика: корпоропластика аутовеной, операция Несбита (хирург – Саркисян А.Д.).** Дорсальный сосудисто-нервный пучок мобилизован на всем протяжении (А), взят на держалку-турникету единым блоком (Б). Интраоперационно индуцирована искусственная эрекция. Дорсолатеральная девиация полового члена: дорсальная около 90° (В), поворот головки против часовой стрелки на 40°, латеральная девиация около 50° (Г)

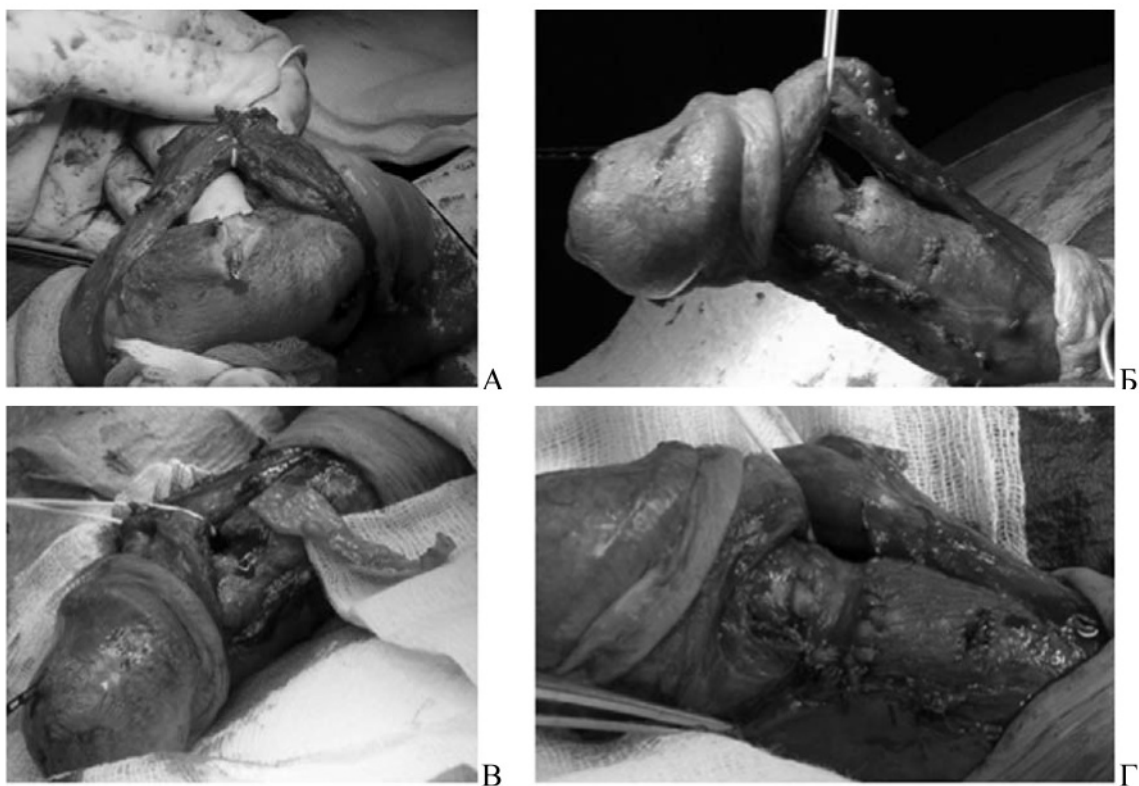


Рис. 3. **Комбинированная корпоропластика: корпоропластика аутовеной, операция Несбита (хирург – Саркисян А.Д.).** Скальпелем произведен разрез по линии изгиба полового члена с частичным иссечением бляшки белочной оболочки до кавернозной ткани. Длина разреза 4,5 см, ширина 1,3 см (А, Б). Иссечен сегмент большой подкожной вены бедра около 7 см, сегмент вены детубуляризирован (В). Сегмент аутовены уложен в дефект белочной оболочки интимой внутрь и фиксирован по краям монофиламентной нитью 3,0 (Г)

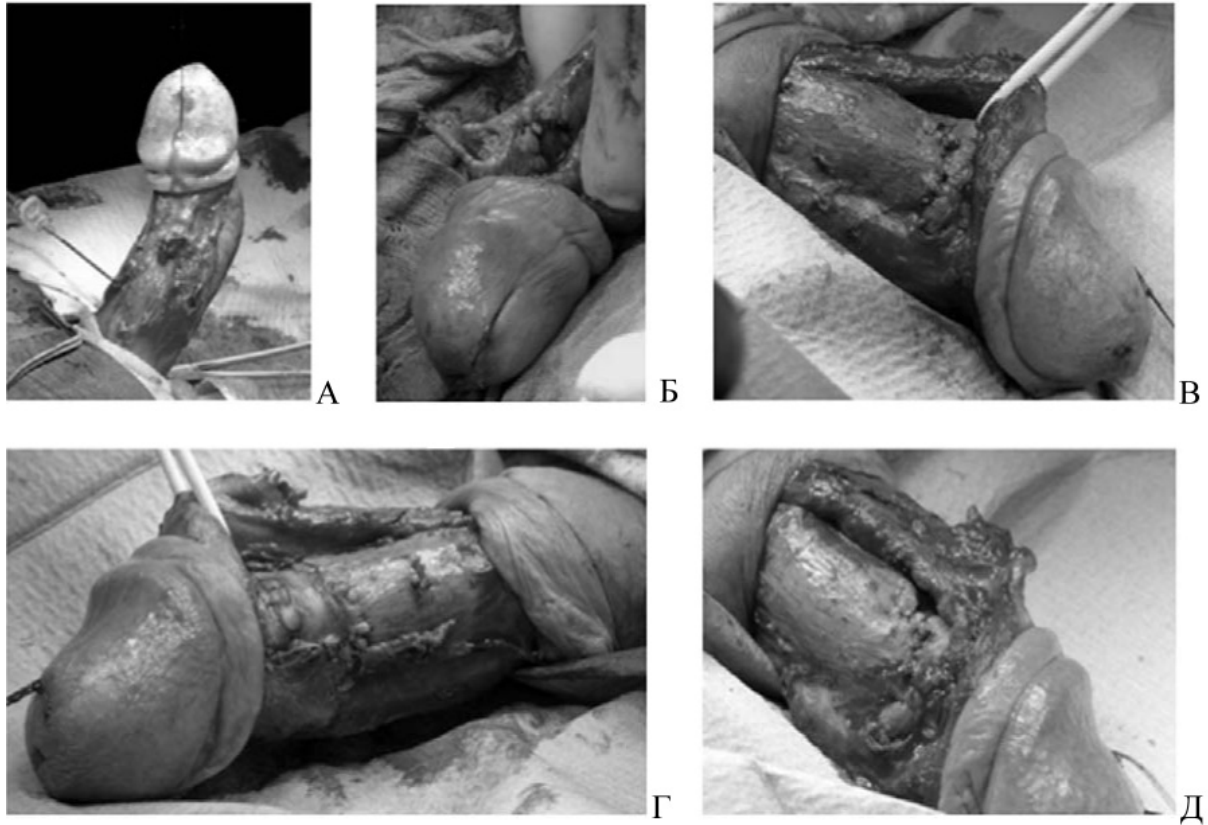


Рис. 4. **Комбинированная корпоропластика: корпоропластика аутовеной, операция Несбита (хирург – Саркисян А.Д.).** Повторно индуцирована искусственная эрекция – определяется резидуальная латеральная левосторонняя девиация (А). На противоположной искривлению стороне иссечен эллипсоидный участок белочной оболочки около 0,7×1,0 см (Б), дефект белочной оболочки ушит в поперечном направлении монофиламентной нитью 3,0 (В). Окончательный вид после операции: корпоропластика аутовеной (Г), операция Несбита (Д)



Рис. 5. **Результат операции через 6 мес.** Пациент полностью доволен косметическим результатом операции. К половой жизни адаптирован приемом ингибиторов ФДЭ-5 по требованию

Заключение

Несмотря на относительную редкость симптоматической болезни Пейрони, урология предлагает множество способов ее оперативной коррекции. Укорачивающие методики доказали свою эффективность и при соблюдении определенных показаний к их использованию расцениваются специалистами и пациентами как удовлетворительные. Среди них методик наиболее предпочтительными являются модификации

операции Несбита. При удлиняющих корпоропластиках сегодня, вероятно, нет необходимости в полном иссечении бляшки, а наиболее спорным вопросом является выбор оптимального пластического аутоматериала. Хотя многие авторы признают венозную стенку оптимальной для замещения белочной оболочки, поиск идеального пластического материала продолжается. Общими недостатками аутологических материалов являются удлинение времени операции и болезненность, связанные с забором материала. При этом у специалистов достаточно возможностей для успешного оперативного лечения симптомов болезни Пейрони, не прибегая к использованию высокотехнологичных материалов, эффективность и недостатки которых будут рассмотрены авторами позже.

Литература

1. Smith C.J., McMahon C., Shabsigh R. Peyronie's disease: the epidemiology, aetiology and clinical evaluation of deformity // *BJU Int.* 2005. V.95. P.729-732.
2. Pryor J.P., Ralph D.J. Clinical presentation of Peyronie's disease // *Int. J. Impot. Res.* 2002. V.14. P. 414-417.
3. Tunuguntla H.S. Management of Peyronie's disease — a review // *World J Urol.* 2001 Aug. V.19 (4). P.244-250.

4. Sasso F., Gulino G., Falabella R. et al. Peyronie's disease: lights and shadows // *Urol. Int.* 2007. V.78 (1). P.1–9.
5. Jalkut M. MD, Gonzalez-Cadavid N. PhD, Rajfer J. MD. Peyronie's Disease: A Review // *Rev Urol.* 2003 Summer. V.5 (3). P.142–148.
6. Королева С.В., Ковалев В.А. Выбор метода оперативного вмешательства при Болезни Пейрони: Избранные лекции по урологии под ред. Н.А.Лопаткина, А.Г.Мартова. М., 2008. С.473–481.
7. Kadioglu A., Küçükduzmaz F., Sanli O. Current status of the surgical management of Peyronie's disease // *Nat Rev Urol.* 2011 Feb. V.8 (2). P.95–106.
8. Nesbit R.H. Congenital curvature of the phallus: report of three cases with description of corrective operation, 1965 // *J. Urol.* 2002. V.167. P.1187–1189.
9. Pryor J.P., Fitzpatrick J.M. A new approach to the correction of the penile deformity in Peyronie's disease // *J. Urol.* 1979. V.122. P.622–623.
10. Ralph D.J., Al-Akraa M., Pryor J.P. The Nesbit operation for Peyronie's disease: 16-year experience // *J. Urol.* 1995. V.154. P.1362–1363.
11. Savoca G., Scieri F., Pietropaolo F. et al. Straightening corporoplasty for Peyronie's disease: a review of 218 patients with median follow-up of 89 months // *Int. J. Impot. Res.* 2003. V.15. P.465–467.
12. Yachia D. Modified corporoplasty for the treatment of penile curvature // *J. Urol.* 1990. V.143. P.80–82.
13. Essed E., Schroeder F.H. New surgical treatment for Peyronie's disease // *Urology.* 1985. V.25. P.582–587.
14. van der Horst C., Martinez-Portillo F.J., Melchior D. et al. Polytetrafluoroethylene vs. polypropylene sutures for Essed-Schroeder tunical plaction // *J. Urol.* 2003. V.170 (2 Pt 1). P.472–475.
15. Gholami S.S., Lue T.F. Correction of penile curvature using the 16-dot plication technique: a review of 132 patients // *J. Urol.* 2002. V.167. P.2066–2069.
16. Ковалев В.А., С.В. Королева, В.Н. Буров и др. Оперативное лечение болезни Пейрони // *Урология.* 2006. №2. С.85–87.
17. Kendirci M., Hellstrom W.J. Critical analysis of surgery for Peyronie's disease // *Curr Opin Urol.* 2004 Nov. V.14 (6). P.381–388.
18. Lowsley O.S., Boyce W.H. Further experiences with an operation for the cure of Peyronie's disease // *J. Urol.* 1950. V.63. P.888.
19. Gelbard M.K., Hayden B. Expanding contractures of the tunica albuginea due to Peyronie's disease with temporalis fascia free grafts // *J. Urol.* 1991. V.145. P.772–776.
20. Brock G., Hsu G.L., Nunes L. et al. The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and Peyronie's disease // *J. Urol.* 1997. V.157. P.276.
21. Austoni E., Fisch M., Gentile V., Mirone V. Atlas of reconstructive penile surgery. Pisa: Pacini, 2010 Jan.
22. Montorsi F., Salonia A., Maga T. et al. Evidence based assessment of long-term results of plaque incision and vein grafting for Peyronie's disease // *J. Urol.* 2000. V.163. P.1704–1708.
23. Wessells H. MD. Peyronie's disease: Use of grafts in surgical reconstruction. Careful selection of graft, surgical technique is critical to avoid post-op erectile dysfunction May 1, 2011 [Electronic resource] // *Urology Times.* [Official website]. URL: <http://www.modernmedicine.com/modernmedicine/Modern+Medicine+Now/Peyronies-disease-Use-of-grafts-in-surgical-recons/ArticleStandard/Article/detail/719562?contextCategoryId=40183&ref=25> (accessed: 15.01.2012).
24. Devine C.J. Jr., Horton C.E. Surgical treatment of Peyronie's disease with a dermal graft // *J. Urol.* 1974. V.111. P.44–49.
25. Austoni E., Cazzaniga A., Colombo F. et al. Dermal grafts in the radical surgery of Peyronie's disease // *Int. J. Impot. Res.* 1990. V.2 (Suppl. 2). P.439.
26. Wild R., Devine C., Horton C. Dermal graft repair of Peyronie's disease survey of 50 patients // *J. Urol.* (Baltimore). 1979. V.121. P.47–50.
27. Kakonashvili A.P., Shioshvili T.J. Substitution of tunica albuginea penis by different autotransplant: an experimental study // *Georgian Med News.* 2003. V.10. P.38–42.
28. Shioshvili T.J., Kakonashvili A.P. The surgical treatment of Peyronie's disease: replacement of plaque by free autograft of buccal mucosa // *Eur. Urol.* 2005. V.48 (1). P.129–133, 134–135.
29. Liu B., Zhu X.W., Zhong D.C. et al. Replacement of plaque by buccal mucosa in the treatment of Peyronie's disease: a report of 27 cases // *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2009 Jan. V.15 (1). P.45–47.
30. Cormio L., Zucchi A., Lorusso F. et al. Surgical treatment of Peyronie's disease by plaque incision and grafting with buccal mucosa // *Eur. Urol.* 2009. V.55 (6). P.1469–1475.
31. O'Donnell P.D. Results of surgical management of Peyronie's disease // *J. Urol.* 1992. V.148. P.1184–1187.
32. Teloken C., Grazziotin T., Rhoden E. et al. Penile straightening with crural graft of the corpus cavernosum // *J. Urol.* 2000. V.164. P.107–108.
33. Schwarzer J.U. The tunica-albuginea-patch-technique: a new technique of an autologous grafting procedure for patients with peyronie's disease // *J. Urol.* 2005. V.173. P.202.

Информация об авторах:

Назаренко Герасим Игоревич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Медицинского центра Банка России
 Адрес: 117593, Москва, Севастопольский пр-т, 66
 Телефон: (495) 676-8344

Даренков Сергей Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 119049, Москва, Ленинский пр-т, 10, корп. 12
 Телефон: (495) 952-4345

Зырянова Ольга Николаевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением урологии стационара Медицинского центра Банка России
 Адрес: 117593, Москва, Севастопольский пр-т, 66
 Телефон: (495) 676-8141

Персонализированная иммунотерапия в лечении гипертрофии аденоидных вегетаций у детей

Л.В.Ковальчук¹, Л.В.Ганковская¹, И.В.Рахманова¹, О.А.Свитич^{1,2}, Г.М.Зинкер³,
В.А.Ганковский¹, Д.Д.Карташов¹, Ю.В.Волкова¹, К.В.Руссанова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва (и.о. ректора — проф. А.Г.Камкин);

²НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва (директор — акад. РАМН, проф. В.В.Зверев);

³Морозовская детская городская клиническая больница (главный врач — проф. И.Е.Колтунов)

Представлены результаты изучения эффективности персонализированной иммунотерапии у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций II–III степени. Установлено, что применение аутологичного комплекса иммунопептидов, включающего цитокины и противомикробные пептиды, вырабатываемые лейкоцитами пациента, приводило к нормализации носового дыхания, снижению частоты развития отитов и ОРВИ в течение 6 мес наблюдения после лечения. Выявлены индивидуальные различия в экспрессии генов молекул врожденного иммунитета в слизистой оболочке полости носа, что дает основание для персонализированного подхода к иммунотерапии.

Ключевые слова: персонализированная иммунотерапия, врожденный иммунитет, гипертрофия аденоидных вегетаций, цитокины, противомикробные пептиды

Personalized immunotherapy in the treatment of hypertrophy of adenoid vegetation in children

L.V.Kovalchuk¹, L.V.Gankovskaya¹, I.V.Rakhmanova¹, O.A.Svitich^{1,2}, G.M.Zinker³,
V.A.Gankovskiy¹, D.D.Kartashov¹, Yu.V.Volkova¹, K.V.Russanova¹

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Moscow (Acting Rector — Prof. A.G.Kamkin);

²I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, RAMS, Moscow (Director — Acad. of RAMS, Prof. V.V.Zverev);

³Morozov Children's Municipal Clinical Hospital, Moscow (Chief Doctor — Prof. I.E.Koltunov)

The results of the study of the effectiveness of personalized immunotherapy in children with hypertrophy of II–III degree adenoid vegetations are presented in the article. It was established, that application of autologous complex of immunopeptides including cytokines and antimicrobial peptides produced by white blood cells of the patients, led to the normalization of nasal breathing, a reduction in the frequency of otitis and of respiratory viral infections at 6 months observation after the treatment. There were identified individual differences in gene expression of molecules of the innate immunity in the mucosa of the nasal cavity, what provides the personalized approach to immunotherapy.

Key words: personalized immunotherapy, innate immunity, hypertrophy of adenoid vegetation, cytokines, antimicrobial peptides

В связи с расшифровкой генома человека, развитием молекулярно-генетических технологий в современной медицине сформировалось новое направление — персонализированная медицина, кото-

Для корреспонденции:

Ганковская Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической иммунологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, руководитель НКЦ персонализированной медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-9000
E-mail: lgan@yandex.ru

Статья поступила 17.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

рое подразумевает персонализированный подход к диагностике и лечению пациента на основе молекулярно-генетических особенностей организма.

На кафедре иммунологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова разработана оригинальная медицинская технология, основанная на получении пептидов иммунной системы пациента и применении их в качестве лечебного средства. Данный метод получил название персонифицированной иммунотерапии и разрешен к применению. Суть его заключается в локальном применении аутологичного комплекса важных регуляторных молекул — цитокинов и противомикробных пептидов, полученных при культивиро-

вании лейкоцитов пациента [1]. Клинические исследования показали высокую эффективность метода в лечении заболеваний, сопровождающихся воспалением, инфекцией, нарушением иммунных механизмов защиты [2, 3].

Во всем мире за последние десятилетия наблюдается тенденция к увеличению частоты встречаемости гипертрофии аденоидных вегетаций у детей [4]. Гипертрофированная лимфоидная ткань носоглотки может быть причиной развития патологических изменений как местного характера (риниты, синуситы, отиты), так и системного характера (нарушение обмена веществ, иммунных механизмов, гипоксия, апноэ, энурез и др.) [5]. Принимая во внимание тот факт, что в лимфоидной ткани носоглотки формируется мукозальный иммунитет ЛОР-органов, большое внимание уделяется разработке и внедрению методов с применением иммуностропных препаратов — иммунотерапии.

В связи с этим целью настоящего исследования стала разработка алгоритма персонализированной иммунотерапии детей с гипертрофией аденоидных вегетаций.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить исходный уровень показателей врожденного иммунитета (экспрессию генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD-2, α -дефензинов) в слизистой оболочке полости носа здоровых детей и детей с аденоидными вегетациями.
2. Получить аутологичный комплекс иммунопептидов и оценить в нем содержание цитокинов и противомикробных пептидов.
3. Оценить клиническую эффективность применения персонализированной иммунотерапии.

Пациенты и методы

На базе кафедры оториноларингологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (зав. кафедрой — чл.-кор. РАМН, проф. М.Р.Богомильский) и консультативной поликлиники ГБКЗД «Морозовская детская городская клиническая больница» (зав. поликлиникой — к.м.н. Г.М.Зинкер) были обследованы 37 детей в возрасте от 4 до 8 лет, из них 24 мальчика и 13 девочек. Всем обследованным детям были проведены тщательный оториноларингологический осмотр (передняя риноскопия, отоскопия, фарингоскопия), рентгенография носоглотки и исследование слуховой функции. Наблюдаемые дети были разделены на три группы. Первую группу (основную) составили 12 детей с диагнозом «гипертрофия аденоидных вегетаций II–III степени». Всем детям первой группы наряду с общепринятым консервативным лечением гипертрофии аденоидных вегетаций назначали персонализированную иммунотерапию. Вторую группу (сравнения) составили 14 детей с диагнозом «гипертрофия аденоидных вегетаций II–III степени». Всем детям группы сравнения проводилось общепринятое консервативное лечение гипертрофии аденоидных вегетаций. Третью группу (контрольную) составили

11 здоровых детей с диагнозом «аденоиды I–II степени». Жалоб на момент осмотра родители и их дети не предъявляли. При оториноларингологическом осмотре патологии не выявлено. В анамнезе у этих детей не было заболеваний острыми средними отитами в течение последних трех месяцев до обследования.

Перед обследованием детей получено информированное согласие родителей на проведение дополнительных исследований.

На базе НКЦ персонализированной медицины РНИМУ им. Н.И.Пирогова проведено исследование врожденного иммунитета в слизистой оболочке полости носа. После предварительной санации полости носа получали клетки слизистой оболочки с помощью специальной щеточки.

На первом этапе из биологического материала выделяли РНК с использованием колоночных технологий — набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия). Далее методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени определяли экспрессию генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD-2 и α -дефензинов. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием «Набора реактивов для проведения обратной транскрипции» (Синтол, РФ) строго по инструкции фирмы-производителя. Для проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени подбирали последовательность праймеров и зондов с помощью программы Vector NTI 8.0, анализируя последовательность генов, полученную из электронной базы данных GenBank. Реакционную смесь готовили из реактивов «Набора для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (Синтол, РФ). Данные представлены в виде отношения десятичного логарифма количества копий исследуемого гена к десятичному логарифму 1 млн копий гена актина [6].

Получение аутологичного комплекса иммунопептидов проводили согласно утвержденной медицинской технологии [1]. После определения концентрации цитокинов и нейтрофильных пептидов HNP-1–3 (Human Neutrophil Peptides) полученный комплекс иммунопептидов закапывали по 2 капли в каждую половину носа 2 раза в день в течение 6 дней. После проведения курса терапии выполняли повторную оценку показателей врожденного иммунитета и исследовали клиническую эффективность (изменение носового дыхания, заболеваемость ОРВИ, острыми средними катаральными отитами) в течение 6 мес после лечения. Программа применения персонализированной иммунотерапии утверждена на заседании Этического комитета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (протокол № 103 от 13.12.2010).

Содержание цитокинов (ФНО- α , ТФР- β 1) и нейтрофильных дефензинов HNP-1–3 в аутологичном комплексе определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы Bender MedSystem.

В ходе исследования контролировали динамику изменения носового дыхания, степени гипертрофии

Таблица. **Уровень экспрессии генов молекул врожденного иммунитета у здоровых детей и детей с гипертрофией аденоидных вегетаций**

Обследуемые группы	Уровень экспрессии генов, Ig (количество копий исследуемого гена) / Ig (1 млн копий гена актина)				
	TLR2	TLR4	TLR9	HBD-2	HNP-1
Здоровые дети	2,89 ± 1,05	3,10 ± 0,22	2,64 ± 0,37	3,73 ± 0,63	5,27 ± 0,43
Дети с аденоидными вегетациями	3,12 ± 0,63	4,27 ± 1,52	2,93 ± 0,59	3,94 ± 0,91	6,07 ± 0,37

глоточной миндалины, выявляли особенности заболеваемости в течение 6 мес до лечения и 6 мес после проведения иммунотерапии.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica v.9». Различия между группами оценивали с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни [7].

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе исследования проведена оценка показателей врожденного иммунитета слизистой оболочки полости носа у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций и у здоровых детей.

Определена экспрессия генов рецепторов, распознающих различные патогены, — так называемых Toll-like receptors (TLRs): TLR2, TLR4, TLR9, — и противомикробных пептидов (HBD-2, нейтрофильного пептида HNP-1). Результаты представлены в таблице.

Не выявлено достоверных отличий в показателях врожденного иммунитета у детей обследованных групп ($p > 0,05$). Наблюдалась лишь тенденция увеличения экспрессии генов TLR2, TLR4, TLR9 и противомикробных пептидов в слизистой оболочке полости носа под действием микроорганизмов у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций.

При анализе индивидуальных показателей выявлены следующие закономерности:

— экспрессия гена TLR2 была увеличена у 50% детей с гипертрофией аденоидных вегетаций, у 50% детей этот показатель не отличался от показателя группы здоровых детей;

— уровень экспрессии гена TLR4, распознающего липополисахарид грамотрицательных бактерий, был увеличен у всех детей с гипертрофией аденоидных вегетаций;

— экспрессия гена TLR9, распознающего нуклеиновые кислоты бактериального и вирусного происхождения, была снижена у 40% детей с гипертрофией аденоидных вегетаций.

На рис. 1 представлены в качестве примера индивидуальные данные экспрессии генов исследуемых молекул у двух пациентов основной группы.

Согласно медицинской технологии, для каждого пациента основной группы были получены аутологичные комплексы иммунопептидов (АКИ) [1].

В полученных АКИ оценивали содержание провоспалительного цитокина ФНО- α , противовоспалительного цитокина ТФР- β 1, нейтрофильных пептидов (HNP-1–3). Выявлены индивидуальные различия в концентрации иммунопептидов. Средние значения пептидов в АКИ составили: для ФНО- α — $3,9 \pm 2,8$ пг/мл, для ТФР- β 1 — $267,7 \pm 135,8$ пг/мл, для HNP-1–3 — $3500,2 \pm 500,1$ пг/мл.

Спустя 6 мес после иммунотерапии или стандартного лечения проведена оценка клинической эффективности проводимого лечения.

Анализ заболеваемости показал, что исходно, до лечения, в обеих группах наблюдались катаральные острые отиты — у 50% детей основной группы и 42,8% детей группы сравнения. Частота ОРВИ в обеих группах была сопоставима: 41,6% в основной группе и 42,8% в группе сравнения (рис. 2 А, Б).

В течение 6 мес после проведения иммунотерапии отмечено достоверное снижение частоты возникновения катаральных отитов. Только у одного ребенка основной группы был диагностирован катаральный отит (рис. 2 А). Сократилась частота ОРВИ в основной группе детей. За период наблюдения у 4 детей выявлено лишь по одному эпизоду ОРВИ. В группе сравнения выявлены 2–3 эпизода ОРВИ у 5 детей в течение 6 мес.

Затруднение носового дыхания отмечено у 58,3% (7) детей основной группы и у 57,1% детей группы сравнения. После проведенного лечения у детей обеих групп улучшилось носовое дыхание. Более значимое улучшение наблюдалось у детей, которым проводили иммунотерапию АКИ. Лишь у 3 детей (25%) этой группы сохранялось затруднение дыхания через нос.

После применения АКИ было отмечено снижение экспрессии генов молекул врожденного иммунитета у детей с исходно повышенными значениями этих показателей (рис. 1 А). Такое изменение может быть связано с ингибирующим влиянием ТФР- β 1, содержащегося в АКИ, на экспрессию генов TLRs. Согласно исследованиям T.Matsumura, ТФР- β 1 блокирует экспрессию рецептора IL-1R, что, в свою очередь, ведет

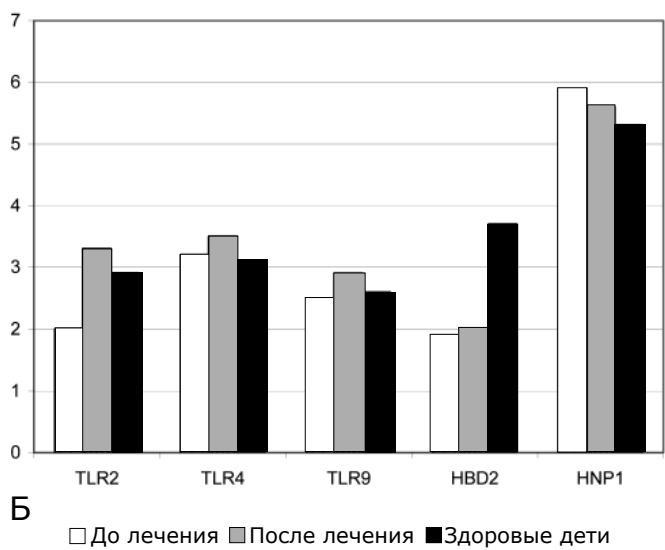
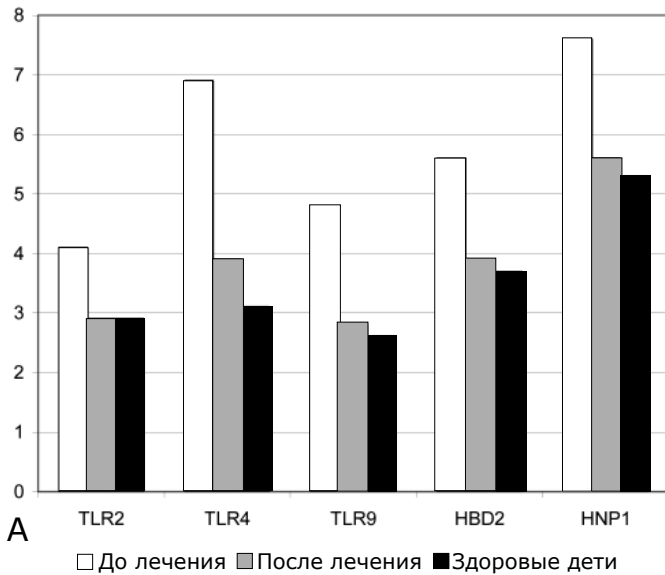


Рис. 1. Индивидуальные показатели экспрессии генов молекул врожденного иммунитета в слизистой оболочке полости носа у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций до и после лечения комплексом аутологических иммунопептидов

А. Показатели пациента с исходно повышенным уровнем экспрессии генов. Б. Показатели пациента с исходно сниженным уровнем экспрессии генов. По оси ординат — отношение десятичного логарифма количества копий гена к десятичному логарифму 1 млн копий гена актина

к снижению продукции ИЛ-1 и вследствие этого — к снижению экспрессии TLR [8]. При нормальном или сниженном уровне экспрессии генов молекул врожденного иммунитета применение АКИ увеличивало экспрессию этих генов (рис. 1 А). Экспрессия гена противомикробного пептида HBD2 снижалась в 1,5 раза по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,05$).

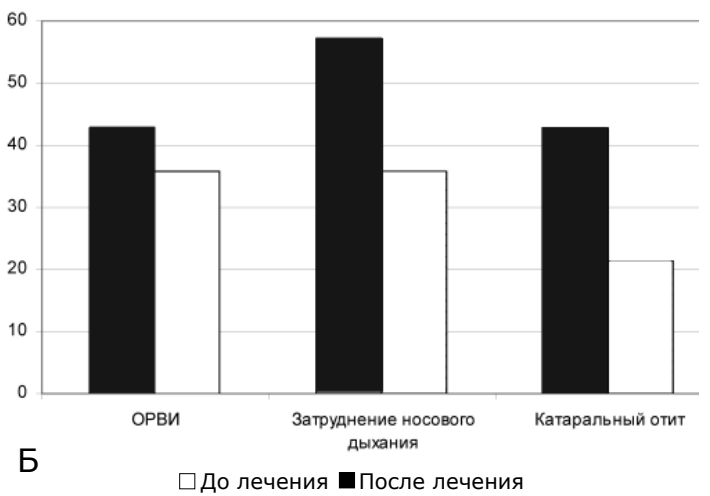
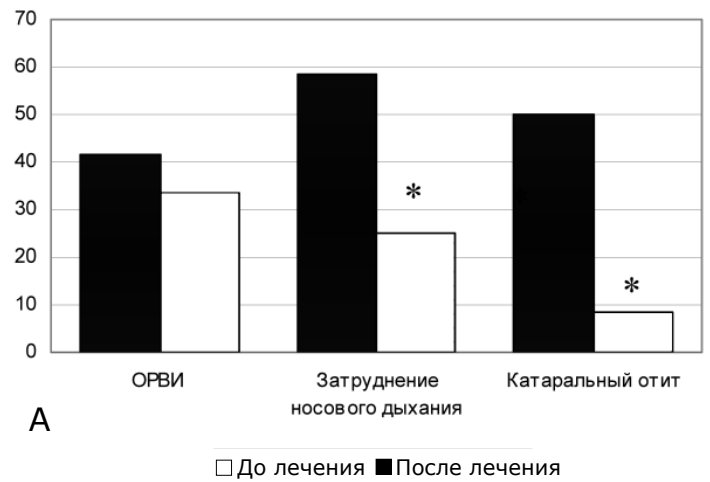


Рис. 2. Частота развития осложнений у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций до и после лечения

А. Проведение персонализированной иммунотерапии. Б. Общепринятое консервативное лечение. По оси ординат — доля детей, %. * — значение достоверно отличается от значения до лечения ($p < 0,05$)

Таким образом, комплекс цитокинов и противомикробных пептидов оказывал иммуномодулирующее действие на показатели врожденного иммунитета слизистой оболочки полости носа у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций [3, 9].

Выводы

1. Применение аутологичного комплекса иммунопептидов, включающего цитокины и противомикробные пептиды, вырабатываемые лейкоцитами пациента, приводило к нормализации носового дыхания, снижению частоты развития отитов и ОРВИ в течение 6 мес наблюдения после лечения.

2. Выявлены индивидуальные различия в экспрессии генов молекул врожденного иммунитета в слизистой оболочке полости носа у детей с гипертрофией

аденоидных вегетаций, что дает основание для персонализированного подхода к иммунотерапии.

Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Персонализированная медицина» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.

Литература

1. Хабриев Р.У., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Долгина Е.Н. Метод персонифицированной иммунотерапии (Медицинская технология). М.: ФС №2011/212 от 28.07.2011.
2. Снимщикова И.А. Иммунопатогенетическая и клиническая характеристика эффективности локальной иммунокоррекции при некоторых гнойно-воспалительных заболеваниях: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Курск, 2001. 42 с.
3. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Локальная иммунокоррекция цитокинами // Аллергол. и клин. иммунол. 1999. №1. С.64–71.
4. Вавилова В.П., Гаращенко Т.И. Квантовая терапия в комплексном лечении часто болеющих детей с хроническим аденоидитом. М.: ЗАО «Милта-ПКП ГИТ», 2009. 151 с.
5. Богомилский М.Р., Чистякова В.Р. Детская оториноларингология. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. 660 с.
6. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Игнатъева Г.А. Иммунология: Практикум. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С.169.
7. Крамер Г. Математические методы статистики. М.: Мир, 1975. С.55–67.
8. Matsumura T., Hayashi H., Takii T. et al. TGF- β down-regulates IL-1 α -induced TLR2 expression in murine hepatocytes // J. Leukoc. Biol. 2004 June. V.75. P.76–79.
9. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 640 с.

Информация об авторах:

Рахманова Ирина Викторовна, доктор медицинских наук, заведующая НИЛ клинической и экспериментальной детской оториноларингологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 236-4538
E-mail: irenalor@gmail.com

Свитич Оксана Анатольевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, ведущий научный сотрудник Центра персонализированной медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный пер., 5а
Телефон: (495) 674-5501
E-mail: svitichoa@yandex.ru

Зинкер Георгий Михайлович, кандидат медицинских наук, заведующий поликлиникой, руководитель амбулаторно-поликлинической службы Морозовской детской городской клинической больницы
Адрес: 117049, Москва, 4-й Добрынинский пер., 1
Телефон: (499) 764-5689

Ганковский Виктор Анатольевич, аспирант кафедры оториноларингологии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5467
E-mail: lgan@yandex.ru

Карташов Дмитрий Дмитриевич, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры общей и клинической иммунологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5467
E-mail: dmkartashov@yandex.ru

Волкова Юлия Валерьевна, студентка VI курса медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5467

Руссанова Ксения Владимировна, студентка VI курса медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5467

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Учебники и монографии

Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: Учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 640 с.

В основу учебника положен многолетний опыт преподавания современной общей и клинической иммунологии на кафедре иммунологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова и на кафедре клинической иммунологии и аллергологии Смоленской медицинской академии. Методология изложения материала построена на современных представлениях о том, что предмет клинической иммунологии – иммунная система организма, ее структурные и функциональные особенности в норме и при патологии. В связи с этим основное внимание уделяется изложению ключевых вопросов общей иммунологии, дающих знания об иммунной системе человека и ее врожденном и приобретенном компонентах, а также наиболее важных тем клинической иммунологии, включая иммунопатологию, оценку иммунного статуса человека, генетически опосредованные и приобретенные иммунодефициты, аллергические заболевания, иммунотерапию и иммунопрофилактику. Учебник предназначен для студентов медицинских вузов, клинических ординаторов, аспирантов, аллергологов-иммунологов.

Импульсная активность бульбарных кардиоваскулярных нейронов при гипоксии и гиперкапнии

С.Д.Михайлова¹, Т.М.Семущкина¹, А.В.Соколов¹, Н.П.Микаелян¹, Г.И.Сторожаков²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИЛ патологии сердечно-сосудистой системы, Москва (зав. лабораторией — проф. С.Д.Михайлова);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра госпитальной терапии №2 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — акад. РАМН, проф. Г.И.Сторожаков)

В острых опытах на кроликах была изучена импульсная активность афферентных и вставочных нейронов бульбарного сердечно-сосудистого центра при гипоксии и гиперкапнии. Афферентные нейроны получают информацию по миелинизированным волокнам блуждающих нервов и реагируют в трети случаев на гиперкапнию. Вставочные нейроны получают информацию одновременно по миелинизированным и немиелинизированным волокнам блуждающих нервов. Они реагируют как на гиперкапнию, так и на гипоксию.

Ключевые слова: импульсная активность, нейроны, продолговатый мозг, гипоксия, гиперкапния

Impulse activity of medullar cardiovascular neurons during hypoxia and hypercapnia

S.D.Mikhaylova¹, T.M.Semushkina¹, A.V.Sokolov¹, N.P.Mikaelian¹, G.I.Storozhakov²

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Cardiovascular System Pathology Research Laboratory, Moscow (Head of the Laboratory — Prof. S.D.Mikhaylova);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Hospital Therapy № 2 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Corr. Member of RAMS, Prof. G.I.Storozhakov)

In the acute experiments on rabbits there was discovered an impulse activity of afferent and interneurons of the medullar cardiovascular center in the conditions of hypoxia and hypercapnia. Afferent neurons received information on myelinated fibers of vagus nerve and caused reaction on hypercapnia in one per three cases. Interneurons received information simultaneously on both myelinated and unmyelinated fibers of vagus nerves. They reacted both on hypoxia and hypercapnia.

Key words: impulse activity, neurons, medulla, hypoxia, hypercapnia

Постоянство внутренней среды является необходимым условием для нормального течения метаболических реакций, лежащих в основе всех функций организма. Гомеостаз характеризуется наличием достаточно жестких показателей: осмотическое давление, pH, напряжение газов крови и др. Оптимальные уровни рО₂ и рСО₂ в организме достигаются интеграцией деятельности всех отделов дыхатель-

ной и сердечно-сосудистой систем, осуществляемой центральной нервной системой [1, 2]. На изменение газового состава крови реагируют, в первую очередь, артериальные хеморецепторы. Хеморецепторы, сигнализирующие о рО₂ в крови, сосредоточены, в основном, в двух рефлексогенных зонах: синокаротидной и аортальной. Синокаротидная рефлексогенная зона расположена справа и слева в области бифуркации общей сонной артерии, между наружной и внутренней сонными артериями. Афферентная импульсация от хеморецепторов этой зоны передается по нервным волокнам, входящим в состав нерва Геринга, являющегося ветвью языкоглоточного нерва. Аортальная рефлексогенная зона расположена вдоль дуги аорты: между правой подключичной и правой общей сонной артериями, между левой подключичной и левой общей сонной артериями, между аортой

Для корреспонденции:

Михайлова Софья Давыдовна, профессор, доктор медицинских наук, заведующая НИЛ патологии сердечно-сосудистой системы Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-2188

E-mail: dr.al.sokolov@gmail.com

Статья поступила 30.01.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

и легочной артерией. Аfferентная импульсация от рецепторов этой зоны передается по нервным волокнам, входящим в состав блуждающих нервов. На изменение $p\text{CO}_2$ крови реагируют хеморецепторы, расположенные в этих же рефлексогенных зонах. Хеморецепторы, воспринимающие изменения CO_2 спинномозговой и внеклеточной жидкости мозга, расположены в переднебоковой поверхности продолговатого мозга. Стимуляция периферических хеморецепторов двуокисью углерода происходит в 5 раз быстрее, чем центральных хеморецепторов. Артериальные хеморецепторы участвуют в регуляции и легочной вентиляции, и циркуляции крови, причем участие в регуляции кровообращения у аортальных хеморецепторов выражено больше [3, 4]. При некоторых заболеваниях сердечно-сосудистой системы выявлена повышенная хемочувствительность к CO_2 и гипоксии. Если на ранних стадиях таких заболеваний повышенная хемочувствительность к CO_2 и гипоксии является компенсаторным механизмом, то на поздних стадиях она может приводить к утяжелению патологического процесса за счет активации симпатико-адреналовой системы [5–8].

Учитывая важную роль бульбарного сердечно-сосудистого центра в регуляции кровообращения в норме и при патологии, была поставлена задача: изучить влияние гипоксии и гиперкапнии на импульсную активность аfferентных и вставочных бульбарных кардиоваскулярных нейронов и определить по каким типам волокон блуждающего нерва они получают информацию от рецепторов сердечно-сосудистой системы.

Материалы и методы

Опыты поставлены на 51 кролике массой 3–4 кг под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг внутривенно). Импульсную активность бульбарных кардиоваскулярных нейронов регистрировали внеклеточно стеклянными микроэлектродами, заполненными 2,5М раствором KCl. Поиск нейронов осуществляли по стереотаксическим координатам 2 мм роstralнее и каудальнее *овех* (нижний угол ромбовидной ямки). Функциональную принадлежность нейронов определяли по фоновой активности в соответствии с ранее описанными критериями [9].

Газовый состав крови определяли методом micro-Astrup с помощью системы MBS-3 – МК-2 фирмы Radometer Copenhagen. Забор артериальной крови осуществляли через катетер из бедренной артерии (по 0,4 мл максимально).

Охлаждение блуждающих нервов до 6 °С сопровождается выключением проведения возбуждения по миелинизированным волокнам. Охлаждение нервов до 0 °С приводит к блокаде проведения возбуждения и по немиелинизированным волокнам [10, 11]. Охлаждение блуждающих нервов проводили в шейном отделе с двух сторон при помощи датчиков с смонтированными в них термисторами и системы миниатюр-

ных трубочек, через которые циркулировала охлаждающая жидкость. Температуру охлаждения нервов регулировали изменением скорости потока охлаждающей жидкости с помощью винта.

Перепрезку нервов Геринга (*ramus caroticus nn. glossopharyngii*) осуществляли вблизи бифуркаций правой и левой сонных артерий.

Подачу газовых смесей: гипоксической (5% O_2 в азоте) и гиперкапнической (8% CO_2 в воздухе), — осуществляли в течение 40 с с помощью аппарата искусственного дыхания «Вита-1», соединенного посредством системы дозиметров с баллонами, заполненными N_2 , O_2 и CO_2 .

Во всех опытах непрерывно регистрировали нейrogramму, ЭКГ в I или II стандартном отведении, АД в сонной артерии прямым методом с помощью электроманометра ЕМТ-35. Регистрируемые параметры усиливались с помощью 4-канального миографа М-42. Была зарегистрирована импульсная активность 101 бульбарного кардиоваскулярного нейрона. Статистическая обработка данных производилась с использованием критерия Стьюдента. На проведение исследований получено разрешение этического комитета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (протокол № 93 от 09.11.2009 г.)

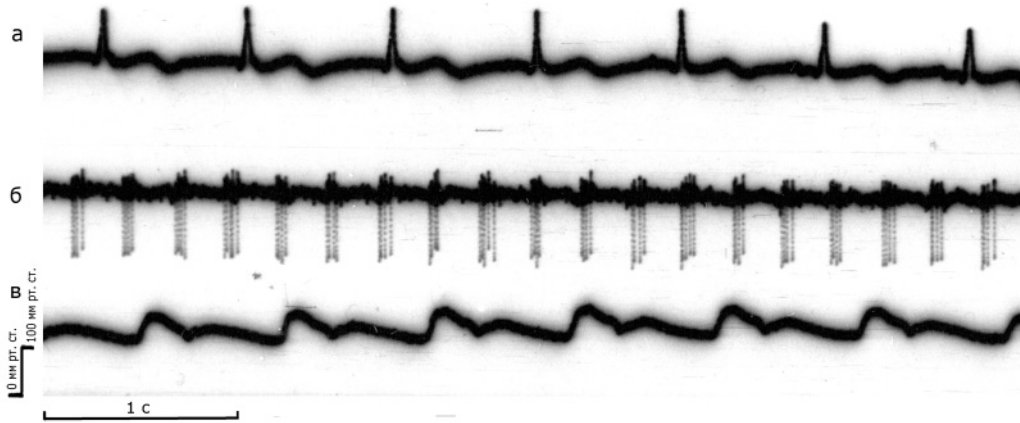
Результаты исследования и их обсуждение

Для решения поставленной задачи в 36 опытах была проанализирована импульсная активность 19 аfferентных и 46 вставочных нейронов бульбарного сердечно-сосудистого центра при вдыхании гипоксической (5% O_2 в азоте) и гиперкапнической (8% CO_2 в воздухе) газовых смесей, а также реакция этих нейронов на охлаждение блуждающих нервов до 6 °С и до 0 °С.

Исходное артериальное давление у животных этой группы составляло $149,5 \pm 7,8/102,3 \pm 6,5$ мм рт.ст., ЧСС — 79 ± 9 в минуту. При вдыхании газовых смесей не наблюдалось изменений гемодинамических параметров до 40 с от начала воздействия.

Аfferентные нейроны не изменяли импульсной активности при уменьшении содержания кислорода во вдыхаемом воздухе ($p < 0,01$). При увеличении содержания CO_2 во вдыхаемом воздухе изменения импульсной активности этих нейронов наблюдались лишь в 37% случаев (рис. 1). Латентный период реакции составлял $27,3 \pm 2,61$ с. Напряжение CO_2 в крови к этому моменту увеличилось на $27,5 \pm 0,5$ мм рт.ст. от исходного ($32,1 \pm 1,2$ мм рт.ст.). Не выявлено направленности реакции нейронов на это воздействие: их импульсная активность как учащалась, так и урежалась ($p > 0,5$). 84% зарегистрированных аfferентных нейронов уменьшили импульсную активность при охлаждении блуждающих нервов до 6 °С ($p < 0,05$) (рис. 2). Дальнейшее охлаждение нервов до 0 °С сопровождалось уменьшением активности 16% нейронов. Не зарегистрировано реакции одного и того же аfferентного нейрона на снижение температуры блуждающих нервов до 6 °С и 0 °С ($p < 0,01$).

А



Б

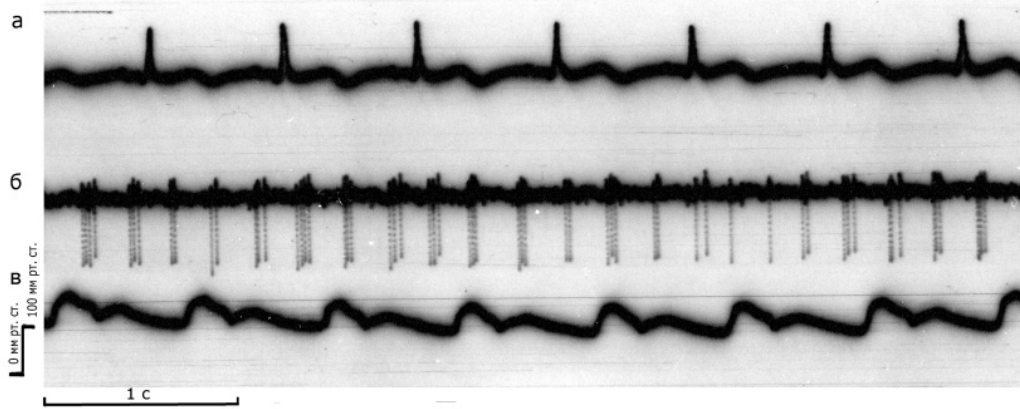


Рис. 1. Изменение импульсной активности афферентного бульбарного кардиоваскулярного нейрона при гиперкапнии. А — фон, Б — дыхание смесью 8% CO_2 в воздухе; а — ЭКГ, б — нейрограмма, в — артериальное давление

Таким образом, афферентные нейроны бульбарного сердечно-сосудистого центра не реагируют на гипоксию и менее половины их изменяют импульсную активность при гиперкапнии. Эти нейроны получают афферентную информацию, в основном, по миелинизированным волокнам блуждающих нервов.

Вставочные кардиоваскулярные нейроны изменяли импульсную активность при уменьшении содержания O_2 во вдыхаемом воздухе ($p < 0,01$) (рис. 3). Латентный период реакции составлял $18,34 \pm 1,18$ с. Напряжение O_2 в крови к этому времени уменьшилось на $29,3 \pm 0,3$ мм рт.ст. от исходного ($92,2 \pm 0,7$ мм рт.ст.). Они одинаково часто увеличивали и уменьшали активность ($p > 0,5$). Вставочные нейроны реагировали также на повышение содержания CO_2 во вдыхаемом воздухе ($p < 0,01$). Латентный период реакции составлял $18 \pm 2,1$ с. Напряжение CO_2 в крови в это время увеличилось на $17,5 \pm 0,2$ мм рт.ст. от исходного. В этих условиях их импульсная активность урежалась ($p < 0,01$) (рис. 3). Охлаждение

блуждающих нервов до 6°C сопровождалось изменением активности вставочных нейронов ($p < 0,01$) как в сторону ее уменьшения, так и увеличения ($p > 0,5$). Дальнейшее охлаждение блуждающих нервов до 0°C также сопровождалось изменением импульсной активности вставочных нейронов ($p < 0,01$) (рис. 4). Необходимо отметить, что, как правило, один и тот же нейрон изменял активность на охлаждение блуждающих нервов и до 6°C , и до 0°C ($p < 0,01$).

Таким образом, вставочные кардиоваскулярные нейроны изменяют импульсную активность и при гипоксии, и при гиперкапнии. Эти нейроны получают афферентную информацию как по миелинизированным, так и по немиелинизированным волокнам блуждающих нервов.

Итак, полученные результаты свидетельствуют о том, что вставочные кардиоваскулярные нейроны, в отличие от афферентных, изменяя импульсную активность как при гипоксии, так и при гиперкапнии, обладают высокой чувствительностью к изменению газового состава вдыхаемого воздуха.

Известно, что периферические хеморецепторы, реагирующие на изменение напряжения O_2 и CO_2 в крови, расположены в основном в аортальной и синокаротидной зонах. Для выяснения роли этих зон в изменении импульсной активности нейронов бульбарного сердечно-сосудистого центра необходимо было изучить их реакции на гипоксию и гиперкапнию при перерезанных нервах Геринга (ветвях языкоглоточного нерва), несущих информацию от хеморецепторов синокаротидной зоны. В связи с этим далее в 15 опытах была проанализирована импульсная активность 36 бульбарных кардиоваскулярных нейронов (15 афферентных и 21 вставочного) при вдыхании гипоксической и гиперкапнической газовых смесей в условиях перерезки нервов Геринга.

Исходное АД у животных этой группы составляло $147,8 \pm 10,1/100 \pm 7,9$ мм рт.ст., ЧСС — 80 ± 12 в

минуту. При вдыхании разных газовых смесей не наблюдалось изменений гемодинамических параметров до 37 с от начала воздействия.

Афферентные нейроны не изменяли импульсной активности при вдыхании животными гипоксической газовой смеси ($p < 0,05$). На увеличение CO_2 во вдыхаемом воздухе прореагировало 40% этих нейронов. Латентный период реакции составил $25 \pm 2,7$ с. Их импульсная активность одинаково часто увеличивалась и уменьшалась ($p > 0,5$).

Вставочные нейроны при уменьшении содержания O_2 во вдыхаемом воздухе в 48% случаев изменяли импульсную активность как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения ее ($p > 0,5$). Латентный период реакции составил $17,4 \pm 1,33$ с. При увеличении содержания CO_2 во вдыхаемом воздухе наблюдалась реакция 43% вставочных нейронов с латентным

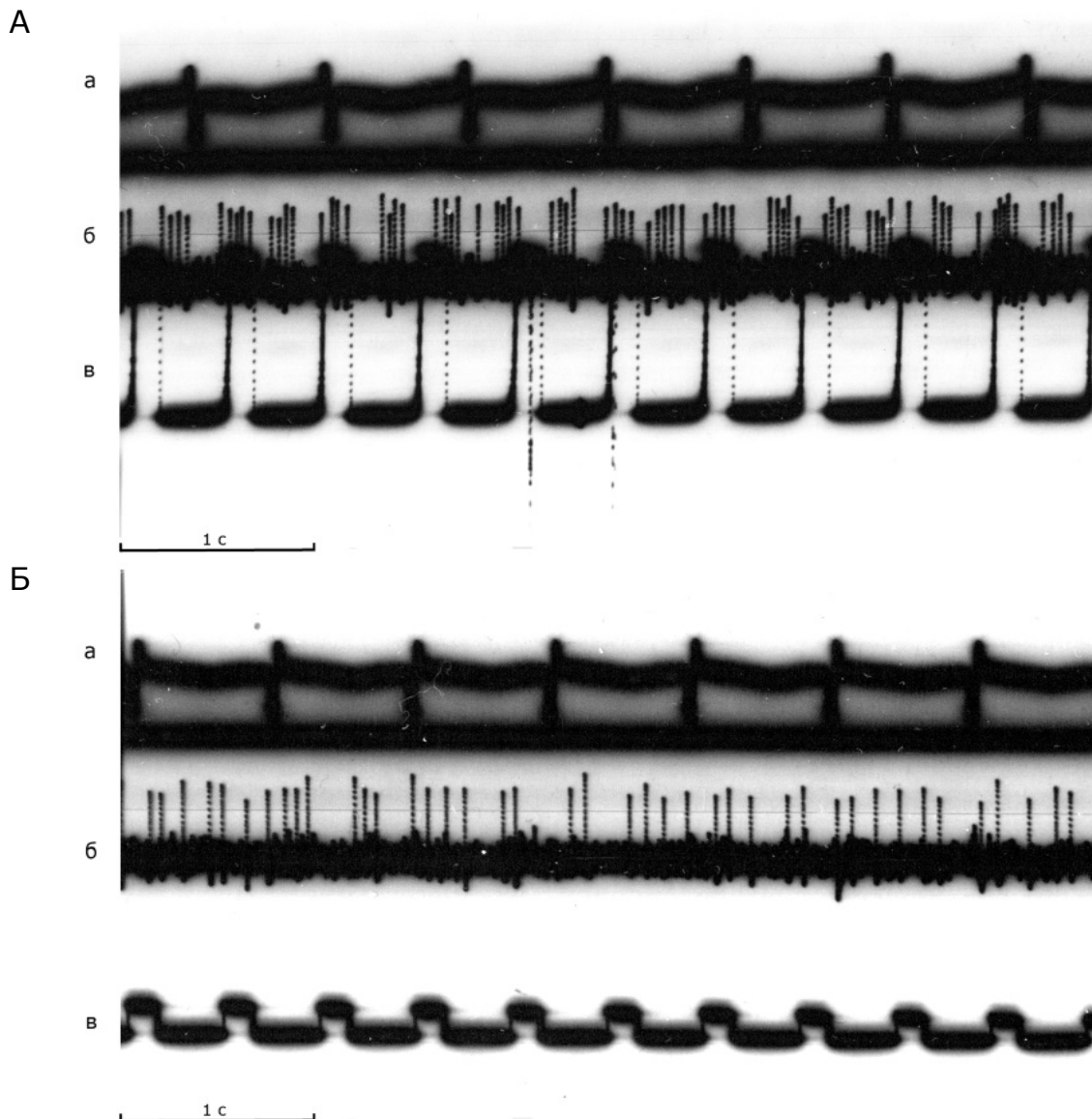


Рис. 2. Изменение импульсной активности афферентного бульбарного кардиоваскулярного нейрона при охлаждении блуждающих нервов. А — фон (37 °С), Б — охлаждение до 6 °С; а — ЭКГ, б — нейрограмма, в — термограмма

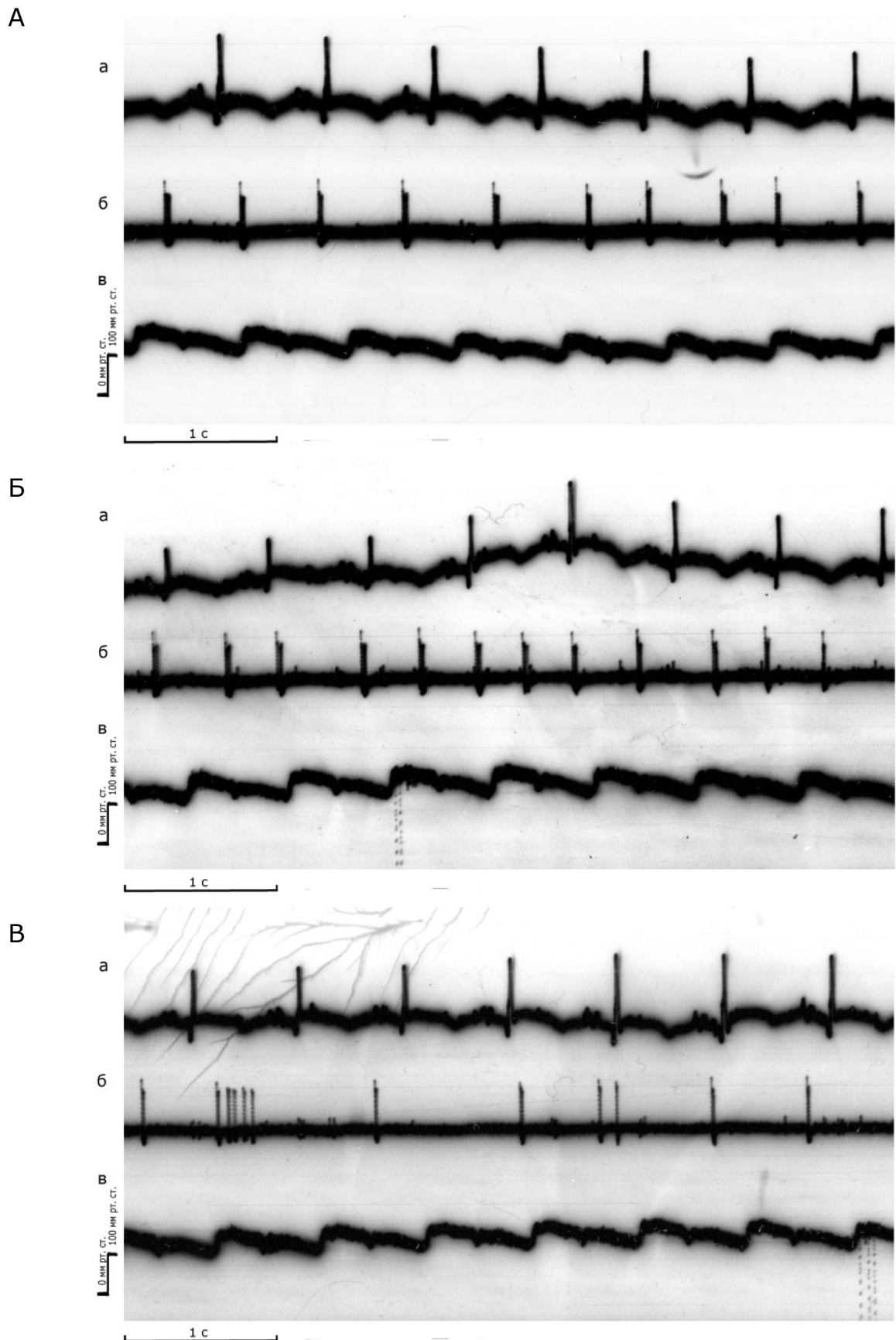
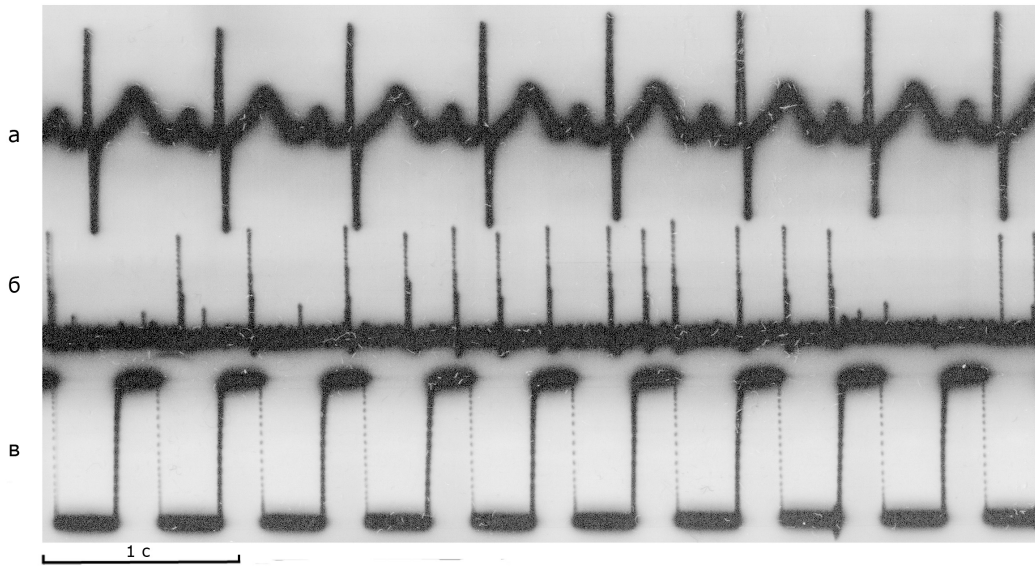
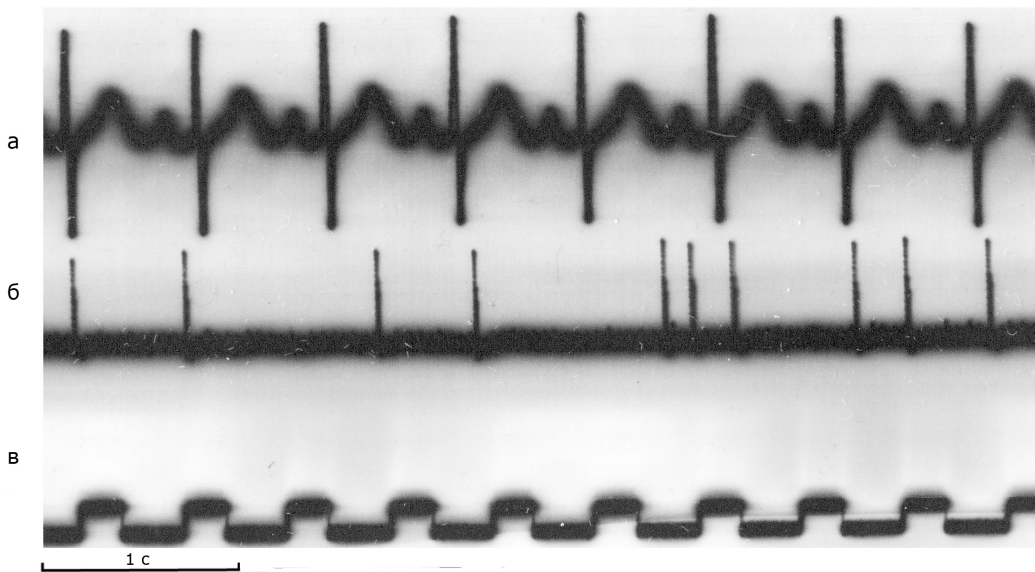


Рис. 3. Изменение импульсной активности вставочного бульбарного кардиоваскулярного нейрона при гипоксии и гиперкапнии. А — фон, Б — дыхание смесью 5% O₂ в азоте, В — дыхание смесью 8% CO₂ в воздухе; а — ЭКГ, б — нейрограмма, в — артериальное давление

А



Б



В

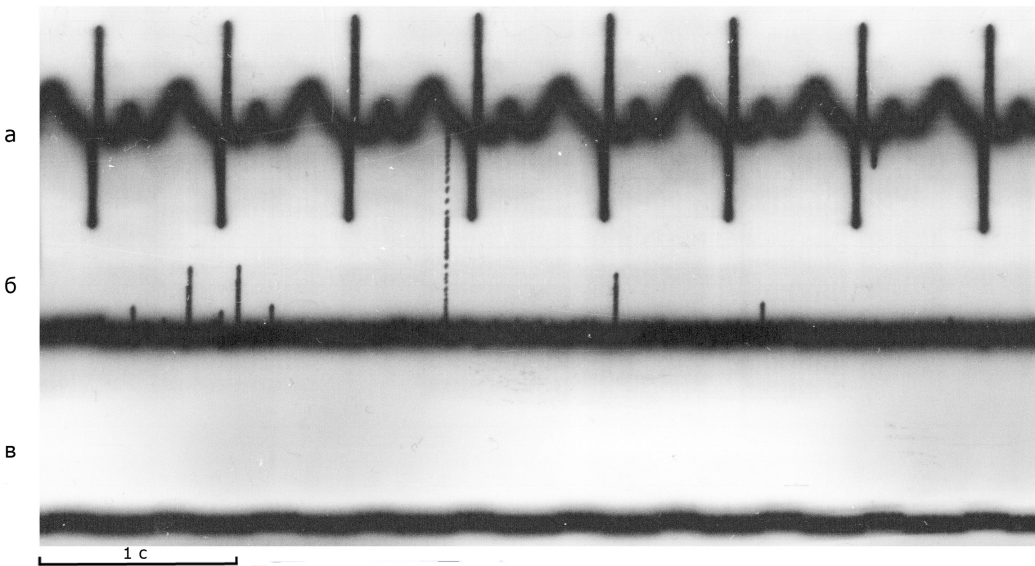


Рис. 4. Изменение импульсной активности вставочного бульбарного кардиоваскулярного нейрона при охлаждении блуждающих нервов. А — фон (37 °С), Б — охлаждение до 6 °С, В — охлаждение до 0 °С; а — ЭКГ, б — нейрограмма, в — термограмма

периодом $26 \pm 2,52$ с. Не выявлено направленности реакции нейронов на это воздействие: их импульсная активность как учащалась, так и урежалась ($p > 0,5$).

Таким образом, в условиях перерезки нервов Геринга афферентные кардиоваскулярные нейроны не изменяют импульсную активность при гипоксии. Гиперкапния приводит к изменению импульсной активности этих нейронов менее чем в половине случаев. В этих условиях вставочные кардиоваскулярные нейроны, как и афферентные, реагируют на гиперкапнию почти в половине случаев. Однако, в отличие от афферентных нейронов, они также в половине случаев реагируют и на гипоксию.

Заключение

Подытоживая полученные данные в целом, можно прийти к заключению, что перерезка нервов Геринга не влияет на чувствительность афферентных нейронов к гипоксии и гиперкапнии: не изменяется количество прореагировавших нейронов и длительность латентного периода реакции на гиперкапнию. Чувствительность же вставочных кардиоваскулярных нейронов к гипоксии и гиперкапнии меняется. Так, в условиях перерезки нервов Геринга количество вставочных нейронов, изменяющих импульсную активность при гипоксии, уменьшается в 2 раза. При гиперкапнии количество прореагировавших нейронов также сокращается вдвое. Кроме того, почти в 1,5 раза увеличивается латентный период реакции и исчезает ее направленность: нейроны как уменьшают, так и увеличивают импульсную активность. Подобная реакция нейронов была выявлена N.L.Nichols и соавт. в срезах мозга крыс на уровне солитарного тракта методом patch clamp в конфигурации *whole-cell* [12]. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что изменение активности вставочных нейронов бульбарного сердечно-сосудистого центра при изменении газового состава крови обусловлено информацией, поступающей к ним от хеморецепторов не только синокаротидной зоны, но и аортальной зоны. На это указывает наличие нейронов, реагирующих на гипоксию в условиях прекращения поступления к ним информации от хеморецепторов синокаротидной зоны. При гиперкапнии, информация к вставочным кардиоваскулярным нейронам поступает как от артериальных хеморецепторов, так и от центральных хеморецепторов. Изменения при гиперкапнии импульсной активности зарегистрированных нами афферентных нейронов обусловлены, по-видимому, информацией, поступающей к ним от центральных хеморецепторов. Отсутствие реакции этих нейронов на гипоксию может быть связано с тем, что они, в основном, получают информацию от рецепторов по толстым миелинизированным волокнам, в то время как информация от хеморецепторов передается по более тонким нервным волокнам [11, 13].

Литература

1. Powell F.L., Huey K.A., Dwinell M.R. Central nervous system mechanisms of ventilator acclimatization to hypoxia // *Respir Physiol.* 2000. V.121. P.223–236.
2. Li A., Emond L., Natti E. Brainstem catecholaminergic neurons modulated both respiratory and cardiovascular function // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2008. V.605. №10. P.371–376.
3. Comroe J.H. The peripheral chemoreceptors // *Handbook of Physiology. Sect. 3. Respiration.* V.1. Washington D.C., American Physiological Society. Baltimore, Md.: Distributed by Williams & Wilkins, 1964. P.557–583.
4. Савельев Н.К. К механизму реакции дыхания и тонуса сосудов конечности при гипоксии // *Вопросы регуляции дыхания и кислородного обеспечения организма.* Куйбышев: Изд-во Куйбышев. мед. ин-та, 1974. С.71–76.
5. Passino C., Giannoni A., Milli M. et al. Recent knowledges on chemosensitivity to hypoxia and hypercapnia in cardiovascular disease // *Recenti Prog Med.* 2010. V.101. №7–8. P.308–313.
6. Kara T., Narkiewicz R., Somers V.K. Chemoreflexes — physiology and clinical implications // *Acta Physiol. Scand.* 2003. V.177. №3. P.377–384.
7. Oikawa S., Hirakawa H., Kusakabe T. et al. Autonomic cardiovascular responses to hypercapnia in conscious rat: the roles of the chemo- and baroreceptors // *Autonomic Neurosci.* 2005. V.117. №2. P.105–114.
8. Steinback C.D., Salzer D., Medeiros P.J. et al. Hypercapnic vs. hypoxic control of cardiovascular, cardiovagal, and sympathetic function // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009. V.296. P.R402–R410.
9. Путьгина С.В., Михайлова С.Д., Косицкий Г.И. К характеристике нейронов бульбарного сердечно-сосудистого центра. М., 1985. (рукопись депонирована в ВИНТИ 10.03.1986 г., №1633-B86).
10. Franz D.N., Iggo A. Conduction failure in myelinated and non-myelinated axon at low temperatures // *J. Physiol. (London).* 1968. V.199. P.319–345.
11. Paintal A.S. Vagal sensory receptors and their reflex effects // *Physiol. Rev.* 1973. V.53. №1. P.159–227.
12. Nichols N.L., Wilkinson K.A., Powell F.L. et al. Chronic hypoxia suppresses the CO₂ response of solitary complex (Sc) neurons from rats // *Respir Physiol Neurobiol.* 2009. V.168. №3. P.272–280.
13. Donoghue S., Felder R.B., Jordan D., Spyer K.M. The central projections of carotid baroreceptors and chemoreceptors in the cat: a neurophysiological study // *J. Physiol. (London).* 1984. V.347. P.397–409.

Информация об авторах:

Семушкина Татьяна Михайловна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ патологии сердечно-сосудистой системы Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-2188

Соколов Александр Викторович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии, ведущий научный сотрудник НИЛ патологии сердечно-сосудистой системы Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-2188
E-mail: dr.al.sokolov@gmail.com

Микаелян Нина Погосовна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник НИЛ патологии сердечно-сосудистой системы Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-2188

Сторожаков Геннадий Иванович, академик РАН, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии № 2 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4656

Влияние криоглобулинов на электрофоретическую подвижность эритроцитов при различных заболеваниях

Н.А.Константинова, И.Ю.Куликова, Е.Н.Карандашов

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра экспериментальной и теоретической физики медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. Н.А.Константинова)

Исследовали температурную зависимость электрофоретической подвижности эритроцитов, нагруженных криоглобулинами, выделенными из сыворотки крови больных с различными заболеваниями и с различными формами одного заболевания (системная красная волчанка, хронический гломерулонефрит, атеротромботический и кардиоэмболический варианты инсульта). Эритроциты получали из крови здоровых доноров. Установлено, что криоглобулины существенно изменяют электрофоретическую подвижность эритроцитов. Это изменение может быть разнонаправленным: как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения, — в зависимости от природы заболевания и формы его проявления. Показано, что комплексы криоглобулинов распадаются при повышении температуры. Сделан вывод, что электрофоретический метод оценки криокомплексов является достаточно информативным, в частности, позволяет оценить степень их гетерогенности.

Ключевые слова: криоглобулины, криокомплексы, криопреципитат, электрофоретическая подвижность эритроцитов, системная красная волчанка, хронический гломерулонефрит, атеротромботический инсульт, кардиоэмболический инсульт

Effect of cryoglobulins on electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases

N.A.Konstantinova, I.Yu.Kulikova, E.N.Karandashov

The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Experimental and Theoretical Physics of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. N.A.Konstantinova)

The temperature dependence of the electrophoretic mobility of erythrocytes loaded with cryoglobulins, isolated from serum of patients with various diseases and different forms of a disease (systemic lupus erythematosus, chronic glomerulonephritis, atherothrombotic and cardioembolic ischemic stroke options) was investigated. Erythrocytes were obtained from healthy donors' blood. It was established that cryoglobulins significantly changed electrophoretic mobility of erythrocytes. This change may be in different directions: both upward and downward, depending on the nature of the disease and forms of its manifestation. It was shown that cryoglobulins complexes decompose at elevated temperatures. It was concluded that the electrophoretic method for estimating cryocomplexes is quite informative, in particular, to assess the extent of their heterogeneity.

Key words: cryoglobulins, cryocomplexes, cryoprecipitate, electrophoretic mobility of red blood cells, systemic lupus erythematosus, chronic glomerulonephritis, atherothrombotic stroke, cardioembolic stroke

Криоглобулины (КГ) — это иммуноглобулины с аномальной температурной растворимостью, преципитирующие и образующие криокомплексы (КК) при снижении температуры. Криоглобулины обнаруживают в крови при заболеваниях самой различной этиологии: аутоиммунной, лимфопролиферативной, инфекционной и др. [1]. В последние годы показано, что криоглобулины принимают активное участие в процессах сердечно-сосудистых повреждений при инфаркте и инсульте [2, 3].

Для корреспонденции:

Константинова Нелля Александровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой экспериментальной и теоретической физики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 246-8771

Статья поступила 17.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

Существующие в настоящее время экспериментальные данные о физико-химических и биологических свойствах криоглобулинов не имеют однозначной трактовки и не укладываются в существующие концепции.

Вместе с тем установлено, что высокий уровень криоглобулинов в крови даже при нечетко выраженной патологии — это признак скрытых аутоиммунных процессов, протекающих в организме, которые могут при определенных условиях привести к развитию заболевания с тяжелейшими клиническими проявлениями [2, 3]. Именно поэтому дальнейшее изучение структурных и физико-химических свойств криобелков и их комплексов представляется чрезвычайно важным и актуальным.

Цель исследования — изучить влияние криоглобулинов, полученных из сыворотки крови больных с различной патологией, на электрофоретическую подвижность эритроцитов при изменении температуры.

Материалы и методы

В исследование были включены больные системной красной волчанкой (СКВ — 12 человек), хроническим гломерулонефритом (ХГН — 16 человек), а также больные с атеротромботическим инсультом (АТИ — 18 человек) и кардиоэмболическим инсультом (КЭИ — 14 человек). Клиническое обследование больных СКВ и ХГН проводили на базе отделения нефрологии Клиники нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М.Тареева Первого МГМУ им. И.М.Сеченова. Обследование больных с инсультами и забор биологических образцов выполняли на кафедре фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии РНИМУ им. Н.И.Пирогова.

Криоглобулины выделяли из сыворотки крови больных по стандартной методике [4]. Эритроциты получали из крови здоровых доноров также по стандартной методике.

Для количественной оценки образующегося при различных температурах криопреципитата использовали спектрофотометрический метод А.Е.Каловидорюс в модификации Н.А.Константиновой [5]. Измерения проводили на спектрофотометре «Cary-50» (США) при длине волны 280 нм, в расчетах использовали коэффициент экстинкции 1,4.

Зарядовые характеристики криокомплексов оценивали по изменению электрофоретической подвижности (ЭФП) эритроцитов человека, нагруженных КГ, относительно ЭФП ненагруженных эритроцитов. ЭФП измеряли с помощью цитоферометра «Opton» (Германия) при токе электрофореза 8 мА и температурах 4 и 37 °С [6]. Эритроциты, нагруженные КГ, хранили не более 1 нед после взятия крови в растворе Олсвера с добавлением азида натрия в конечной концентрации 0,1%. Нагрузку эритроцитов КГ проводили путем их инкубации при 4 °С в течение 4 ч при конечной концентрации криобелков в растворе не менее 30 мкг/мл. В каждой пробе регистрировали 50 клеток и определяли среднее значение ЭФП.

Для статистической обработки данных использовали программу «Statsoft Statistica 6.0». Для сравнения полученных значений ЭФП и определения статистически достоверных различий между ними использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Выбор данного критерия был обусловлен невозможностью проверки нормальности распределения вследствие малого объема выборки.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования ЭФП нагруженных криобелками эритроцитов, проведенные при 4 °С, показали, что характер изменений этого показателя относительно ЭФП ненагруженных эритроцитов зависит от заболевания. Как видно на рис. 1, КГ, выделенные при ХГН в большей степени изменяют ЭФП эритроцитов, чем КГ, выделенные из сыворотки крови больных СКВ. Однако в обоих случаях нагружение эритроцитов КГ

уменьшало их суммарный поверхностный заряд. При нагружении эритроцитов КГ, выделенными из сыворотки крови больных с изучаемыми вариантами ишемического инсульта (АТИ и КЭИ), наблюдался противоположный эффект: ЭФП нагруженных эритроцитов увеличивалась по сравнению с контролем. Это говорит о том, что общий электростатический заряд нагруженных эритроцитов увеличивался.

При увеличении температуры до 37 °С наблюдалось повышение ЭФП эритроцитов, нагруженных КГ, относительно аналогичного показателя, полученного при 4 °С. Это повышение было характерно для всех групп больных, однако его степень была различной. Так, в случае СКВ ЭФП эритроцитов увеличилась в 1,24 раза, в случае ХГН — в 2,28 раза, при АТИ выявлено увеличение в 1,19 раза, при КЭИ — в 1,28 раза.

Полученные результаты свидетельствуют в первую очередь о том, что КГ при исследуемых нами патологиях по своей природе различны. Специфический характер наблюдаемых изменений ЭФП эритроцитов, нагруженных криобелками, определяется главным образом составом, надмолекулярной структурой сформированных при понижении температуры КК, конформационными перестройками, протекающими в КК на поверхности эритроцита. Наблюдаемый рост значений ЭФП нагруженных криобелками эритроцитов при увеличении температуры может быть обусловлен тем, что в процессе распада КК при нагревании отрицательно заряженные компоненты КК остаются на мембране эритроцита, увеличивая его

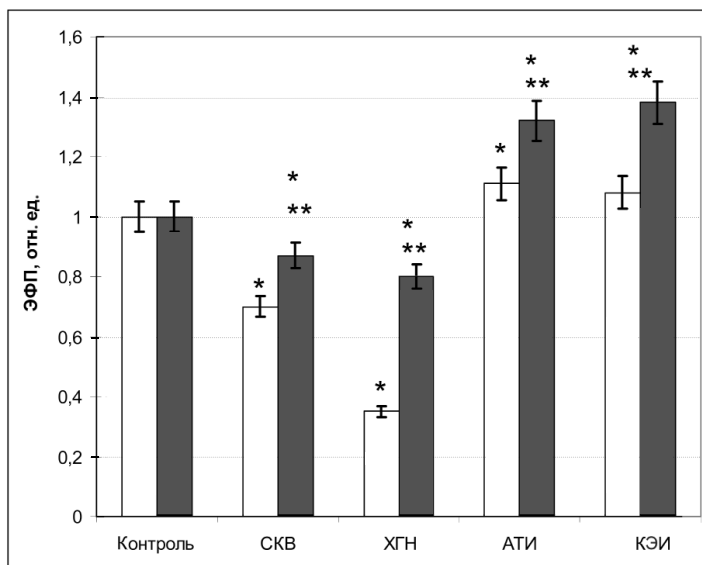


Рис. 1. Зависимость от температуры ЭФП эритроцитов, нагруженных КГ, выделенными из сыворотки крови больных с различными заболеваниями

Светлые столбики — 4 °С, темные — 37 °С. Контроль — ненагруженные эритроциты; СКВ — эритроциты, нагруженные КГ больных системной красной волчанкой, ХГН — хроническим гломерулонефритом, АТИ — атеротравматическим инсультом, КЭИ — кардиоэмболическим инсультом. * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем, ** — $p < 0,05$ при сравнении с показателем при 4 °С

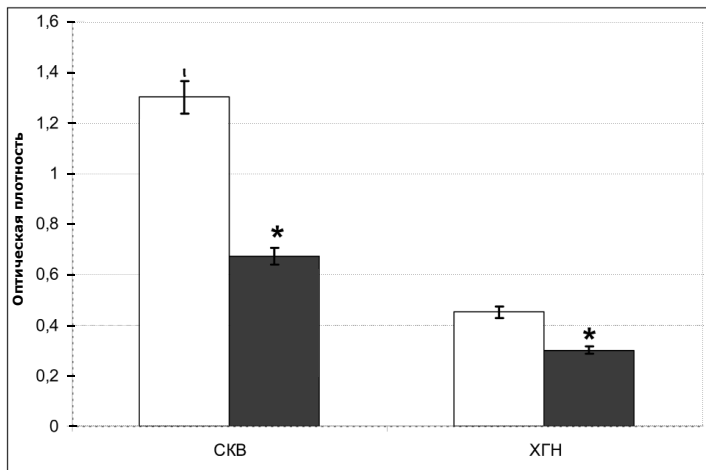


Рис. 2. Зависимость от температуры оптической плотности раствора КГ, выделенных из сыворотки крови больных системной красной волчанкой и хроническим гломерулонефритом
Светлые столбики — 4 °С, темные — 37 °С.

* — $p < 0,05$ при сравнении с показателем при 4 °С

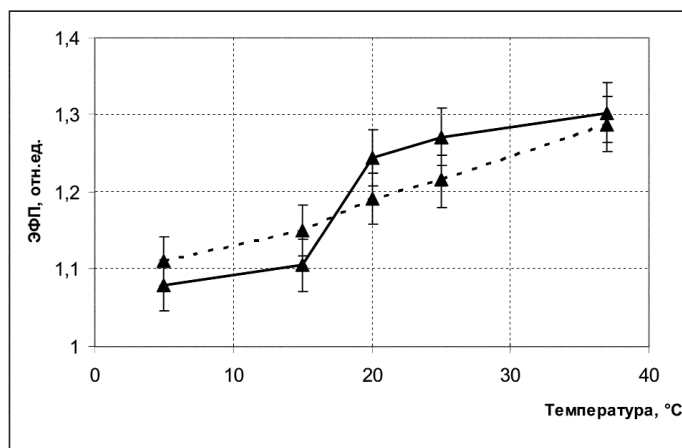


Рис. 3. Зависимость ЭФП эритроцитов, нагруженных КГ, выделенными из сыворотки крови больных с ишемическим инсультом
Сплошная линия — АТИ, прерывистая — КЭИ

отрицательный заряд, а также тем, что суммарный поверхностный заряд КК может перераспределяться за счет конформационных изменений.

Влияние температуры на структуру КК оценивали по изменению оптической плотности раствора КГ, выделенных из крови больных СКВ и ХГН (рис. 2). Увеличение температуры от 4 до 37 °С приводило к двукратному уменьшению оптической плотности раствора КК, которая характеризует размер иммунных комплексов. Таким образом, при повышении температуры КК распадаются. Однако часть компонентов КК может оставаться на мембране эритроцитов, что проявляется изменением их ЭФП.

Результаты исследования температурной зависимости ЭФП эритроцитов, нагруженных КК при 4 °С, выделенными из крови больных АТИ и КЭИ в острой

стадии заболевания, представлены на рис. 3. Видно, что полученные зависимости различаются по своему характеру. Если для АТИ кривая имеет S-образный характер с областью резкого изменения ЭФП в диапазоне температур от 15 до 20 °С, то аналогичная зависимость для КЭИ имеет линейный характер. Следовательно, КК при АТИ и КЭИ имеют различную природу. Кроме того, линейная зависимость от температуры ЭФП эритроцитов, нагруженных КК из крови больных с АТИ, свидетельствует о большей гетерогенности последних по сравнению с КК из крови больных с КЭИ. Таким образом, КК различаются не только в зависимости от патологии, но и в рамках одной патологии при разных формах ее проявления.

Выводы

1. Криоглобулины и их комплексы существенно изменяют ЭФП эритроцитов. Это изменение может быть разнонаправленным: как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения, — в зависимости от природы заболевания и формы его проявления.

2. При повышении температуры криокомплексы, связанные с поверхностью эритроцита, распадаются, но некоторые их компоненты остаются связанными с мембраной эритроцита.

3. Электрофоретический метод оценки криокомплексов является достаточно информативным, позволяет оценить степень их гетерогенности.

Литература

- Chan A.O., Lau J.S., Chan C.H., Shek C.C. Cryoglobulinemia: clinical and perspectives // Hong Kong Med. J. 2008 Feb. V.14 (1). P.55–59.
- Скворцова В.И., Константинова Н.А., Комаров А.Н. и др. Криоглобулинемия в патогенезе острого ишемического инсульта // Инсульт. Приложение к журналу «Неврология и психиатрия им. Н.И.Корсакова». 2004. №3. С.136–139.
- Vital A., Favereaux A., Martin-Dupont P. et al. Anti-myelin-associated glycoprotein antibodies and endoneurial cryoglobulin deposits responsible for a severe neuropathy // Acta Neuropathol (Berl). 2001. V.102. P.409–412.
- Чернохвостова Е.В., Баталова Г.Б. Выявление криоглобулинемии и определение ее типа // Тер. архив. 1977. №8. С.69–76.
- Константинова Н.А. Оценка криоглобулинов в сыворотке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов // Лаб. дело. 1988. №11. С.62–65.
- Константинова Н.А., Куликова И.Ю. Применение цитоферометра для определения зарядовых характеристик криопреципитатов // Мед. физ. 1995. №2. С.96–98.

Информация об авторах:

Куликова Ирина Юрьевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры экспериментальной и теоретической физики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 246-8771

Карандашов Евгений Николаевич, заведующий лабораторией кафедры экспериментальной и теоретической физики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 246-8771

Лечение плацентарной недостаточности препаратом природного происхождения в эксперименте

Л.И.Ильенко¹, Е.Н.Гужвина³, Е.Л.Туманова²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. Л.И.Ильенко);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра патологической анатомии №2 педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. Е.Л.Туманова);

³Астраханская государственная медицинская академия, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета (зав. кафедрой — проф. С.П.Синчихин)

Представлены экспериментальные данные о влиянии антигомотоксического препарата «Траумель С» на строение и функцию плаценты в физиологических условиях и при хронической гипоксии. Эксперименты выполнены на 60 лабораторных беспородных крысах-самках, разделенных на четыре группы. Первая группа ($n = 10$) была контрольной. Животные 2-й группы ($n = 20$) подвергались гипоксии с 10-го по 22-й день беременности и в эти же сроки получали препарат «Траумель С» по 0,2–0,3 мл внутримышечно через день. Животные 3-й группы ($n = 20$) подвергались гипоксии, но не получали препарата. Четвертая группа крыс ($n = 10$) получала препарат, но не подвергалась гипоксии. На 22–23-й день беременности проводили эвтаназию крыс и выполняли гистологическое исследование плацент. Применение препарата «Траумель С» во время беременности, протекающей на фоне гипоксии, оказывает положительное влияние на формирование плаценты, стимулирует развитие в ней компенсаторно-приспособительных процессов.

Ключевые слова: плацента, хроническая гипоксия, эксперимент, крысы, Траумель С

The treatment of the placental insufficiency by a preparation of natural origin in the experiment

L.I.Ilyenko¹, E.N.Guzhvina³, E.L.Tumanova²

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Hospital Pediatrics № 2 of Pediatric Faculty, Moscow

(Head of the Department — Prof. L.I.Ilyenko);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Pathological Anatomy № 2 of Pediatric Faculty, Moscow

(Head of the Department — Prof. E.L.Tumanova);

³Astrakhan State Medical Academy, Department of Obstetrics and Gynecology of Medical Faculty, Astrakhan (Head of the Department — Prof. S.P.Sinichikhin)

The article deals with the experimental data on the effect of the antihomotoxic preparation «Traumeel S» on the structure and function of the placenta in physiological conditions and in case of chronic hypoxia. The experiments were performed on 60 laboratory non-stock female rats, divided into four groups. The first group ($n = 10$) served as a control one. Animals in group 2 ($n = 20$) were subjected to hypoxia from the 10th to the 22nd day of gestation, at the same time receiving «Traumeel S» of 0.2–0.3 ml intramuscular injection every other day. Animals of group 3 ($n = 20$) were subjected to hypoxia, but they did not receive the preparation. The 4th group of rats ($n = 10$) received the preparation but was not exposed to hypoxia. On the 22nd — 23rd day of pregnancy there was undertaken euthanasia to the rats and then histological examination of placentas was performed. The use of «Traumeel S» during pregnancy on the phone of hypoxia has a positive effect on the formation of the placenta, it stimulates the development of compensatory-adaptive processes in it.

Key words: placenta, chronic hypoxia, experiment, rats, Traumeel S

Для корреспонденции:

Гужвина Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Астраханской государственной медицинской академии

Адрес: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121

Телефон: (8512) 33-1420

E-mail: egughvina@mail.ru

Статья поступила 10.04.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

В настоящее время механизмы действия гипоксии на клетки организма изучены достаточно хорошо. В результате гипоксического воздействия изменяется нормальный баланс нейромедиаторов (глутамата, дофамина, серотонина, ацетилхолина и др.) и продуктов их обмена в особо чувствительных

структурах мозга, нарушаются структурно-функциональные свойства клеточных мембран, что само по себе может приводить к гибели клеток [1]. Кроме того, гипоксия изменяет работу генетического аппарата клетки [2] и может инициировать транскрипцию специфических генов, ответственных за программируемую гибель клетки [3, 4].

Экспериментальные исследования на животных показали, что пренатальная гипоксия, как и материнский стресс, приводит к нарушению формирования поведенческих реакций, развитию повышенной двигательной активности, ослаблению способности к обучению, снижению массы тела у потомства. Кислородная недостаточность в период беременности снижает адаптационные возможности в постнатальном периоде, обуславливая гибель или рождение физиологически незрелого и отстающего в развитии потомства с выраженными и долгосрочными неврологическими осложнениями [2, 5].

Весьма актуальной остается проблема внедрения методов воздействия на мать и плод, снижающих медикаментозную нагрузку. Среди них следует отметить регулирующие методы лечения, основанные на синтезе современных достижений медицины и гомеопатического подхода к лечению больных. К таким методам относится антигомотоксическая терапия, базирующаяся на принципах гомотоксикологии. Высокая эффективность антигомотоксических препаратов, их безопасность (отсутствие побочных и аллергических реакций), отсутствие противопоказаний и возрастных ограничений позволяют широко использовать их у беременных женщин и новорожденных детей [6].

К числу наиболее широко используемых антигомотоксических препаратов относится комплексный препарат «Траумель С», созданный на основе натуральных компонентов и обладающий выраженным противовоспалительным, антиэкссудативным действием. Он улучшает процессы микроциркуляции в любом органе и системе, мягко воздействует на иммунную систему. Данное лекарственное средство хорошо сочетается с другими антигомотоксическими препаратами, что повышает общую терапевтическую эффективность клинического применения препарата «Траумель С» [7].

Определенный интерес представляет изучение в эксперименте изменений в тканях плаценты у беременных крыс под влиянием препарата «Траумель С» на фоне хронической гипоксии.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 60 беременных лабораторных беспородных крысах-самках, разделенных на четыре группы. Первая группа ($n = 10$) была контрольной. Животные 2-й группы ($n = 20$) подвергались гипоксии с 10-го по 22-й день беременности и в эти же сроки получали препарат «Траумель С» по 0,2–0,3 мл внутримышечно через день. Животные 3-й группы ($n = 20$) также подвергались гипоксии, но не

получали препарата. Четвертая группа крыс ($n = 10$) получала препарат, но не подвергалась гипоксии.

Гипоксию моделировали в барокамере проточного типа объемом 10 л. Крыс 2-й и 3-й групп поднимали на высоту 6000 м со скоростью 50 м/с. Скорость подъема оценивали с помощью самолетного альтаметра и высотометра. Экспозиция на высоте составляла 2 ч. Поглотителем CO_2 служил 40% раствор КОН.

Перед началом эксперимента животных содержали в карантине в течение 1 мес с обязательным клиническим обследованием и выбраковкой подозрительных на заболевание особей. Протокол экспериментов в разделах выбора, содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения животных из опыта был составлен в соответствии с принципами биоэтики и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» [8].

На 22–23-й день беременности самок подвергали эвтаназии путем внутривенного введения этилнатрия в дозе 40 мг/кг массы тела. Затем проводили гистологическое исследование плацент. Материал был законсервирован в 10% растворе формалина. После стандартной гистологической обработки ткань была залита в парафин. Изготовленные с парафиновых блоков препараты были окрашены гематоксилином и эозином. Полученные серийные срезы были изучены под световым микроскопом. Гистологическое исследование материала выполнено на кафедре патологической анатомии РНИМУ им. Н.И.Пирогова.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При гистологическом исследовании ткани плаценты экспериментальных животных были обнаружены все слои, присутствующие в крысиной хориоаллантоисной плаценте в норме (рис. 1).

Основным по толщине слоем плаценты был лабиринтный слой, в котором наблюдали большое количество резко полнокровных анастомозирующих сосудов. Следующим по выраженности был спонгиозитрофобласт,

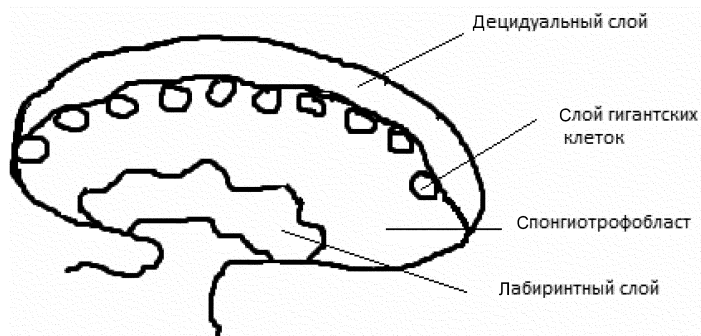


Рис. 1. Схематическое изображение слоев плаценты крысы

Таблица. Толщина слоев плаценты у экспериментальных крыс (мкм, $M \pm m$)

Группа	Плацента	Слои плаценты		
		лабиринтный	спонгиотрофобласт	децидуальный
1-я (контрольная)	2546,91 ± 177,51	1933,80 ± 213,40	461,39 ± 66,67	151,72 ± 35,60
2-я (гипоксия + Траумель С)	2093,05 ± 258,40	1391,32 ± 179,01*	529,41 ± 122,50	172,32 ± 36,18
3-я (гипоксия)	1677,62 ± 140,35**	972,69 ± 141,02**	442,45 ± 48,37	262,48 ± 47,69*
4-я (Траумель С)	2787,76 ± 199,79	2065,71 ± 185,10	569,18 ± 145,24	152,34 ± 37,00

* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$ по отношению к контролю

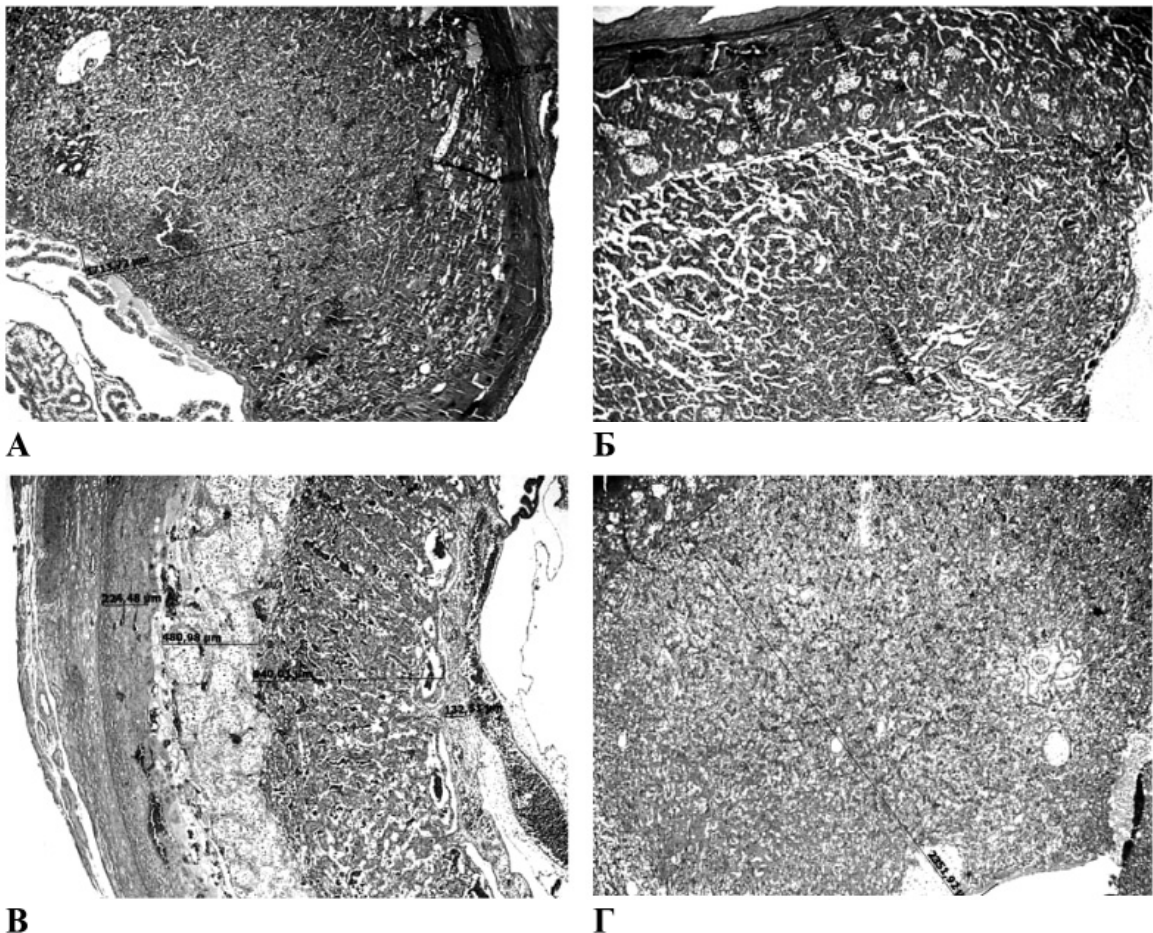


Рис. 2. Плацента экспериментальных крыс на 22-й день беременности

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100. А — плаценты крысы 1-й (контрольной) группы: слой лабиринта, спонгиотрофобласт, децидуальный слой. Б — плацента крысы 2-й группы (гипоксия + Траумель С), имеет схожее строение с контролем, слой лабиринта несколько истончен. В — плацента крысы 3-й группы (гипоксия), отмечаются уменьшение толщины плаценты, в основном ее лабиринтного слоя, и гиперплазия децидуальной оболочки. Г — плацента крысы 4-й группы (Траумель С), не отличается от контрольного образца

в котором определяли компактно расположенные скопления базофильных клеток. Клетки спонгиотрофобласта окружали сливающиеся очаги округлой и неправильной формы, представленные светлыми клетками с пикнотичным ядром и расширенными полнокровными сосудами с тонкой стенкой. Децидуальный

слой — самый периферический слой плацентарной ткани — был представлен тонкой прослойкой преимущественно уплощенных децидуальных клеток. Слой хориальной пластинки был не всегда хорошо различим. В нем определяли отечную волокнистую ткань с крупными полнокровными сосудами.

Анализ полученных гистологических препаратов позволил определить изменения структуры плаценты и толщины ее слоев у экспериментальных крыс, подвергнутых гипоксии (рис. 2, таблица).

Выявлено достоверное уменьшение по сравнению с контролем толщины плаценты в 3-й группе наблюдения (на 34,1%), в 2-й группе была отмечена тенденция к уменьшению толщины плаценты, однако статистически значимых различий этого показателя с показателем контрольной группы не обнаружено.

Показано влияние гипоксии на толщину лабиринтного слоя плаценты: она была меньше контрольной в 1,5 и 2 раза во 2-й и 3-й группах соответственно. Известно, что слой лабиринта является основным и крайне важным для снабжения эмбриона питательными веществами и осуществления газообмена.

Слой спонгиозной оболочки в меньшей степени влияет на процессы обмена веществ [9]. Его толщина находилась в пределах 400–600 мкм. Минимальные значения были получены в 3-й группе животных, а максимальные — в 4-й группе, однако достоверных различий в толщине спонгиозной оболочки между группами не выявлено.

Толщина децидуальной ткани варьировала в пределах от 150 до 300 мкм. Максимальной толщиной децидуального слоя была в 3-й группе, при этом она достоверно отличалась от контроля. В трех других группах толщина децидуального слоя была приблизительно одинаковой.

Максимальная толщина хориальной пластинки (при возможности проведения измерений) составила 235,76 мкм, минимальная — 132,51 мкм. Провести измерения удалось не во всех случаях. Подобную ситуацию наблюдали и в отношении слоя гигантских клеток. Это было связано с тем, что указанный слой не имел четких границ и состоял из двух-трех отдельно расположенных клеток с обильной цитоплазмой и одиночным крупным ядром с хорошо выраженным ядрышком.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали, что гипоксия пренатального периода оказывает резко отрицательное влияние на формирование плаценты, способствует снижению плацентарных параметров и свидетельствует о развитии плацентарной недостаточности. Применение комплексного антигипоксического препарата «Траумель С» во время беременности, протекающей на фоне хронической гипоксии, оказывает положитель-

ное влияние на формирование плаценты, стимулирует развитие в ней компенсаторно-приспособительных реакций, приводящих к увеличению ее массы.

Литература

1. Balduini W., De Angelis V., Mazzoni E. Long-lasting behavioral alterations following a hypoxic/ischemic brain injury in neonatal rats // *Brain Res.* 2000. V.859. P.318–325.
2. Спасов А.А., Трегубова И.А., Косолапов В.А. Моделирование внутриутробной гипоксии // *Патол. физиол. и экспер. тер.* 2005. №4. С.25–28.
3. Кассиль В.Г., Отеллин В.А., Хожай Л.И. Критические периоды развития головного мозга // *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* 2000. Т.86. №11. С.1418–1425.
4. Маслова М.В., Землянский К.С., Школьников М.В. и др. Пептидергическая коррекция влияния острой гипобарической гипоксии беременных крыс на развитие потомства // *Бюл. экспер. биол. и мед.* 2001. Т.131. №2. С.136–140.
5. Журавин И.А., Дубровская Н.М., Туманова Н.Л. Постнатальное физиологическое развитие крыс после острой пренатальной гипоксии // *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* 2003. Т.89. №5. С.522–532.
6. Ильенко Л.И., Зубарева Е.А., Холодова И.Н. и др. Современные подходы к диагностике и лечению гипоксически-ишемических поражений ЦНС у доношенных детей первого года жизни // *Педиатрия.* 2003. №2. С.87–92.
7. Арора С., Харрис Т., Шерер К. Клиническая безопасность комплексного гомеопатического препарата Траумель С // *Биол. мед.* 2001. №1. С.23–27.
8. Скобелев Д.О., Мурашова Е.Н., Болонкина Т.Е. Международные стандарты в практике работы научных и клинико-диагностических лабораторий // *Мир стандартов.* 2006. №10. С.54–55.
9. Singh R. Placental changes induced by trichloroacetic acid in rat // *J. of the Anatomical Society of India.* 2005. V.54 (2). P.7–12.

Информация об авторах:

Ильенко Лидия Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 426-2761

Гужвина Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Астраханской государственной медицинской академии
Адрес: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121
Телефон: (8512) 33-1420
E-mail: egughvina@mail.ru

Туманова Елена Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии №2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 236-2291

Исследование механизмов сенсibilизации опухолевых клеток новым синтетическим гестагеном бутеролом

Е.В.Одинцова¹, Т.А.Федотчева¹, В.В.Банин², Н.Л.Шимановский¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — чл.-кор. РАМН, проф. Н.Л.Шимановский);

²Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва (директор — акад. РАМН и РАСХН, проф. В.А.Быков)

Развитие резистентности опухолевых клеток к цитостатикам — одна из наиболее часто возникающих проблем при химиотерапии гормонозависимых опухолей. Среди возможных механизмов подобного развития резистентности ведущую роль играет сверхэкспрессия Р-гликопротеина, белков семейства ABC-транспортеров (MRP и BCRP), белка Bcl-2. В данном исследовании в качестве перспективного сенсibilизатора (соединения, усиливающего восприимчивость к противоопухолевым препаратам) был изучен бутерол — новый синтетический аналог прогестерона. Показано, что бутерол *in vitro* усиливает цитостатическое действие доxorубина и этопозиды в клетках рака молочной железы. При исследовании влияния бутерола на экспрессию факторов резистентности установлено, что бутерол одновременно снижает экспрессию мРНК BCRP-1, Р-гликопротеина и MRP-1 на поздних сроках инкубации (10-й день), а также снижает экспрессию мРНК Bcl-2. Таким образом, в клетках MCF-7 механизмы сенсibilизации связаны с ингибированием экспрессии транспортных белков и антиапоптотического белка Bcl-2.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость, гестагены, рак молочной железы

Investigation of mechanisms of sensibilization of tumor cells by new synthetic progestin buterol

E.V.Odintsova¹, T.A.Fedotcheva¹, V.V.Banin², N.L.Shimanovskiy¹

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Molecular Pharmacology and Radiobiology named after Acad. of RAMS P.V.Sergeev of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Corr. Member of RAMS, Prof. N.L.Shimanovskiy);

²All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow (Director — Acad. of RAMS and RAAS, Prof. V.A.Bykov)

One of the most frequent problems in the chemotherapy of hormone dependent tumors is the development of resistance in tumor cells to cytostatics. The main role among possible mechanisms of such resistance plays over-expression of P-glycoprotein, MRP and BCRP — the ABC-transporters family proteins, and Bcl-2 — antiapoptotic protein. In this study new synthetic analog of progesterone — buterol — was investigated as a perspective sensibilizing compound, e.g. compound, which increases sensitivity to anticancer drugs. It was shown, that buterol strengthens cytostatic effect of doxorubicin and etoposid in breast cancer cells *in vitro*. Also it was demonstrated that buterol decreases BCRP, P-glycoprotein and MRP mRNA expression in common on the 10th day of incubation. Besides, buterol suppresses mRNA expression of Bcl-2. Thus mechanisms of sensitization in MCF-7 cells are associated with the decrease of transporter proteins expression and antiapoptotic Bcl-2 protein expression.

Key words: multidrug resistance, progestins, breast cancer

Такие гормонозависимые заболевания женской репродуктивной системы, как рак шейки матки и рак молочной железы, составляют, по данным

Для корреспонденции:

Одинцова Елена Валерьевна, аспирант кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а

Телефон: (499) 246-6005

E-mail: lodintsova@yandex.ru

Статья поступила 07.12.2011 г., принята к печати 05.06.2012 г.

GLOBOCAN, соответственно 23 и 9% общего числа раковых заболеваний у женщин [1]. При химиотерапии этих заболеваний широко распространено развитие феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Для данного состояния характерна потеря чувствительности опухолевых клеток к цитостатическим препаратам [2]. В развитии феномена МЛУ наибольшую роль играет группа АТФ-зависимых трансмембранных переносчиков. К ним относят Р-гликопротеин, белки MRP (multidrug resistance-related protein — белок, ответственный за

устойчивость ко многим лекарственным веществам) и BCRP (breast cancer resistance protein — белок, ответственный за резистентность рака молочной железы к лекарственным веществам) [3], выкачивающие цитостатики из клетки против градиента концентрации [4]. Кроме того, в развитии МЛУ принимают участие система глутатиона/глутатионтрансферазы, отвечающая за метаболизм ксенобиотиков [5], и ряд процессов, участвующих в угнетении апоптоза [6]. В настоящее время наиболее перспективным путем преодоления МЛУ считают поиск ингибиторов белков-переносчиков семейства ABC [7]. Несмотря на проводимые в последние годы исследования подобных ингибиторов (тариквидар, вогонин, циклоспорин), пока ни один из них с целью преодоления МЛУ в клинической практике не применяют.

Как показали наши и литературные данные, к перспективным противоопухолевым веществам относятся гестагены, поскольку в структуре Р-гликопротеина присутствует селективный для прогестерона (природного аналога гестагенов) участок связывания [8] и для некоторых гестагенов показана способность ингибировать активность и экспрессию Р-гликопротеина [9]. Кроме того, существует взаимосвязь между уровнем Р-гликопротеина и стероидогенезом как в нормальных, так и в опухолевых тканях [10], и стероидные гормоны регулируют транскрипцию BCRP [11]. Наличие сенсibiliзирующей активности уже показано для прогестерона и мегестрола ацетата — классических гестагенов, используемых в клинической практике. Мегестрола ацетат в большей степени подавляет состояние МЛУ, чем прогестерон, однако данный эффект присутствует только при использовании высоких концентраций мегестрола ацетата, что вызывает нежелательные побочные явления, такие как головокружение, рвота, развитие андрогеноподобных эффектов [12]. В связи с этим целесообразен поиск соединений, вызывающих минимальные побочные явления, но также эффективно ингибирующих экспрессию белков-переносчиков.

В данном исследовании был изучен новый синтетический гестаген — бутерол (17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он), структурной особенностью которого является замена характерной для прогестерона и большинства его аналогов 3-кето-группы на сложнэфирную бутаноилокси-группировку (формула бутерола в сравнении с другими гестагенами представлена на рис. 1). Возможно, карбонил данной группировки бутерола способен вступать в нековалентное взаимодействие с SH-группой нуклеотид-связывающего домена белков-переносчиков. Благодаря отсутствию в структуре бутерола 3-кето-группы, характерной также и для классических андрогенов, он не проявляет побочного андрогенного и минералокортикоидного действия в отличие от прогестерона и других синтетических гестагенов [13].

Кроме того, для бутерола уже показано наличие собственной цитостатической активности по отно-

шению к клеточным культурам эпителиоидного рака шейки матки и рака молочной железы *in vitro*, причем на культуре рака шейки матки данная противоопухолевая активность бутерола в несколько раз превосходит эффект мегестрола ацетата [14]. У бутерола также обнаружена способность ингибировать активность Р-гликопротеина в клетках рака молочной железы, резистентных к доксорубину, и в клетках рака гортани, резистентных к винкристину [13].

В данной работе исследовано влияние бутерола на цитостатическое действие доксорубина и этлопозиды и на транскрипционную активность белков-переносчиков, участвующих во множественной лекарственной устойчивости, и белков, регулирующих апоптоз.

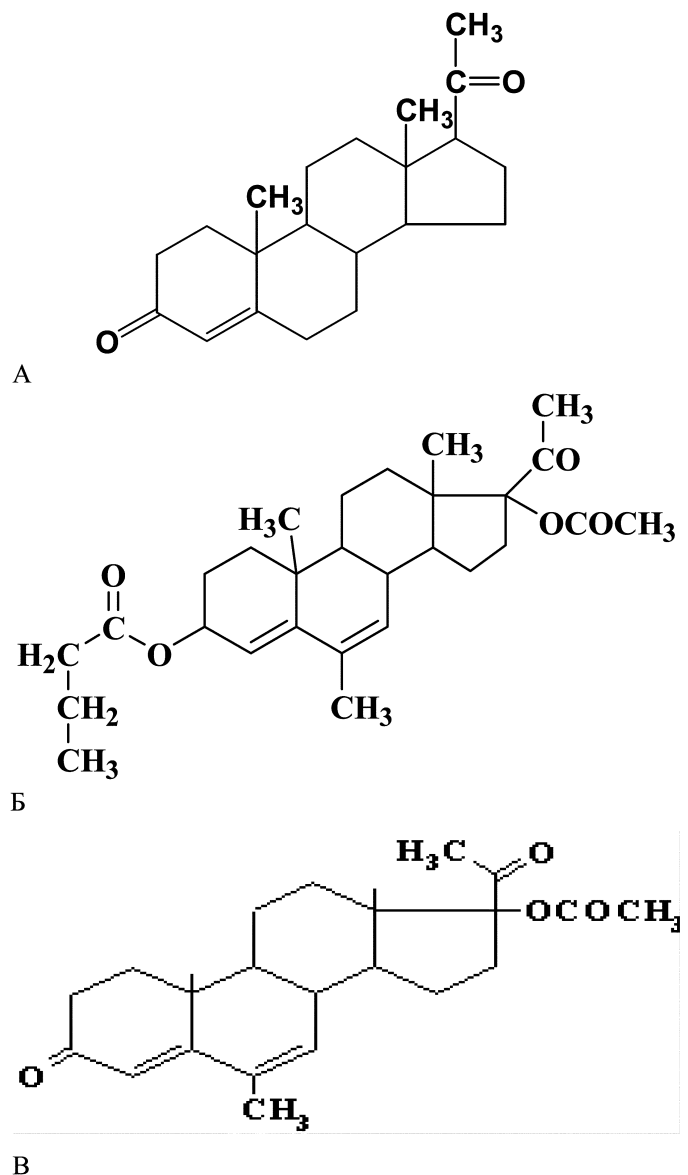


Рис. 1. Структурные формулы гестагенов.

А – прогестерон (прегн-4-ен-3,20-дион);
 Б – бутерол (17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он);
 В – мегестрола ацетат (17-гидрокси-6-метилпрегна-1,4-диен-3,20-дион)

Материалы и методы

Были исследованы следующие вещества: бутерол — 17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он, синтезирован в Эндокринологическом научном центре г. Москвы (Сергеев П.В. и сотр., патент РФ № 2292209 от 27.12.2007); мегестрола ацетат — 17-гидрокси-6-метилпрегна-1,4-диен-3,20-дион («Sigma», США); доксорубин, этопозид («Фармахеми Б.В.», Нидерланды). Структурные формулы гестагенов представлены на рис. 1.

Клеточную культуру MCF-7 (рак молочной железы человека), полученную из банка клеток Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения г. Москвы, инкубировали в стандартных условиях (37 °С, 5% CO₂) в среде DMEM («Gibco», США) с 20% термоинактивированной эмбриональной телячьей сывороткой («Sigma», США), с 2 мМ L-глутамина («Gibco», США). Использовали интегральный МТТ-тест для оценки жизнеспособности опухолевых клеток [15].

Клеточную культуру MCF-7 сеяли в 96-луночный планшет в концентрации 6,5–7 тыс клеток в лунку с добавлением доксорубина, этопозид, бутерола, комбинацией бутерола с доксорубином и бутерола с этопозидом. Клетки инкубировали в стандартных условиях (37 °С, 5% CO₂) в течение 48 ч. Затем в лунки планшета вносили раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий бромистый) в среде DMEM до конечной концентрации 0,5 мг/мл, клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 ч. После завершения инкубации среду из лунок отбирали и вносили по 100 мкл диметилсульфоксида («ПанЭко», Москва) в лунку для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Оптическую плотность образцов регистрировали при длине волны 530 нм на анализаторе «Униплан» АИФР-01 (Россия). Оптическую плотность контрольных образцов принимали за выживаемость клеток, равную 100%.

Количественный анализ ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) в режиме реального времени применяли для определения уровня экспрессии матричной РНК (мРНК) исследуемых генов.

Клеточную культуру MCF-7 инкубировали с исследуемыми гестагенами (бутерол, препарат сравнения — мегестрола ацетат) в фиксированной концентрации 10⁻⁵ М в течение 10 сут. На 2, 4, 6 и 10-е сутки из 1 млн клеток с помощью «Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «Рибо-преп вариант 100» (ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва) выделяли тотальную РНК по оригинальному протоколу фирмы-производителя. Затем из каждых 10 мкл тотальной РНК с помощью набора «Реверта-Л» (ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва) в результате обратной транскрипции была получена комплементарная ДНК (кДНК) в финальном объеме 40 мкл. ПЦР в режиме реального времени проводили на приборе IQ5 Cycler («Bio-Rad», США) в финальном объеме 25 мкл с ис-

пользованием 2 мкл кДНК и «Набора реактивов для проведения Реал-тайм ПЦР в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (Синтол, Россия) по оригинальному протоколу производителя. Для нормирования уровня транскрипции в подвергшихся воздействию и в контрольных образцах (кДНК из клеток, инкубированных при тех же условиях в отсутствие гестагенов) измеряли также транскрипцию мРНК «housekeeping» гена глицеральдегид-фосфат-дегидрогеназы (*GAPDH*).

Использовали очищенные бессолевыми праймеры в концентрации 1 ед. опт. пл./мл: ген 1 (*GAPDH*: прямой праймер 5'-GAA GGT GAA GGT CGG AGT-3', обратный праймер 5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TCC-3'), ген 2 (*MDR1* (P-гликопротеин): прямой праймер 5'-CCC ATC ATT GCA ATA GCA GG-3', обратный праймер 5'-GTT CAA ACT TCT GCT CCT GA-3'), ген 3 (*MRP-1*: прямой праймер 5'-CAA GAG AGT ATT CAG CAA GAT-3', обратный праймер 5'-CAG TCG TTC CAC TTC ACT ACA-3'), ген 4 (*BCRP-1*: прямой праймер 5'-CAG GTG GAG GCA AAT CTT CTG-3', обратный праймер 5'-ACA CAC CAC GGA TAA ACT GA-3'), ген 5 (*Bcl-2*: прямой праймер 5'-CAC GTC CAC CAA CAT GTC CG-3', обратный праймер 5'-CAA ACT TAA CAG TAA GTA AAT-3') (Синтол, Россия).

Применяли следующие программы амплификации. Для *MDR1*: 50 °С — 2 мин, 95 °С — 10 мин, (95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин) — 50 циклов; для *MRP-1*: 95 °С — 10 мин, (95 °С — 20 с, 60 °С — 45 с) — 40 циклов; для *BCRP-1*: 95 °С — 9 мин, (95 °С — 30 с, 55 °С — 30 с, 72 °С — 30 с) — 40 циклов, 72 °С — 4 мин; для *Bcl-2*: 95 °С — 10 мин, (95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин) — 40 циклов.

Для оценки корректности результатов амплификации были построены кривые плавления — для всех исследуемых генов на них наблюдали отдельные пики плавления. Для количественной оценки экспрессии исследуемых генов использовали модификацию метода M.W.Pfaffl [16].

Была проведена статистическая обработка результатов. Эксперименты по определению уровня экспрессии мРНК исследуемых генов выполняли в триплетах. Данные для ОТ-ПЦР в режиме реального времени представлены в виде одного из трех экспериментальных значений, данные МТТ-теста — в виде среднего значения со стандартным отклонением. Достоверность различий между экспериментальными группами по изучаемым параметрам оценивали с помощью непараметрического U-критерия для непарных совокупностей Вилкоксона–Уитни–Манна в программе «Statgraphics Sigma».

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние бутерола в комбинации с доксорубином и этопозидом на жизнеспособность опухолевых клеток MCF-7

Опухолевые клетки инкубировали с бутеролом как самостоятельным соединением и в комбинации с про-

тивоопухолевыми препаратами — этопозидом (ингибитор топоизомеразы II) и доксорубицином (антибиотик класса антрациклинов). Предварительно проводили оценку влияния этопозид (в диапазоне концентраций $1,7 \times 10^{-5} — 1,7 \times 10^{-4}$ М) и доксорубицина (в диапазоне концентраций $10^{-7} — 10^{-4}$ М) на жизнеспособность опухолевых клеток с целью выявить оптимальную концентрацию для исследования влияния бутерола на цитостатический эффект доксорубицина и этопозид. Диапазон действующих концентраций при времени инкубации 48 ч для доксорубицина составил $5 \times 10^{-6} — 10^{-5}$ М, для этопозид — $1,7 \times 10^{-5} — 8,5 \times 10^{-5}$ М, для бутерола — $10^{-5} — 7 \times 10^{-5}$ М. В дальнейших экспериментах по изучению влияния бутерола на цитостатический эффект этопозид и доксорубицина использовали этопозид, доксорубицин и бутерол в концентрациях $1,7 \times 10^{-5}$, 5×10^{-6} и 10^{-5} М соответственно.

На рис.2 представлены данные о влиянии на жизнеспособность клеток MCF-7 комбинаций бутерола с доксорубицином и бутерола с этопозидом. Доксорубицин (5×10^{-6} М) подавляет жизнеспособность клеток на 66,4%, а бутерол (10^{-5} М) — на 35,6%. При совместном действии бутерола и доксорубицина происходит угнетение жизнеспособности клеток MCF-7 на 80,2%. Таким образом, происходит усиление цитостатического действия доксорубицина на 13,8%. Этопозид ($1,7 \times 10^{-5}$ М) как самостоятельный препарат подавляет жизнеспособность клеток MCF-7 на 47,6%, тогда как при действии комбинации этопозид с бутеролом происходит подавление жизнеспособности опухолевых клеток на 66,9%. Соответственно, бутерол усиливает цитостатическое действие этопозид ($1,7 \times 10^{-5}$ М) на 19,3%.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что при совместном действии бутерола и противоопухолевых средств разных классов

(доксорубицин/этопозид) происходит усиление их цитостатического эффекта. Механизмом такого усиления может быть ингибирование экспрессии мРНК белков-транспортеров ксенобиотиков. В целях изучения возможного механизма данного эффекта бутерола была проведена оценка уровня экспрессии мРНК факторов множественной лекарственной устойчивости в опухолевых клетках при инкубации с бутеролом.

Влияние бутерола на экспрессию мРНК Р-гликопротеина, BCRP1, MRP1 и Vcl-2 белка

Клетки культуры MCF-7 инкубировали в присутствии бутерола и препарата сравнения мегестрола ацетата (гестагена, проявляющего сенсibiliзирующую активность [12]) в течение 10 сут. После этого с помощью количественного ОТ-ПЦР в режиме реального времени оценивали уровень экспрессии мРНК генов, участвующих в развитии МЛУ (Р-гликопротеина, BCRP1, MRP1, Vcl-2), на 2, 4, 6 и 10-е сутки. Как видно из таблицы, в культуре клеток MCF-7 мегестрола ацетат увеличивает транскрипцию Р-гликопротеина (MDR1 гена), сверхэкспрессия которого является одной из причин развития МЛУ [3], на протяжении всего срока инкубации, в то время как бутерол сначала стимулирует, а затем подавляет экспрессию мРНК MDR1 гена на 10-й день инкубации в 3,8 раза. Полученные результаты подтверждают литературные данные о разнонаправленном действии гестагенов на экспрессию MDR1 гена в зависимости от времени инкубации [17, 18].

При исследовании влияния гестагенов на другой фактор развития МЛУ — MRP1 белка — было показано (см. таблицу), что в клетках MCF-7 мегестрола ацетат подавляет экспрессию гена данного белка, начиная с 6-х суток инкубации, тогда как бутерол — на протяжении всего срока инкубации. В максимальной

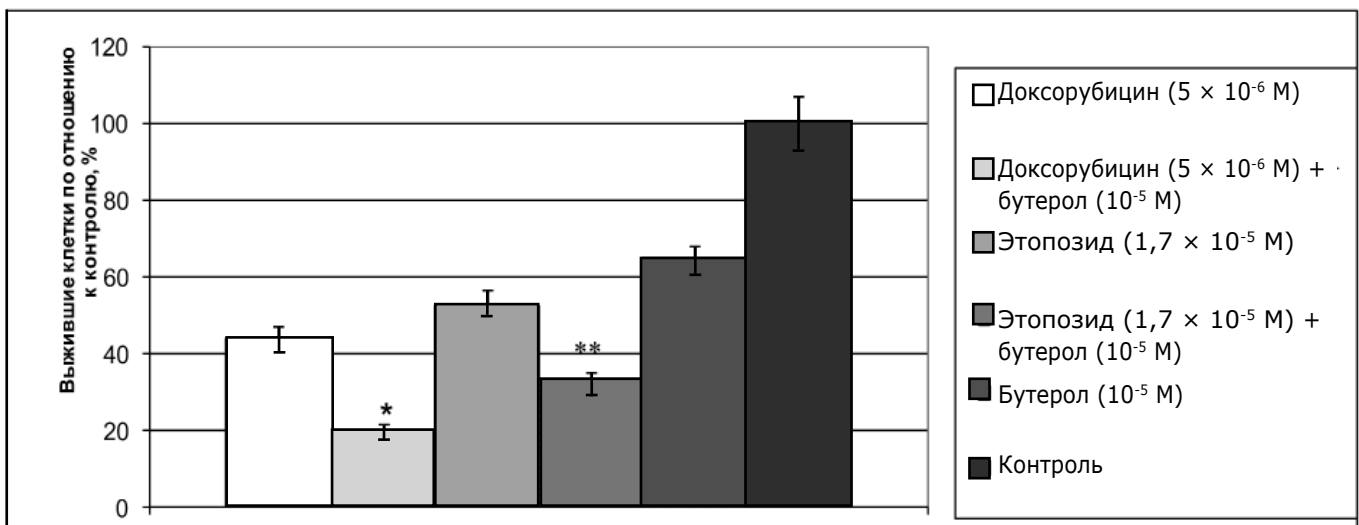


Рис. 2. Подавление жизнеспособности опухолевых клеток MCF-7 при инкубации с комбинациями бутерола с доксорубицином и бутерола с этопозидом в течение 48 ч

* – достоверные различия с цитостатическим эффектом доксорубицина ($p < 0,05$);

** – достоверные различия с цитостатическим эффектом этопозид ($p < 0,05$)

Таблица. Влияние гестагенов на экспрессию мРНК Р-гликопротеина (*MDR1* ген), *MRP1*, *BCRP1* и *Bcl-2* в клетках MCF-7 в течение 10 сут

Гестаген	Изменение экспрессии мРНК исследуемого гена, кратность			
	дни инкубации			
	2	4	6	10
<i>MDR1</i>				
Бутерол	1,5*	1,0	-1,2	-3,8*
Мегестрола ацетат	2,0*	2,4*	6,7*	6,7*
<i>MRP1</i>				
Бутерол	-2,6*	-9,4*	-11,5*	-9,1*
Мегестрола ацетат	-1,3	5,5*	-10,6*	-10,8*
<i>BCRP1</i>				
Бутерол	-65,8*	-6,5*	-576*	3,7*
Мегестрола ацетат	-130*	-219*	-317*	-77*
<i>Bcl-2</i>				
Бутерол	-3,3*	-12,4*	-3,8*	-5,9*
Мегестрола ацетат	-1,1	-14,6*	-2,1*	-6,5*

Концентрация всех исследуемых гестагенов равна 10^{-5} М. Кратность изменения экспрессии мРНК исследуемого гена рассчитана по формуле $R = 2^{-(\Delta CP \text{ образец} - \Delta CP \text{ контроль})}$, где ΔCP образец — это отклонение транскрипции исследуемого гена в «threshold» точке (cross point, CP) от уровня транскрипции гена «домашнего хозяйства» в образце, подвергнувшемуся воздействию; ΔCP контроль — это отклонение транскрипции исследуемого гена в «threshold» точке (cross point, CP) от уровня транскрипции гена «домашнего хозяйства» в контрольном образце; «threshold» точка (cross point, CP) — это точка, где подъем кривой флуоресценции ампликонов исследуемого гена значительно выше, чем фоновое свечение (Pfaffl M.W., 2000). «+» — увеличение экспрессии, «-» — снижение экспрессии. ПЦР в режиме реального времени проводили в триплетах, представлено одно из полученных значений. * — достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

степени снижения уровня мРНК *MRP1* происходит под действием бутерола на 6-е сутки — в 11,5 раза.

При исследовании влияния гестагенов на уровень транскрипции мРНК *BCRP1* белка (см. таблицу), играющего ключевую роль в развитии резистентности при раке молочной железы, наблюдали снижение уровня экспрессии *BCRP1* под влиянием как бутерола, так и мегестрола ацетата уже со 2-х суток инкубации. Так, на 2-е сутки бутерол снижал экспрессию *BCRP1* в 65,8 раза, а мегестрола ацетат — в 130 раз. Максимальное же снижение экспрессии отмечено на 6-е сутки в присутствии бутерола (более чем в 500 раз).

Ингибирование экспрессии мРНК *BCRP1* совпадает с данными M.Honorat и соавт. о способности гестагенов подавлять уровень представленности данного гена в MCF-7 [19], хотя природный гестаген прогестерон может и повышать экспрессию *BCRP* в других линиях опухолевых клеток. Например, в клетках BEWO (клеточной линии, полученной из плацентарной хориокарциномы человека [11]) прогестерон в концентрациях (10^{-9} – 10^{-5} М) в течение 48 ч увеличивал экспрессию *BCRP* [20].

При анализе влияния гестагенов на уровень мРНК антиапоптоического *Bcl-2* белка (см. таблицу) в клетках MCF-7 было показано, что уже на 4-е сутки инкубации бутерол подавляет экспрессию в 12,4 раза, а мегестрола ацетат — в 14,6 раза.

По мнению E.Vegeto, снижение транскрипции мРНК белка ингибитора апоптоза — это проявление апоп-

топической активности исследуемого соединения [21]. То есть гестагены (бутерол) в данном типе клеток (MCF-7) обладают апоптотической активностью. Апоптотическая активность прогестерона уже была продемонстрирована в ряде работ. Так, прогестерон в концентрации 10^{-7} М индуцирует апоптоз клеток T-47D (клетки рака молочной железы человека) при 72 ч инкубации за счет ингибирования экспрессии антиапоптоического белка *Bcl-2* [22]. Такую индукцию апоптоза гестагенами можно рассматривать и как механизм их цитостатического действия, и как механизм химиосенсibilизации [23].

Таким образом, механизмами сенсibilизации бутеролом опухолевых клеток может являться снижение уровня транскрипции мРНК наиболее важных факторов развития множественной лекарственной устойчивости, таких как Р-гликопротеин, *MRP1*, *BCRP1* и *Bcl-2* белок.

Способность бутерола подавлять транскрипцию наиболее важных факторов развития множественной лекарственной устойчивости и практическое отсутствие возникновения побочных андрогенных и минералкортикоидных эффектов при его использовании позволяет рассматривать данный гестаген как перспективное соединение, снижающее эту устойчивость [24]. Применение бутерола в комбинации с противоопухолевыми препаратами доксорубицином и этопозидом в терапии гормонозависимых опухолей женской репродуктивной системы может значительно увеличить ее эффективность.

Выводы

Бутерол увеличивает в клетках культуры MCF-7 цитостатическое действие доксорубина на 14%, этопозида — на 19%.

Бутерол на поздних сроках инкубации подавляет транскрипцию мРНК Р-гликопротеина в клетках MCF-7.

Бутерол подавляет экспрессию мРНК MRP1 на протяжении всего срока инкубации.

Экспрессия мРНК BCRP1 в клетках MCF-7 под влиянием бутерола снижается. Максимальное снижение экспрессии BCRP1 под влиянием бутерола — более чем в 500 раз.

Бутерол снижает экспрессию мРНК антиапоптозного белка Bcl-2.

Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Инновационные технологии в изучении живых систем» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.

Литература

- Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. Global cancer statistics // CA Cancer J Clin. 2011. V.61. №2. P.69–90.
- Li Y., Yuan H., Yang K. et al. The structure and functions of P-glycoprotein // Curr. Med. Chem. 2010. V.17. №8. P.786–800.
- Lee C.H. Reversing agents for ATP-binding cassette drug transporters. Methods // Mol. Biol. 2010. V.596. P.325–340.
- Omote H., Al-Shawi M.K. Interaction of transported drugs with the lipid bilayer and P-glycoprotein through a solvation exchange mechanism // Biophys. J. 2006. V.90. №11. P.4046–4059.
- Kuzmich S.L., Vanderveer K.D.T. Increased levels of glutathione S-transferase π transcript as a mechanism of resistance to ethacrinic acid // Biochem. J. 1992. V.281. P.219–224.
- Weinstein-Oppenheimer C.R., Henriquez-Roldan C.F., Davis J.M. et al. Role of the Raf signal transduction cascade in the in vitro resistance to the anticancer drug doxorubicin // Clin. Cancer Res. 2001. V.7. №9. P.2898–2907.
- Nuessler V., Stotzer O., Gullis E. et al. Bcl-2, bax and bcl-xL expression in human sensitive and resistant leukemia cell lines // Leukemia. 1999. V.13. №11. P.1864–1872.
- Shapiro A.B., Ling V. Positively cooperative sites for drug transport by P-glycoprotein with distinct drug specificities // Eur. J. Biochem. 1997. V.250. P.130–137.
- Yang K., Wu J., Li X. Recent advances in research on P-glycoprotein inhibitors // Biosci Trends. 2008. V.2. №4. P.137–146.
- Altuvia S., Stein W.D., Goldenberg S. et al. Targeted disruption of the mouse mdr1b gene reveals that steroid hormones enhance MDR gene expression // J. Biol. Chem. 1993. V.268. №36. P.27127–27132.
- Imai Y., Ishikawa E., Asada S. et al. Estrogen-mediated post transcriptional down-regulation of breast cancer resistance protein/ABCG2 // Cancer Res. 2005. V.65. №2. P.596–604.
- Wang L., Yang C.P., Horwitz S.B. et al. Reversal of the human multidrug-resistance phenotype with megestrol acetate // Cancer Chemother. Pharmacol. 1994. V.34. P.96–102.
- Сергеев П.В., Федотчева Т.А., Семейкин А.В. и др. Новый отечественный гестаген с противоопухолевой активностью // Вестн. РАМН. 2007. №5. С.27–32.
- Сергеев П.В., Семейкин А.В., Смирнова З.С. и др. Противоопухолевая активность нового гестагена 17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диенона // Экспер. и клин. фармакол. 2004. №4.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methods. 1983. V.65. P.55–63.
- Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // Nucleic Acids Res. 2001. V.29. №9. P.2003–2007.
- Coles L.D., Lee I.J., Voullas P.J. et al. Estradiol and progesterone-mediated regulation of P-gp in P-gp overexpressing cells (NCI-ADR-RES) and placental cells (JAR) // Mol. Pharm. 2009. V.6. №6. P.1816–1825.
- Li J., Xu L., He K. et al. Reversal effects of nomegestrol acetate on multidrug resistance in adriamycin-resistant MCF-7 breast cancer cell line // Breast Cancer Res. 2001. V.3. №4. P.253–263.
- Honorat M., Mesnier A., Di Pietro A. et al. Dexamethasone down-regulates ABCG2 expression levels in breast cancer cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008. V.375. №3. P.308–314.
- Wang H., Lee E.W., Zhou L. et al. Progesterone receptor (PR) isoforms PRA and PRB differentially regulate expression of the breast cancer resistance protein in human placental choriocarcinoma BeWo cells // Mol. Pharmacol. 2008. V.73. №3. P.845–854.
- Vegeto E., Shabaz M.M., Wen D.X. et al. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter- specific repressor of human progesterone receptor B function // Mol. Endocrinol. 1993. V.7. P.1244–1255.
- Formby B., Wiley T.S. Bcl-2, survivin and variant CD44v7-v10 are downregulated and p53 is upregulated in breast cancer cells by progesterone: inhibition of cell growth and induction of apoptosis // FASEB J. 1999. V.13. №8. P.793–803.
- Amezcuca C.A., Lu J.J., Felix J.C. et al. Down-regulation of Bcl-2 is a potential marker of the efficacy of progestin therapy in the treatment of endometrial hyperplasia // Gynecol. Oncol. 2000. V.79. №2. P.169–176.
- Федотчева Т.А., Одинцова Е.В., Шимановский Н.Л. и др. Молекулярные механизмы цитостатического и химиосенсибилизирующего действия гестагенов // Вестн. РАМН. 2010. №9. С.42–50.

Информация об авторах:

Федотчева Татьяна Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а
Телефон: (499) 246-6005
E-mail: tfedotcheva@mail.ru

Банин Виктор Васильевич, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН, профессор, заместитель руководителя НИЦ медицинских биотехнологий Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений
Адрес: 123056, Москва, ул. Красина, 2
Телефон: (499) 254-4769
E-mail: v.banin@mail.ru

Шимановский Николай Львович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН, профессор, заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а
Телефон: (495) 246-6249
E-mail: shimannn@yandex.ru

К проблеме системообразующих факторов современного университетского образования

А.Н.Моргун

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра общей психологии и педагогики психолого-социального факультета, Москва (зав. кафедрой — доц. М.Г.Ивашкина)

Целью исследования является обоснование необходимости инновационного системообразующего фактора современного университетского образования. Проведен анализ наличной ситуации в университетском образовании с точки зрения тенденций в континууме индивидуализм–корпоративизм. Выявлена тенденция к атомизации интересов как основных мотивационных факторов современного образования, показан энтропийный характер динамики развития ресурсов, отсутствие их консолидирующей составляющей. Приведены характеристики необходимого системообразующего фактора.

Ключевые слова: человеческий ресурс, развитие, инновационный подход, миссия

To the problem of system forming factors of modern university education

A.N.Morgun

The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of General Psychology and Pedagogy of Psycho-Social Faculty, Moscow (Head of the Department — Assoc. Prof. M.G.Ivashkina)

The aim of this research is the rationalization of the innovation system-factor of modern university education. The analysis of the present situation in university's education was conducted in terms of trends in the continuum of individualism–corporatism. A trend to the atomization of interests was shown as the main motivational factors of modern education, the entropic dynamic character of resource development was shown, the lack of their consolidating component. The characteristics of the necessary system-factor were given.

Key words: human resource, development, innovation, mission

Сегодня экономическое развитие, будь то экономическое развитие нации, государства или семьи, личности, все более понимают как сопутствующее средство и необходимое следствие расширения функций и потенций человека, расширение человеческого капитала [1–3]. Согласно концепции человеческого развития, базирующейся на разработках лауреата Нобелевской премии по экономике 1998 г. Амартии Сена и являющейся теоретической основой ежегодного Доклада о развитии человека по заказу Программы развития ООН, «парадигма развития есть нечто большее, чем рост... национального дохода. Речь идет о создании среды, в которой люди могут полностью реализовать свой потенциал и вести

продуктивную творческую жизнь в соответствии с их потребностями и интересами. Люди являются настоящим богатством наций» [4].

Основной целью развития человека в связи с этим является расширение его выбора [5]. Собственно в этом состоит методологически выверенный научный подход к развитию качества жизни во всех ее аспектах — профессиональной, бытовой, политической, культурной и др. Традиционный психологический подход к оценке человеческих возможностей в большей степени локализует основные факторы развития внутри личности. Устойчиво принято считать, что успех — это заслуга личная, мало зависящая от средового влияния, в крайнем случае обусловленная усилиями личности вопреки известному действию среды.

Переход РНИМУ им. Н.И.Пирогова (далее Университет) на новую научно-образовательную систему по умолчанию предполагает такую модель внутри-, внешне- и интеркорпоративных взаимодействий, которая призвана содействовать развитию человеческого потенциала. Подразумевается модель исследо-

Для корреспонденции:

Моргун Алексей Николаевич, кандидат психологических наук, доцент кафедры общей психологии и педагогики психолого-социального факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-3192

E-mail: an_morgun@mail.ru

Статья поступила 19.12.2011 г., принята к печати 05.06.2012 г.

вательского университета, воспроизведенная в опыте исследовательских университетов США и Великобритании [6]. Она включает в себя непосредственно чувствительность к спросу на актуальный квалифицированный продукт, потому основана на *личной заинтересованности* ученого, преподавателя, студента и любого сотрудника в совершенствовании своей деятельности. Более того, новая система предполагает принципиально иной подход к характеристике этого продукта, делая акцент на его инновационно-творческом происхождении.

В литературе, посвященной внедрению новой институциональной формы организации научной и образовательной деятельности, подробно описаны преимущества национальных исследовательских университетов перед традиционной отечественной системой высшего образования. Однако практически везде речь идет о результирующих показателях, следствиях, то есть *вторичных* факторах. Поддержка формального соответствия критериям научно-образовательных учреждений этой категории — задача знакомая. Инновационной представляется проблема смыслообразующих факторов декларируемой образовательной структуры, а также задача определения и практического воплощения инновационного содержания науки и образования, которая ляжет на плечи профессионалов — ученых и преподавателей — реального ресурса и двигателя научно-образовательного процесса.

Лозунг «Даешь инновацию!» рождает встречный и вполне закономерный вопрос «Ради чего?». И это не риторический вопрос как форма отрицания, это закономерный положительный вопрос о смысле.

Оговорюсь, лично мне модель исследовательского университета как научно-образовательного и производственного комплекса импонирует и в своих требованиях, и в ожидаемых результатах, поскольку соответствует и моим профессиональным амбициям. С одним только допущением, что соответствует она моим *индивидуальным* целям и амбициям, то есть самоэспекциям, которые *исторически* сформированы воспитанием и самовоспитанием, образованием, опытом преподавания и научной работы, но не включают в себя ясного и необходимого образа *общего будущего*, ибо история нас не учит, что мы должны делать (Хосе Ортега-и-Гассет). Тот образ потребного будущего, называемого Национальным Исследовательским Университетом, для меня — суть мое же *индивидуальное* представление университета, основанное на моем желании представлять его и многочисленных обзорах, описывающих успехи такой научно-образовательной организации. Я не ошибусь, если скажу, что такой образ возникает не только у меня. Мы примеряем на себя традиции исследовательских Университетов, не вдаваясь в посылки их создания. Однако успех и опыт вторичны, первичны же посылки, на которых основывается дело, лишь впоследствии уже приносящее успех (или неуспех) и опыт.

Соответственно, доверие новой модели жизни Университета возможно только в условиях ясности этих посылок и смыслообразующих факторов, и, следовательно, примата внутреннего над внешним, Сути над видимостью. Иначе возможна ситуация, описанная великим русским классиком словами своего персонажа: «...наши учреждения и все это — похоже на березки, которые мы натыкали, как в Троицын день, для того чтобы было похоже на лес, который сам вырос в Европе...!» [7].

В работе [8] отмечено, что, по данным самооценки преподавателей РНИМУ им. Н.И.Пирогова важности (насущности) человеческих ресурсов, задействованных в образовательной деятельности, *профессионально-компетентный* и *коммуникационный* ресурсы занимают 5-е и 4-е места соответственно в перечне из пяти позиций. И это не пренебрежение профессорско-преподавательским составом Университета своей профессиональной компетенцией и компетентным общением. Вопрос опросника был сформулирован таким образом: «Какой из перечисленных ресурсов занимает ваши мысли в большей степени, какой в меньшей?». Оказалось, что *финансовый* и *организационный* ресурсы, то есть вторичные, внешние ресурсы, более беспокоят респондентов, чем внутренние. Данное сползание ценности ресурсов в сторону вторичных и внешних можно объяснить тем, что в настоящий момент в Университете отсутствует какая-либо заявленная концепция, способная интегрировать образовательные и научные цели разного уровня сложности (в том числе и предельные) и обеспечить системную динамику его развития. Последнее возможно только при наличии разделенных, а не просто вменяемых целей [10]. С другой стороны, сдвиг в сторону вторичных, внешних мотивов соответствует атомизации общества. То, «ради чего», по-прежнему раскрыто только в индивидуальном «перспективном» плане, и оно у каждого свое, встречающееся с другими только как резонанс *насущего* — заработная плата, социальные гарантии и т.п.

В течение последнего года в рамках циклов профессиональной переподготовки специалистов факультета повышения квалификации на базе кафедры общей психологии и педагогики внедряют программу «Смыслообразующие факторы профессиональной деятельности врача-педагога». Одним из квалификационных заданий циклов является эссе на тему «Зачем я педагог? (...ученый?, ...врач?)». По сути, речь в них идет о смысле жизни, чаще профессиональной, но не редко и шире — смысле жизни личности, не мыслящей себя без своей профессии, то есть вписывающей в свое смысложизненное пространство ценности профессии. И здесь работы курсантов также выявляют тенденцию к индивидуализированности профессиональных смыслов. Эти смыслы не тяготеют к меркантильной или статусной стороне профессии. Люди, раскрывающие внутренние, интимные факторы своего нахождения в профессии, указывают в большей

степени на эмоциональную составляющую их деятельности в связи с общением (с коллегами и студентами). Такая картина хотя и указывает на удовлетворенность респондентов своей профессиональной деятельностью, демонстрирует инвертированный характер осмысленности этой деятельности. Чувство, выносимое в качестве цели профессиональной деятельности, является вторичным по отношению к ее смыслу [9]. В этом аспекте первичным может быть, например, компетентностное общение преподавателей, ученых, студентов.

Более того, как показывают эссе, даже если признать в качестве наличного и действительного социального смысл общения преподавателей и студентов, то все равно масштаб этих смыслов ограничен ближайшим окружением, непосредственным контактом и не выходит на уровень жизни Университета и шире. Стороны удовлетворены общением здесь и сейчас, предметным общением, если таковое складывается успешно. Однако духовные смыслы, определяющие исходные послышки, объединяющие людей одной профессии на первичном безусловном уровне, в настоящее время не осознаются.

Исходная послышка или миссия Университета — это и есть смысл жизни, то, ради чего он создан и существует. Это полномасштабный ответ на вопрос «Зачем?». И «зачем» преподавателя или ученого, и «зачем» Университета, где он трудится, — это, по сути, разные стороны одного целого. Однако если «зачем» каждого конкретного преподавателя в отношении себя, своей истории и судьбы (в смысле самоограничения, являющегося «правдой, сутью жизни» [10]) в каждом конкретном случае более или менее определено, то «зачем» Университета остается вопросом открытым. То есть вопрос: «Каков вид, что открывается из Университета? Иначе говоря, что видно из Университета? Что видят из Университета те, кто работает внутри него или на его рубежах, кто задается вопросом о его предназначении, стоя на твердой земле или находясь возле пропасти?» [11] получает множество ответов, не имеющих общего знаменателя. Каждый видит только *свою* насущную перспективу. И заданный вопрос обретает другую, уже риторическую форму: «Существует ли сегодня то, что можно назвать «разумным основанием бытия» Университета?» [11].

Миссия — это система допущений и ограничений, фильтр, который, чем ближе к пониманию человеческой природы, тем больше сам представляет собой живую модель развития, которую не нужно стимулировать, — она сама служит стимулом, способным раскрыть важные ресурсы.

Какова, например, система допущений и ограничений Гарвардского университета? Слоган, предложенный когда-то Гарвардской школой бизнеса, «Мы обучаем лидеров, которые меняют мир к лучшему» («We educate leaders who make a difference in the world») сразу был поддержан всеми подразделениями Гарвардского университета и стал неофициальной

миссией его в целом. И его девиз «Veritas» («Истина»), несомненно, поддерживает претензию Гарвардского университета на лидерство (ведь с истиной, как известно, не поспоришь) и также предполагает широкую судьбу развития.

Миссия компании Microsoft: «Мы работаем, чтобы помочь людям и бизнес-организациям по всему миру полностью реализовать имеющийся у них потенциал». Потенциал человека, человеческий ресурс, как уже было сказано выше, — сегодня не просто осознанная ценность, но и ценность неисчерпаемая. Таким образом, миссия компании предполагает ее неисчерпаемое развитие, поскольку Microsoft не только имеет дело с неисчерпаемым ресурсом, но и производит и продает информационный способ реализации этих ресурсов, а он допускает бесконечное многообразие творческих подходов. Кроме того, включенность в оборот миссии «людей и бизнес-организаций по всему миру» как ресурса увеличивает сообщество Microsoft до предельных масштабов. В результате Microsoft — это компания мирового масштаба с неисчерпаемыми ресурсами.

Миссия университета — это место локализации не безответного, а *разделенного* смысла его жизни. Разделенного с сообществом, каждый член которого, пусть даже самый удаленный, заинтересован в его миссии, то есть находит в ней отклик своему жизненному смыслу. Вследствие этого в самом общем виде смысл университета — «...есть система жизненных идей, которая представляет *высший уровень времени* (курсив автора. — А.М.), самая современная система. Эта система — культура (образованность, ступень развития)» [12].

С другой стороны, миссия представляет собой программное заявление, которого придерживается каждый член сообщества. Дискуссии на разных уровнях показывают интерес к формированию новой экономики образования и науки, но инновационные преобразования все больше сползают в сторону вторичности, выводя за скобки вопрос «ради чего?». За что в конечном счете мы берем ответственность перед другими людьми? Какова наша разделенная с ними цель, в осуществлении которой мы компетентны, а они заинтересованы?

Конечно, трудно убедить сознание, неуклонно сползающее к внешней и дискретной (читай: ограниченной) жизни в том, что понятия, подобные миссиям организации или отдельно взятого человека, — не бесполезный идеализм. Такому сознанию всегда нужна подпитка извне, чтобы идти по пути борьбы с энтропией. Необходимо так или иначе поддерживать порядок в распадающейся на элементы системе, а зависимость от внешней подпитки не позволяет обратиться к внутренним ресурсам. Однако будущее человеческого сообщества видится не в детерминистической парадигме, но в парадигме целей, способных подняться над этой причинно-следственной обусловленностью.

Рассмотрим, что характеризует миссию и что дает миссия.

Честность и взаимное доверие. Миссия — это кодекс, сообразно которому поступает каждый член сообщества, от технического сотрудника до руководителя, от студента до профессора. Взаимное доверие — непереносимое условие развития внутренней мотивации деятельности, поскольку эта мотивация и инициируется, и развивается индетерминационно или свободно.

Данный аспект определяет *новый социально-правовой статус* преподавателя Университета, когда работника вуза представляют субъектом рынка образовательных услуг. Это, в свою очередь, должно быть отражено в договорных отношениях на оказание «компетентностных услуг». Подобные «услуги» — именно тот редкий ресурс, способный влиять на договорное ценообразование в условиях рынка, в отличие от обезличенного и непроизводственного, а попросту владеемого времени. Время как предмет договорных отношений между работником и работодателем низводит работника на уровень функции, не интересующейся предельными целями организации.

Новый правовой статус позволит ученому-исследователю стать полноценным субъектом экономических отношений, реализовать возможность выбора более прибыльных условий деятельности. В подобной будущей ситуации его развития работник почувствует свою заинтересованность. При этом включение в заработную плату, в том числе и инвестирования в компетенции, послужит выражением заинтересованности менеджмента в развитии кадрового состава. В настоящее время «на большинстве предприятий по-прежнему используется дешевый труд, а заработная плата рассматривается как источник экономики издержек производства, а не вид инвестиций. Поэтому, говорить о том, что наемная рабочая сила (также являющаяся одной из социально-экономических форм бытия человеческого потенциала в системе рыночных отношений) воспроизводится в форме капитала, а не товара, в подобных обстоятельствах оснований нет» [13]. Для функционирования инновационной экономики Университета, связанной с непрерывным технологическим совершенствованием научного производства, необходимы условия постоянного развития мотивационной составляющей производства. Подобное совершенствование можно реализовать, только имея возможность максимизации мотивации.

Видение. Чтобы правильно понять систему, нужно выйти из нее или быть причастным большей системе, ассимилирующей познаваемую. Миссия — это цель много большая, чем те, что прописаны в Уставе. И если Устав — это закон уже созданного сообщества, то Миссия — то, ради чего создают сообщество, или то, ради чего его следовало бы создать, его смысл.

Исследовательский университет — это *новая семантика образовательного пространства*. И если идеал бисмарковской системы образования (прежней отечественной) — это Человек знающий, то идеал «новой» англо-саксонской системы образования — это Человек узнающий или исследующий. Старая (не

по времени, а по качеству) система университетского образования была так называемым храмом науки, в котором зачастую подобно историческому хламу тлело устаревшее знание, без попыток его развития или критического анализа. Новые отношения подразумевают естественную критику знания, а именно функционирование в условиях рынка, где социальную выживаемость знания определяет прагматика, востребованность, высокая конкурентоспособность и требования к его дизайну.

Поддержка. Миссия — это общий (корпоративный) смысл сообщества, поддерживающий входящие в него индивидуальные смыслы. Индивидуализация смыслов профессиональной деятельности (а именно такое состояние доминирует у нас), как центробежное устремление развития ее смысловой сферы, механически противопоставляет их центростремительному движению к целостности.

Мотивация. Миссия концентрирует и согласует внутренние, предметные устремления каждого члена сообщества. Внутренняя мотивация, система внутренних мотивов — это система, независимая от внешних условий (экономических, политических и т.п.). Она сама является условием для экономических, политических и других отношений, и ее кризисное состояние как раз показывает зависимость, несвободу от внешних условий. Новой образовательной системе нужны принципы для свободного принятия. При этом они должны быть понятны и прозрачны не только тем, кто внутри нее (ученым, преподавателям, сотрудникам, студентам), но и вовне — потребителям. При этом достигаемая синергия всех участников сообщества как целого ожидаемо превосходит простую сумму индивидуальных эффектов.

И еще один, вероятно, ключевой фактор развития внутренней мотивации. Внутренняя мотивация исходит от самого субъекта деятельности, ее невозможно детерминировать. Но у нее есть основание — это личная инициатива, которая также может быть выражена в принятии и согласии с принципами, служащими базисом деятельности. Собственно мотивационный менеджмент состоит в создании синтонных условий, сопутствующих внутренней мотивации, и исключении демотивирующих факторов.

Уникальность. Миссия концентрирует общие цели в конкретных исторических и персонализированно-человеческих условиях, делая сообщество уникальным явлением современной культуры. При этом концентрация отношений в таких условиях делает цели доступными к идентификации личностью по общему основанию уникальности.

В заключение приведем цитату, которой уже более восьмидесяти лет, но она как нельзя более точно отражает нашу современную ситуацию в науке и образовании: «Сегодня мы живем — вопреки известной самонадеянности — в эпоху ужасного бескультурья. Никогда не было столько поддельного и обманного существования. Почти никто не находится на своем месте, никто не исполняет свое подлинное назначение.

Человек обычно живет уловками, которыми обманывает себя самого, выдумывая вокруг мир простой и субъективный, несмотря на то, что жизненное сознание громким голосом указывает ему на его настоящий мир, который является чрезмерно сложным, точным и требовательным. Но средний человек сегодня боится открыться этому настоящему миру, который требовал бы много от него, и предпочитает фальсифицировать свою жизнь, сохраняя ее герметичной в коконе своего фиктивного и упрощенного мира» [12].

Сегодня, поскольку остры проблемы культуры отношений, работа над общим смыслом может быть плодотворной и ожидаемой альтернативой безучастности как хроническому социальному заболеванию настоящего времени. Сейчас у нас нет готовых идей и убеждений, способных послужить светом, чтобы мы могли разглядеть сквозь туман индивидуализма «смутные лица друг друга» (П.Флоренский). Однако эти убеждения и идеи нам заданы, и от нашего согласия в них зависит наша общая биография. Хочется верить, что мы (Университет) небезучастны на всех своих уровнях — и как орган, чувствительный к актуальным проблемам современного общества, способный к неординарным ответам, представляющим собой «высший уровень времени» [12], и в отношении друг к другу внутри своего организма. Для достижения этого высшего уровня нужно только основание.

Литература

1. Sen A.K. Development as freedom. NY: Knopf, 1999. 366 p.
2. Sen A.K. Rationality and freedom. Cambridge, MA: Harvard University Press, 2004. 752 p.
3. Беккер Г. Человеческое поведение. Экономический подход. М.: ГУ ВШЭ, 2003. 336 с.
4. The Human Development concept [Electronic resource] // Human Development Reports [Official website]. URL: <http://hdr.undp.org/en/humandev/> (дата обращения: 18.11.2011).
5. Haq Mahbub Ul. Reflections on Human Development. Oxford: Oxford University Press, 1995. 288 p.
6. Грачев С.В., Городнова Е.А. Исследовательские университеты. Мировой опыт и приоритеты развития. М.: МИА, 2009. 160 с.
7. Толстой Л.Н. Анна Каренина. Части 1–4. СПб.: ИД «Азбука-классика», 2008. Ч.3. С.273.
8. Моргун А.Н. Концепция образовательных инвестиций как модель менеджмента профессионально-компетентного поведения: Мат-лы учебно-методической конференции «Совершенствование качества образовательной деятельности РГМУ им. Н.И.Пирогова», Москва, 10 июня 2010 г. М.: Вестник РГМУ, 2010. Спец. вып. №4. С.9–11.
9. Франкл В. Человек в поисках смысла. М.: Прогресс, 1990. 368 с.
10. Senge P. The Fifth Discipline: The Art and Practice of the Learning Organization. Rev. ed. NY: Crown Business, 2006. 445 p.
11. Les pupilles de l'Universite // Jacques Derrida. Du droit a la philosophie. Paris: Galilee, 1990. P.461–489.
12. Ортега-и-Гассет Х. Миссия Университета. М.: ГУ ВШЭ, 2010. 144 с.
13. Катайцева Е.А. Воспроизводство человеческого потенциала науки в условиях перехода к инновационной экономике: Автореф. дис. ... канд. экон. наук. М., 2010. 28 с.

СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ им. Н.И.ПИРОГОВА

Информация о защитах диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России

Автор	Тема	Специальность
Усовецкий Илья Анатольевич	Поэтапное лечение различных форм витилиго	14.01.10 – кожные и венерические болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Научный консультант – д.м.н., проф. Н.Г.Короткий. Защита состоится 24.09.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.10 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Темникова Елена Андреевна	Технология лечения пациентов старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью в условиях первичной медико-санитарной помощи	14.01.05 – кардиология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Научный консультант – д.м.н., проф. Г.И.Нечаева. Защита состоится 29.10.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.08 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Глазунов Алексей Борисович	Диагностические и прогностические возможности многополюсного автоматического поверхностного ЭКГ-картирования при коронарогенных и некоронарогенных поражениях миокарда	14.01.05 – кардиология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Научный консультант – д.м.н., проф. А.В.Струтынский. Защита состоится 29.10.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.08 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Мантурова Наталья Евгеньевна	Оптимизация хирургической и консервативной коррекции инволюционных изменений системы кожи	14.01.17 – хирургия; 14.01.10 – кожные и венерические болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Научные консультанты – д.м.н., проф. В.А.Ступин; акад. РАМН, проф. А.А.Кубанова. Защита состоится 29.10.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.03 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		

К 80-летию Юрия Андреевича Владимирова

18 августа 2012 года академику РАМН Юрию Андреевичу Владимирову исполнилось 80 лет. Из них более 60 лет отдано служению биофизике. Сегодня Ю.А.Владимиров является признанным лидером и основателем нового направления — медицинской биофизики.

Научная деятельность Ю.А.Владимирова началась с исследований фотохимических реакций и люминесценции белков в стенах биологического факультета МГУ на только что созданной Б.Н.Тарусовым кафедре биофизики. Его учителями были выдающиеся советские ученые — академики А.Н.Теренин и А.А.Красновский.

В 1966 г. Ю.А.Владимиров организовал кафедру биофизики на медико-биологическом факультете 2-го МОЛГМИ им. Н.И.Пирогова (ныне РНИМУ им. Н.И.Пирогова), куда он перешел по приглашению ректора, академика РАМН Ю.М.Лопухина. Возглавляя кафедру, Ю.А.Владимиров практически с нуля создал новые курсы лекций и практикумов по квантовой, молекулярной и клеточной биофизике. Позднее к ним был добавлен курс биофизики патологических процессов. В этой работе ему помогал весь коллектив кафедры биофизики, в который в то время входили профессора Д.И.Рощупкин, Г.И.Клебанов, Г.Е.Добрецов, В.А.Петров, В.Ф.Антонов, Ю.М.Петренко. Эти курсы, постоянно обновляясь, до сих пор читаются на кафедре.

Одна из главных заслуг Ю.А.Владимирова — создание системы подготовки врачей-биофизиков в медицинском вузе. Как бы ни была трудна организация учебы студентов-биофизиков, Ю.А.Владимиров никогда не забывал о науке. Более того, научные исследования стали фактором сплочения кафедры биофизики вокруг нового направления — исследования механизмов нарушения работы биологических мембран, среди которых главное место занимали реакции перекисного окисления липидов. Наибольшее развитие в этот период получили метод хемилюминесценции (Оленев В.И.) и метод флуоресцентных зондов (Добрецов Г.Е.). Дальнейшее развитие научных исследований на кафедре биофизики привело к расширению арсенала методов: появился метод электронного парамагнитного резонанса (Азизова О.А., Осипов А.Н.). Важным результатом научной работы коллектива кафедры стало формулирование четырех основных механизмов нарушения функционирования биологических мембран — это перекисное окисление липидов, механическое растяжение мембран, активация фосфолипаз и адсорбция белков на мембранах.

Важную роль сыграл Ю.А.Владимиров в организации созданного в 1986 г. по инициативе академика РАМН Ю.М.Лопухина Научно-исследовательского института физико-химической медицины, где он возглавил отдел биофизики. Нельзя не упомянуть и научные достижения отдела биофизики НИИ ФХМ, которые являются предметом гордости института. Совершенствование метода флуоресцентных зондов (Добрецов Г.Е.) позволило предложить диагностический метод определения холестерина и триглицеридов для массового обследования. Применение хемилюминесцентных подходов к изучению механизма развития заболеваний дало возможность создать новые люминесцентные методы диагностики.

В 1993 г. на факультете фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова была открыта кафедра медицинской биофизики, руководить которой было предложено Ю.А.Владимирову. Сегодня это одна из ведущих кафедр факультета, которая успешно готовит высококвалифицированных врачей с глубокими знаниями по физике и биофизике. Вместе с тем Юрий Андреевич Владимиров читает курсы лекций на кафедре общей и медицинской биофизики РНИМУ им. Н.И.Пирогова по разделам «Молекулярная биофизика» и «Общая биофизика» для студентов отделений медицинской биофизики и медицинской биохимии. Эти лекции пользуются неизменным успехом и популярностью.

Портрет Юрия Андреевича Владимирова был бы неполным, если бы мы не сказали о нем как о блестящем лекторе, внимательном руководителе и Учителе для большинства своих коллег.

Коллектив Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, сотрудники кафедры общей и медицинской биофизики РНИМУ им. Н.И.Пирогова, ученики и коллеги Ю.А.Владимирова сердечно поздравляют его с 80-летием и желают ему здоровья и долгих лет активной научной и педагогической деятельности.

