

УДК 616-097:616-092.4

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЛИГАНДОВ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СИНТЕЗ ЭЙКОЗАНОИДОВ *IN VITRO***Елена Григорьевна ЛОБАНОВА***Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73-г*

Изучено дозозависимое влияние синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов (WIN 55,212-2 и анандамид) на синтез лейкотриена В₄ и тромбксана В₂ клетками крови *in vitro*. Показано, что лиганды каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и анандамид обладают дозозависимым ингибирующим действием на синтез лейкотриена В₄ в цельной крови в условиях *in vitro*. Максимальный ингибирующий эффект WIN 55,212-2 и анандамид на экспрессию лейкотриена В₄ клетками крови оказывают в дозе 10 мкМ. Под действием эндоканнабиноидов выработка тромбксана В₂ не изменяется. Выявленное селективное влияние WIN 55,212-2 и анандамида на экспрессию оксилипинов может быть использовано для разработки фармакологических препаратов целенаправленного иммуномодулирующего действия.

Ключевые слова: иммунокомпетентные клетки, лейкотриен В₄, тромбксан В₂, WIN 55,212-2, анандамид.

Современные исследования структуры и свойств эндогенных каннабиноидов и их рецепторов, а также обнаружение синтетических аналогов с высокой активностью и селективностью по отношению к специфическим рецепторам привели к открытию основных биологических эффектов эндоканнабиноидов и их функций в организме [1, 2]. Результаты научных исследований показали, что эндоканнабиноидная система задействована в модуляции сигнала иммунного ответа через регуляцию экспрессии медиаторов воспаления, в частности цитокинов [3–5]. Значительную роль в реализации иммунной защиты занимают эйкозаноиды.

Эйкозаноиды, или оксилипины, – это большая группа молекулярных медиаторов, синтезирующихся из арахидоновой (20:4n6), дигомо-γ-линоленовой (20:3n6) и эйкозапентаеновой (20:5n3) полиненасыщенных жирных кислот под действием ферментов циклооксигеназы и липоксигеназы почти во всех клетках организма. К эйкозаноидам относятся простагландины, тромбксаны и лейкотриены [6, 7]. Нарушение синтеза и дисбаланс эйкозаноидов в организме является причиной развития хронического воспаления, артериальной гипертонии, ишемической болезни сердца, атеросклероза, сахарного диабета [8, 9]. В связи с этим

существует необходимость изучения веществ, которые могли бы регулировать выработку эйкозаноидов.

Агонисты каннабиноидных рецепторов представляют интерес, так как было показано, что они оказывают противовоспалительное и иммунодепрессивное действие на выработку провоспалительных цитокинов [2, 10]. В исследованиях НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения установлено дозозависимое влияние синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов (WIN 55,212-2 и анандамида) на образование цитокинов иммунокомпетентными клетками (фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6, интерлейкин-8) [11]. Однако отсутствуют сведения о влиянии синтетических лигандов рецепторов эндоканнабиноидной системы на синтез эйкозаноидов [9, 10].

Цель работы – изучить дозозависимое действие синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и анандамида на экспрессию лейкотриена В₄ и тромбксана В₂ клетками крови в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Предметом исследования явились два синтетических агониста каннабиноидных рецепторов: WIN 55,212-2 (R(+)-[2,3-дигидро-5-метил-3-(4-

морфолинметил)пироло[1,2,3-de]-1,4-бензоксазин-6-ил]-1-нафталенилметанона мезилат, R(+)-[2,3-dihydro-5-methyl-3-[(morpholinyl)methyl]pyrrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-yl]-(1-naphthalenyl) methanone mesylate) и анандамид (*N*-арахидоноилэтаноламид; arachidonic acid *N*-(hydroxyethyl)amide), Sigma-RBI (США). Дозозависимое влияние WIN 55,212-2 и анандамида на синтез эйкозаноидов *in vitro* изучали в концентрациях 0,1, 1,0, 3,0 и 10,0 мкМ.

Кровь для исследования отбирали у 12 практически здоровых людей (2 мужчин, 10 женщин) в возрасте от 24 до 38 лет. Взятие крови осуществляли из локтевой вены в стерильные силиконизированные пробирки с гепарином (150 МЕ/мл; Venoject, Бельгия), разбавляли (1:5) стерильной средой RPMI 1640 (MP Bio-medicals, США), содержащей 30 мг/мл глутамина и 50 мкмоль/мл гентамицина (Gibco, США). За 30 мин до инкубации вносили WIN 55,212-2 и анандамид в исследуемых концентрациях. Клетки крови стимулировали липополисахаридом (LPS) *Escherichia coli* (серотип 055:B5, 10 мкг/мл; Sigma, США) и инкубировали в течение 6 часов при слабом покачивании при 37 °С. Пробирки охлаждали, центрифугировали 10 мин при 800 g, супернатант отбирали и замораживали [12].

Базальную и стимулированную LPS секрецию эйкозаноидов определяли иммуноферментным методом (Biotrak EIA system; Amersham Biosciences, Великобритания) по количеству их стабильных метаболитов в сыворотке крови – тромбоксана B_2 , лейкотриена B_4 . Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики. Статистическую значимость различий средних величин при нормальном распределении определяли по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что уровень лейкотриена B_4 в цельной крови доноров находился в пределах 115 ± 8 пг/мл (рис. 1). Стимуляция клеток крови LPS способствовала увеличению концентрации лейкотриена B_4 в 11 раз.

Выявлен дозозависимый эффект синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и анандамида на способность клеток в стимулированной LPS крови экспрессировать лейкотриен B_4 (см. рис. 1).

В низких концентрациях 0,1 и 1,0 мкМ WIN 55,212-2 и анандамид не влияли на уровень секреции лейкотриена B_4 . Под действием WIN

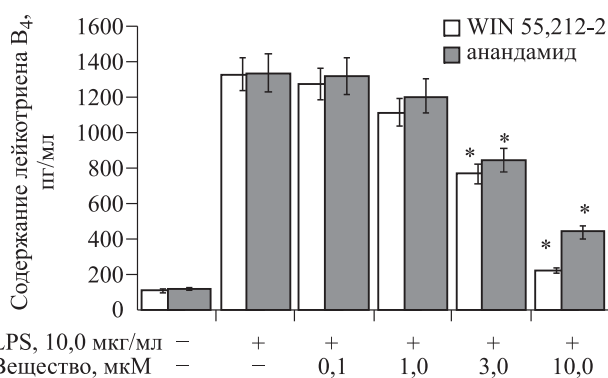


Рис. 1. Влияние WIN 55,212-2 и анандамида на синтез лейкотриена B_4 ($n = 12$). * – достоверный ингибирующий эффект при $p < 0,001$

55,212-2 в дозе 3,0 мкМ наблюдалось уменьшение уровня лейкотриена B_4 на 42 % ($p < 0,001$). Анандамид в концентрации 3,0 мкМ снизил образование клетками крови лейкотриена B_4 на 37 % ($p < 0,001$). Наибольшее ингибирующее влияние синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов на выработку клетками крови провоспалительного оксипина выявлено в концентрации 10,0 мкМ: WIN55,212-2 в дозе 10,0 мкМ снижал продукцию лейкотриена B_4 на 83 % ($p < 0,001$), анандамид – на 67 % ($p < 0,001$). Следовательно, WIN55,212-2 в количестве 10,0 мкМ в большей степени тормозит синтез лейкотриена B_4 клетками крови, чем анандамид.

В эксперименте *in vitro* показано, что синтетические лиганды каннабиноидных рецепторов (WIN 55,212-2 и анандамид) независимо от дозы не влияют на уровень экспрессии тромбоксана B_2 клетками крови (рис. 2).

Известно, что синтез лейкотриенов осуществляется по липоксигеназному пути метаболизма жирных кислот, тромбоксана – по циклоокси-

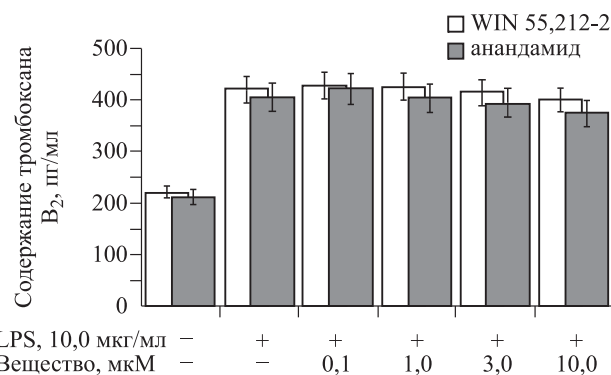


Рис. 2. Влияние WIN 55,212-2 и анандамида на синтез тромбоксана B_2 ($n = 12$)

геназному. Полученные в эксперименте данные свидетельствуют, что синтетические эндоканнабиноиды способны тормозить липоксигеназный путь биосинтеза эйкозаноидов, в результате чего угнетается образование провоспалительного медиатора – лейкотриена В₄, что может подавлять процесс воспаления. Тогда как синтез тромбоксана, по-видимому, осуществляется по механизмам, не затрагивающим эндоканнабиноидную систему. В работах S. Diaz [1] показана способность синтетического каннабиноида (Δ⁹-тетрагидроканнабинол) активировать метаболизм арахидоновой кислоты по липоксигеназному пути. Этот эффект реализуется только при достаточно высоких концентрациях эндоканнабиноидных веществ (32 мкМ), что в физиологических условиях осуществить не реально. Противоречивые данные о влиянии эндоканнабиноидов на метаболизм жирных кислот и синтез эйкозаноидов обусловлены различием в используемых дозах синтетических эндоканнабиноидов и в их химическом строении. Тем не менее, основываясь на результатах собственных исследований и данных литературы, можно предположить, что механизм действия эндоканнабиноидов на синтез оксилипинов осуществляется по липоксигеназному пути метаболизма арахидоновой кислоты. Кроме того, эффект действия синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов на синтез провоспалительных медиаторов имеет ярко выраженный дозозависимый характер.

Таким образом, установлено, что лиганды каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и анандамид обладают дозозависимым ингибирующим действием на синтез лейкотриена В₄ в цельной крови в условиях *in vitro*. В дозе 10 мкМ WIN 55,212-2 и анандамид в большей степени подавляют экспрессию лейкотриена В₄ клетками крови. Под действием эндоканнабиноидов не изменяется выработка тромбоксана В₂. Результаты исследования расширяют знания о механизмах регуляции иммунного ответа эндоканнабиноидной системой. Выявленное селективное влияние WIN 55,212-2 и анандамида на экспрессию оксилипинов может быть использовано для разработки фармакологических препаратов целенаправленного иммуномодулирующего действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Diaz S., Specter S., VOLLanderhoek J.Y. et al. The effect of delta-9-tetrahydrocannabinol on arachidonic acid metabolism in human peripheral blood mononuclear cells // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1994. 268. 1289–1296.

2. Hiley C.R. Endocannabinoids and the heart // J. Cardiovasc. Pharmacol. 2009. 53. (4). 267–76.
3. Гусев Е.Ю., Осипенко А.В. Иммунология системного воспаления // Иммунология Урала. 2001. (1). 4–8.
Gusev E., Osipenko A.V. Immunology of systemic inflammation // Immunologiya Urala. 2001. (1). 4–8.
4. Исаченко Е.Г., Виткина Т.И., Бердышев Е.В. Влияние лиганда каннабиноидного рецептора WIN 55,212-2 на выработку TNF-α человеческими мононуклеарными клетками // Эксперим. и клинич. фармакология. 2004. 67. (2). 49–50.
Isachenko E.G., Vitkina T.I., Berdyshev E.V. Effect of the cannabinoid receptor ligand WIN-55,212-2 on the TNF-alpha production by human mononuclear cells // Eksperim. i klinich. farmakologiya. 2004. 67. (2). 49–50.
5. Márquez L., Abanades S., Andreu M. Endocannabinoid system and bowel inflammation // Med. Clin. (Barc.). 2008. 131. (13). 513–517.
6. Конь И.Я., Шилина Н.М., Вольфсон С.Б. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в профилактике и лечении болезней детей и взрослых // Лечащий врач. 2006. (4). 55–59.
Kon' I.Ya., Shilina N.M., Volfson S.B. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in prevention and treatment of disease in children and adults // Lechashehiy vrach. 2006. (4). 55–59.
7. Zhou L., Nilsson A. Sources of eicosanoid precursor fatty acid pools in tissues // J. Lipid Res. 2001. (42). 1521–1542.
8. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. Системное воспаление с позиции теории типowego патологического процесса // Цитокины и воспаление. 2007. 6. (4). 9–21.
Gusev E.Yu., Chereshevnev V.A., Yurchenko L.N. Systemic inflammation as a typical pathological process // Tsitokiny i vospalenie. 2007. 6. (4). 9–21.
9. Orgado J.M., Fernández-Ruiz J., Romero J. The endocannabinoid system in neuropathological states // Int. Rev. Psychiatry. 2009. 21. (2). 172–180.
10. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. М., 2000. 469 с.
Kol'man Ya., Rem K.G. Obvious biochemistry. M., 2000. 469 p.
11. Лобанова Е.Г. Действие синтетических лигандов каннабиноидных рецепторов на реактивность иммунокомпетентных клеток *in vitro* // Медицинская иммунология. 2009. 11. (2–3). 261–264.
Lobanova E.G. The effect of synthetic cannabinoid receptors on the reactivity of the immune cells *in vitro* // Meditsinckay immunologiya. 2009. 11. (2–3). 261–264.

12. Исаченко Е.Г., Виткина Т.И., Геронина С.А. и др. Спонтанный и липополисахарид-индуцированный синтез цитокинов клетками крови человека в норме и при аллергопатологиях // Иммунология. 1999. (5). 37–39.

Isachenko E.G., Vitkina T.I., Geronina C.A. et al. Spontaneous and lipopolysaccharide-induced synthesis of cytokines by human blood cells in health and allergic diseases // Immunologiya. 1999. (5). 37–39.

INFLUENCE OF THE CANNABINOID RECEPTORS SYNTHETIC LIGANDS ON EICOSANOIDS SYNTHESIS *IN VITRO*

Elena Grigorievna LOBANOVA

*Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation
690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g*

A dose-dependent effect of synthetic ligands of cannabinoid receptors (WIN 55.212-2 and anandamide) on the synthesis of leukotriene B₄ and thromboxane B₂ by blood cells *in vitro* was studied. It has been shown that WIN 55.212-2 and anandamide have a dose-dependent effect of inhibition on the synthesis of leukotriene B₄ in whole blood *in vitro*. WIN 55.212-2 and anandamide have a maximum effect on the expression of leukotriene B₄ in a dose of 10 μM. The selective effect of WIN 55.212-2 and anandamide on the expression of oxylipins can be used for the development of immunomodulatory targeted pharmacological medicines.

Key words: immunocompetent cells, leukotriene B₄, thromboxane B₂, WIN 55.212-2, anandamide.

*Lobanova E.G. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of biomedical researches,
e-mail: isachenko1@yandex.ru*

МОДИФИКАЦИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЖИРОВОГО РАЦИОНА

Татьяна Павловна НОВГОРОДЦЕВА¹, Юлия Константиновна КАРАМАН¹,
Татьяна Александровна ГВОЗДЕНКО¹, Наталья Владимировна ЖУКОВА²

¹ Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, Владивосток, ул. Русская, 73-г

² Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН
690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17

Изучены состав и метаболические превращения жирных кислот фракций эфиров стерина, фосфолипидов, триацилглицеридов печени крыс линии Вистар в условиях высокожирового рациона. Анализ жирных кислот ткани печени крыс проводили через 90 и 180 суток воздействия высокожировым рационом. Установлено повышение доли 18:1n9, 20:5n3, 20:3n6 в печени крыс через 90 суток высокожирового рациона, что свидетельствует об активации компенсаторного синтеза физиологически важных жирных кислот. На 180 сутки эксперимента наблюдалось истощение пула 18:3n6, 22:4n6, 22:5n3 во фракции фосфолипидов, 18:2n6, 18:3n6, 20:5n3, 22:6n3 – во фракции триацилглицеридов и уменьшение уровня 20:4n6 во всех исследуемых фракциях липидов, а также снижение активности Δ 5-десатуразы и элонгаз. Выявленная модификация состава жирных кислот в печени крыс в условиях высокожировой нагрузки отражает формирование адаптационных и патологических изменений печени.

Ключевые слова: жирные кислоты, печень, высокожировой рацион.

Алиментарные факторы, в частности насыщенные жиры и холестерин, способны существенно изменять метаболические процессы в печени, влиять на обмен липидов, синтез, ресинтез жирных кислот и образование липопротеидов [1, 2]. Высокожировая нагрузка способствует аккумуляции липидов в гепатоцитах, что является триггерным механизмом развития стеатоза печени и неалкогольного стеатогепатита [1, 3, 4]. Однако существуют экспериментальные данные, свидетельствующие о способности алиментарных насыщенных жирных кислот индуцировать экспрессию специфических генов (SREBP, PRAR- α), ответственных за липогенез жирных кислот и их метаболические превращения, следствием чего становится активация компенсаторного синтеза *de novo* жирных кислот гепатоцитами [5].

Этот механизм опосредуется через активацию ферментов элонгаз, осуществляющих удлинение цепи насыщенных жирных кислот, а также Δ 9-десатуразы, превращающей насыщенные жирные кислоты в моноеновые. Модификация состава жирных кислот в печени представляет собой компенсаторный ответ, предотвращающий дефицит моноеновых жирных кислот в клеточных мембранах. В результате метаболических превращений из пальмитиновой кислоты (16:0) образуется пальмитолеиновая (16:1n9) или стеариновая (18:0), из которой в свою очередь синтезируется олеиновая кислота (18:1n9) [6].

Можно предположить, что в ответ на высокожировую нагрузку в печени реализуются два противоположных по своей физиологической роли процесса: накопление поступивших с пи-

Новгородцева Т.П. – д.б.н., проф., зам. директора по НИР, зав. лабораторией биомедицинских исследований, e-mail: curdeal@mail.ru

Караман Ю.К. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, e-mail: karaman@inbox.ru

Гвозденко Т.А. – д.м.н., директор, e-mail: vfdnz@mail.ru

Жукова Н.В. – д.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории сравнительной биохимии, e-mail: nzjukova35@list.ru

щей экзогенных насыщенных липидов и эндогенный синтез моноеновых и полиненасыщенных жирных кислот. Противоречивая информация о способности печени адаптироваться к воздействию неблагоприятных алиментарных факторов обосновывает необходимость изучения механизмов, опосредующих модуляцию метаболизма жирных кислот и детерминирующих формирование патологии печени.

Целью работы явилось изучение состава и метаболических превращений жирных кислот полярных и нейтральных липидов печени крыс линии Вистар в условиях высокожирового рациона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 30 половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар с начальной массой $172,0 \pm 5,6$ г. Экспериментальный высокожировой рацион включал топленое говяжье сало (19 % от общей массы рациона) и холестерин (ХС, 2 % от общей массы рациона) [7]. Сформировано 3 группы животных по 10 особей в каждой: контрольная группа – интактные крысы, находившиеся на стандартном рационе питания; опытные группы – животные, содержащиеся на экспериментальном рационе 90 суток (опытная группа 1) и 180 суток (опытная группа 2). Эвтаназию животных проводили через 90 и 180 суток от начала эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом согласно требованиям Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС.

Экстракцию липидов из ткани печени проводили по методу Блайя и Дайера [8]. Разделение нейтральных и полярных липидов ткани печени осуществляли методом одномерной микротонкослойной хроматографии на пластинках с закрепленным слоем силикагеля. В качестве системы растворителей использовали смесь гексана, диэтилового эфира и уксусной кислоты (80:20:1, по объему). Зоны силикагеля, содержащие фосфолипиды (ФЛ), триацилглицерин (ТГ) и эфиры стероидов (ЭС), собирали шпателем, ТГ и ЭС элюировали хлороформом, ФЛ – метанолом. Метилловые эфиры жирных кислот получали по методу Каро и Дубак [9], анализировали на газожидкостном хроматографе Shimadzu GC-2010 (Япония) с пламенно-ионизационным детектором. Идентификацию пиков проводили по значениям эквивалентной длины цепи [10]. Результаты выражали в относительных процентах от суммы жирных кислот. Использовали расчетные показатели соотношений

полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), характеризующие активность ферментов элонгаз и десатураз [6].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m) и представляя в виде $M \pm m$. Статистическую значимость различий средних величин определяли с помощью критерия Стьюдента после проверки на нормальность распределения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состав жирных кислот полярных и нейтральных липидов печени крыс в условиях высокожирового рациона представлен в табл. 1.

Через 90 суток от начала эксперимента в печени крыс опытной группы 1 в пуле жирных кислот, этерифицированных в ЭС, повышалось относительное содержание миристиновой кислоты (14:0), уровень пальмитиновой кислоты (16:0) снижался во всех исследуемых фракциях липидов. Доля стеариновой кислоты (18:0) увеличивалась в ФЛ и уменьшалась в ЭС. Метаболические превращения ПНЖК через 90 суток эксперимента были направлены на компенсаторное увеличение синтеза 18:1n9, 20:5n3, 20:3n6, поддержание гомеостаза эссенциальных 18:2n6, 18:3n3. При этом 20:5n3 этерифицировались преимущественно в ЭС, 20:3n6 – в ТГ и ФЛ. Обнаружено увеличение доли докозапентаеновой (22:5n3) ПНЖК в ТГ, что, по-видимому, необходимо для сохранения пула данной жирной кислоты в клеточных и тканевых субстратах, синтеза оксипинов. Выявленное перераспределение физиологически важных жирных кислот между фракциями полярных и нейтральных липидов, характеризующееся замещением n3 ПНЖК в фосфолипидах на n6 ПНЖК, указывает на приоритетный синтез простаноидов 2-й серии (простагландины, тромбоксаны) и лейкотриенов 4-й серии. Данное предположение подтверждается снижением доли во всех исследуемых фракциях липидов предшественника этих эйкозаноидов арахидоновой кислоты (20:4n6). Повышенный уровень олеиновой кислоты (18:1n9) обнаруживался в ФЛ, ТГ и ЭС. Выявленный факт на фоне истощения стеариновой кислоты свидетельствует о повышении активности $\Delta 9$ -десатуразы, осуществляющей метаболические превращения 18:0 \rightarrow 18:1n9. Об активации процесса $\Delta 9$ -десатурации жирных кислот при высокожировом рационе свидетельствуют данные других авторов [5, 11].

Таблица 1

Состав основных жирных кислот липидных фракций печени крыс
в условиях высокожировой нагрузки, $M \pm t$

Жирные кислоты, %	Фракция липидов	Группа контроля, $n = 10$	Опытная группа 1, $n = 10$	Опытная группа 2, $n = 10$
14:0	ФЛ	0,28 ± 0,04	0,26 ± 0,03	0,20 ± 0,04
	ТГ	0,86 ± 0,09	*0,63 ± 0,03	*0,65 ± 0,05
	ЭС	0,58 ± 0,12	***1,2 ± 0,4	***0,27 ± 0,03
16:0	ФЛ	20,48 ± 0,47	***17,56 ± 1,09	19,50 ± 0,27
	ТГ	26,47 ± 0,56	***16,63 ± 0,43	***19,14 ± 0,47
	ЭС	49,65 ± 2,51	***14,1 ± 4,1	***11,2 ± 0,61
18:0	ФЛ	18,97 ± 0,67	***23,73 ± 0,81	19,8 ± 0,56
	ТГ	2,45 ± 0,05	3,3 ± 0,2	2,4 ± 0,17
	ЭС	6,18 ± 0,38	*4,7 ± 1,2	***3,68 ± 0,43
18:1n9	ФЛ	4,71 ± 0,19	***6,0 ± 0,2	***8,64 ± 0,33
	ТГ	28,57 ± 3,06	**34,56 ± 1,09	***46,06 ± 1,28
	ЭС	15,57 ± 1,61	***54,03 ± 4,66	***57,7 ± 3,49
18:2n6	ФЛ	13,4 ± 0,44	***18,2 ± 0,2	**14,9 ± 0,4
	ТГ	18,3 ± 0,7	***27,86 ± 0,61	*16,5 ± 0,22
	ЭС	6,85 ± 0,70	***1,16 ± 0,11	**8,94 ± 0,19
18:3n6	ФЛ	0,22 ± 0,02	***0,10 ± 0,01	*0,14 ± 0,02
	ТГ	0,46 ± 0,03	0,43 ± 0,03	*0,34 ± 0,01
	ЭС	0,35 ± 0,15	tr	***0,90 ± 0,01
18:3n3	ФЛ	0,15 ± 0,03	0,10 ± 0,01	0,15 ± 0,05
	ТГ	0,72 ± 0,05	***1,36 ± 0,03	0,71 ± 0,15
	ЭС	0,52 ± 0,12	***0,21 ± 0,08	*0,85 ± 0,19
20:3n9	ФЛ	0,40 ± 0,09	0,25 ± 0,05	0,27 ± 0,08
	ТГ	0,34 ± 0,08	tr	0,32 ± 0,06
	ЭС	tr	tr	0,28 ± 0,02
20:3n6	ФЛ	1,35 ± 0,09	***2,96 ± 0,23	***2,88 ± 0,23
	ТГ	0,46 ± 0,15	*1,03 ± 0,2	0,5 ± 0,06
	ЭС	0,88 ± 0,16	tr	***0,3 ± 0,05
20:4n6	ФЛ	21,86 ± 0,68	*17,23 ± 1,46	*17,5 ± 1,56
	ТГ	3,11 ± 0,36	***1,1 ± 0,05	***0,78 ± 0,07
	ЭС	4,9 ± 0,34	***1,15 ± 0,28	***1,2 ± 0,15
20:5n3	ФЛ	0,57 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,69 ± 0,11
	ТГ	0,97 ± 0,13	0,7 ± 0,05	***0,4 ± 0,07
	ЭС	0,18 ± 0,04	*0,11 ± 0,03	0,31 ± 0,1
22:4n6	ФЛ	0,35 ± 0,05	***0,10 ± 0,01	*0,23 ± 0,02
	ТГ	0,38 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,48 ± 0,26
	ЭС	0,60 ± 0,01	tr	tr
22:5n3	ФЛ	1,03 ± 0,08	1,13 ± 0,08	*0,83 ± 0,08
	ТГ	0,98 ± 0,09	***2,13 ± 0,08	0,85 ± 0,16
	ЭС	0,5 ± 0,03	0,63 ± 0,18	0,61 ± 0,07
22:6n3	ФЛ	8,30 ± 0,46	8,50 ± 0,45	8,6 ± 0,97
	ТГ	3,08 ± 0,37	4,0 ± 0,3	2,8 ± 0,12

Примечание. Здесь и в табл. 2 отличие от величины соответствующего показателя в контрольной группе статистически значимо: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$; tr – менее 0,1 %.

Таблица 2

Показатели метаболических превращений жирных кислот в печени крыс в условиях высокожировой нагрузки, $M \pm t$

Показатель	Группа контроля, $n = 10$	Опытная группа 1, $n = 10$	Опытная группа 2, $n = 10$
Фракция фосфолипидов			
18:2n6/20:4n6	0,61 ± 0,03	**1,05 ± 0,04	**0,85 ± 0,02
22:6n3/22:5n3	8,07 ± 0,43	7,33 ± 0,37	*10,1 ± 0,74
20:4n6/22:6n3	2,70 ± 0,23	2,06 ± 0,27	2,84 ± 1,13
20:4n6/20:3n6	16,78 ± 1,23	***5,93 ± 0,95	***6,33 ± 1,84
20:4n6/20:5n3	45,15 ± 4,63	***29,6 ± 1,34	***23,0 ± 1,7
Фракция триацилглицеридов			
18:2n6/20:4n6	5,88 ± 0,11	***25,3 ± 1,9	***21,1 ± 2,3
22:6n3/22:5n3	3,16 ± 0,08	***1,86 ± 0,17	2,82 ± 0,11
20:4n6/22:6n3	1,25 ± 0,08	***0,26 ± 0,03	***0,28 ± 0,03
20:4n6/20:3n6	9,06 ± 1,01	***1,06 ± 0,14	***1,61 ± 0,07
20:4n6/20:5n3	5,3 ± 0,7	***1,56 ± 0,18	***1,93 ± 0,25
Фракция эфиров стерина			
18:2n6/20:4n6	1,39 ± 0,11	***13,18 ± 1,21	***7,45 ± 0,37
22:6n3/22:5n3	2,05 ± 0,05	***3,8 ± 0,2	***3,83 ± 0,68
20:4n6/22:6n3	8,88 ± 0,75	***1,4 ± 0,4	***2,56 ± 0,78
20:4n6/20:3n6	6,86 ± 1,81	***1,4 ± 0,4	4,62 ± 0,57
20:4n6/20:5n3	38,98 ± 5,34	***3,84 ± 0,01	***2,82 ± 0,18

Для анализа метаболических превращений жирных кислот и оценки активности ферментов, участвующих в метаболизме жирных кислот, использованы показатели соотношений их отдельных представителей [6]. Об активности элонгаз судили по соотношению 18:2n6/20:4n6. Анализ взаимоотношений жирных кислот – предшественников и ингибиторов синтеза эйкозаноидов в данном исследовании осуществляли по соотношениям 20:4n6/22:6n3 и 20:4n6/20:5n3. Для оценки активности $\Delta 5$ -десатуразы использовали соотношение 20:4n6/20:3n6, активность ферментов последнего этапа биосинтеза жирных кислот оценивали по соотношению 22:6n3/22:5n3. Результаты эксперимента показали увеличение соотношения 18:2n6/20:4n6 во всех исследуемых фракциях липидов печени, что косвенно указывает на активацию процесса элонгации жирных кислот (табл. 2). Показатели превращений ЖК, характеризующие активность ферментов десатураз, снижались у крыс опытной группы 1 по сравнению с контрольной группой. Выявлено уменьшение соотношения 20:4n6/20:3n6 и 20:4n6/20:5n3, что указывает на угнетение активности $\Delta 5$ -десатуразы и ферментов последнего этапа биосинтеза ЖК. Соотношение 22:6n3/22:5n3 увеличивалось только в ЭС, свидетельствуя об ингибировании синтеза оксипинонов из n3 ПНЖК. Снижение расходо-

вания n3 ПНЖК в циклооксигеназных и липоксигеназных реакциях образования оксипинонов способствует сохранению физиологического баланса полиеновых жирных кислот и поддержанию структурно-функциональных свойств цитомембраны [6, 12].

Через 180 суток высокожировой нагрузки (опытная группа 2) в пуле жирных кислот печени выявлено понижение уровней 14:0, 16:0 и 18:0 в ЭС относительно контрольной группы (см. табл. 1). Доля этих жирных кислот не изменялась во фракции ФЛ. В ТГ уменьшалась концентрация 14:0 и 16:0. Фосфолипиды печени крыс опытной группы 2 имели низкое содержание кислот 18:3n6, 22:4n6, 22:5n3. В ТГ выявлялось снижение доли 18:2n6, 18:3n6, 20:5n3, 22:6n3 по сравнению с контрольной группой. Уменьшение содержания γ -линоленовой кислоты в ТГ и ФЛ сопровождалось повышением ее доли в ЭС, что, возможно, является условием сохранения гомеостаза этой жирной кислоты в клетках. Особенностью ЭС на 180 суток высокожировой нагрузки стало увеличение содержания 18:2n6 и 18:3n3. Дефицит 20:4n6 обнаруживался во всех исследуемых фракциях липидов, тогда как доля олеиновой кислоты, напротив, повышалась. Активность $\Delta 5$ -десатуразы в печени снижалась через 180 суток эксперимента, что на фоне повышения соотношения 22:6n3/

22:5n3 – показателя активности ферментов синтеза вазоактивных эйкозаноидов, возможно, и явилось причиной дефицита 20:22 n6 и n3 ПНЖК (см. табл. 2). Наблюдалось снижение соотношения 18:2n6/20:4n6 по сравнению с опытной группой 1 за счет ингибирования процесса элонгации жирных кислот. Установленное снижение в липидных фракциях содержания ПНЖК подтверждает предположение о нарушении метаболизма этих компонентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, воздействие на крыс высокожировой нагрузки в течение 90 суток стимулирует компенсаторный синтез длинноцепочечных ПНЖК в печени, что приводит к увеличению уровней олеиновой, эйкозапентаеновой, дигомо-γ-линоленовой кислот. Выявленный факт на фоне приоритетной этерификации n3 ПНЖК в нейтральные липиды является важным адаптационным механизмом липидного метаболизма и поддержания гомеостаза физиологически важных жирных кислот в условиях дефицита их алиментарного поступления. Срыв компенсаторных процессов в метаболизме ПНЖК в печени наблюдался на 180 сутки эксперимента. В печени крыс снижалась активность элонгазы и Δ5-десатуразы. Это способствовало угнетению образования высоконасыщенных длинноцепочечных жирных кислот семейства n3 и n6. Подобного рода модификация состава жирных кислот может приводить к нарушению физико-химических свойств цитомембран, увеличению их микровязкости [12]. При заболеваниях печени выявленные изменения состава жирных кислот мембран гепатоцитов провоцируют нарушение их функциональной активности и, в крайнем своем проявлении, некроз клеток, являясь главной причиной запуска процессов фиброгенеза [13]. Полученные данные свидетельствуют, что характер модификации жирных кислот липидов печени отражает формирование адаптационных и патологических изменений ткани печени как взаимосвязанных процессов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рыжников В.Е. Особенности влияния насыщенных и ненасыщенных жирных кислот на обмен липидов, липопротеидов и развитие ишемической болезни сердца // Вопр. питания. 2002. (3). 40–45.

Ryzhnikov V.E. Features of the influence of saturated and unsaturated fatty acids on lipid

metabolism, lipoprotein and coronary heart disease // Вопр. питания. 2002. (3). 40–45.

2. Gibbons G.F., Wiggins D., Brown A.M., Hebbachi A.M. Synthesis and function of hepatic very-low-density lipoprotein // Biochem. Soc. Trans. 2004. 32. 59–64.

3. Gentile C.L., Pagliassotti M.J. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease // J. Nutr. Biochem. 2008. 19. 567–576.

4. Postic C., Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice // J. Clin. Invest. 2008. 118. 829–838.

5. Oostervee M.H., van Dijk T.H., Tietge U.J. et al. High fat feeding induces hepatic fatty acid elongation in mice // PLoS One. 2009. 4. (6). e6066.

6. Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Светашев В.И. Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях. Владивосток: Дальнаука, 2002. 296 с.

Endakova E.A., Novgorodtseva T.P., Svetashev V.I. Modification of blood fatty acids composition in case of cardio-vascular diseases. Vladivostok: Dalnauka, 2002. 296 p.

7. Fan J. Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia // World J. Gastroenterol. 2003. 9. (9). 2045–2049.

8. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. 37. (8). 911–917.

9. Carreau J.P., Duback J.P. Adaptation of a macroscale method to the microscale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract // J. Chromatogr. 1978. 151. (3). 384–390.

10. Stransky K., Jursik T., Vitek A., Skorepa J. An improved method of characterizing fatty acids by equivalent chain length values // J. High. Res. Chromatogr. 1992. 15. 730–740.

11. Westerbacka J., Lammi K., Häkkinen A. et al. Dietary Fat Content Modifies Liver Fat in Overweight Nondiabetic Subjects // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2005. 90. (5). 2804–2809.

12. Hulbert A.J., Turner N., Storlien L.H. et al. Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2005. 80. (1). 155–169.

13. Буверова Е.Л., Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Атерогенная дислипидемия и печень // Рос. мед. вести. 2008. (1). 17–23.

Bueverova E.L., Drapkina O.M., Ivashkin V.T. Atherogenous dyslipidemia and liver // Ros. med. vesti. 2008. (1). 17–23.

MODIFICATION OF THE FATTY ACIDS OF RAT LIVER IN CONDITIONS OF HIGHFAT LOAD

**Tatyana Pavlovna NOVGORODTSEVA¹, Yulia Konstantinovna KARAMAN¹,
Tatyana Alexandrovna GVOZDENKO¹, Natalia Vladimirovna ZHUKOVA²**

¹ *Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation 690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g*

² *Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunsky of the FEB RAS 690041, Vladivostok, Pal`chevsky str., 17*

The composition and metabolic transformations of the fatty acids ether sterol, phospholipids, and threeacylglycerides in the liver of Wistar rats under the highfat load condition have been investigated. The increase of 18:1n9, 20:5n3, 20:3n6 quantity in the rats' liver was registered after 90 days of the highfat load. The 18:3n6, 22:4n6, 22:5n3 pool exhaustion in phospholipids fraction, 18:2n6, 18:3n6, 20:5n3, 22:6n3 – in the threeacylglycerides and decrease of the 20:4n6 level in the all observed fractions were revealed on the 180th day of the experiment. The detected modification of the fatty acids composition in the rats' liver under the alimentary stress reproduces formation of adaptive and pathological liver changes.

Key words: fatty acid, liver, stress.

Novgorodtseva T.P. – doctor of biological sciences, professor, deputy director, head of the laboratory of biomedical researches, e-mail: curdeal@mail.ru

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of biomedical researches, e-mail: karaman@inbox.ru

Gvozdenko T.A. – doctor of medical sciences, director, e-mail: vfdnz@mail.ru

Zhukova N.V. – doctor of biological sciences, associated professor, senior researcher, e-mail: nzhukova35@list.ru

ИНТЕГРАЦИЯ ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ СИСТЕМ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ВЫСОКОЙ ЖИРОВОЙ НАГРУЗКЕ

Юлия Константиновна КАРАМАН

*Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73-г*

Изучен характер внутри- и межсистемного взаимодействия липидтранспортной, антиоксидантной, прооксидантной, иммунной систем у крыс при адаптации к высокой жировой нагрузке. Установлено, что обязательными атрибутами адаптации к алиментарным стресс-факторам является усиление крепости внутри- и межсистемной интеграции гомеостатических систем, что свидетельствует о функционировании организма с максимальной степенью напряжения.

Ключевые слова: адаптация, высокая жировая нагрузка, межсистемное взаимодействие.

Одной из актуальных проблем фундаментальной и практической биомедицины является проблема адаптации человека к изменяющимся условиям окружающей среды [1]. Лидирующие позиции среди причин, обеспечивающих формирование стрессорных реакций, занимают алиментарные факторы, в частности избыточное потребление животного жира, холестерина [2]. Наличие пробелов в исследовании особенностей реагирования организма на алиментарные стресс-факторы затрудняет возможность идентификации механизмов развития заболеваний, индуцированных неправильным питанием.

Поддержание жизнедеятельности организма в условиях воздействия алиментарным стрессогеном, сохранение оптимальных характеристик жизненных функций требуют дополнительного включения физиологических механизмов, их более интенсивное функционирование и комплексообразование [3]. Основой интегративной регуляции и защиты организма, обеспечивающей формирование адаптивных реакций, являются иммунобиохимические процессы, реализация которых осуществляется при тесном взаимодействии липидтранспортной, антиоксидантной, прооксидантной, иммунной систем [4]. При этом возникающие изменения в функционировании одной из них могут привести к разнонаправленным реакциям, способствующим адаптации или ее срыву и развитию болезни.

Несмотря на многочисленные исследования, которые выявили многие важные факторы и

механизмы адаптации организма, недостаточно изучен механизм функционального сопряжения и взаиморегуляции основных систем, поддерживающих иммунометаболический гомеостаз в условиях нерационального питания. Вопрос о формировании адаптационных реакций организма на действие высокой жировой нагрузки, соотношении специфических и неспецифических проявлений этих реакций активно дискутируется. Например, на фоне повышенного потребления холестерина изменяется функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы – от гиперфункции на начальных этапах холестериновой нагрузки до постепенной нормализации ее функционирования [5]. Это дает основание говорить о способности гипержирового рациона влиять на центральное нейроэндокринное звено регуляции адаптационных процессов. Применение информационно-аналитического моделирования функциональных внутри- и межсистемных связей с использованием метода корреляционных плеяд Терентьева [6] расширяет возможности установления особенностей ответной реакции систем гомеостаза и механизмов адаптации организма к алиментарному стрессогену.

Цель работы – изучить характер внутри- и межсистемного взаимодействия липидтранспортной, антиоксидантной, прооксидантной, иммунной систем у крыс при адаптации к высокой жировой нагрузке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 20 половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар с начальной массой $173 \pm 5,6$ г. Сформировано 2 группы животных по 10 особей в каждой: контрольная группа – интактные крысы, находившиеся на стандартном рационе питания; опытная группа – животные, содержащиеся 30 суток на экспериментальном высоком жировом рационе. Обоснованием выбора данного периода наблюдения явились ранние исследования М.Т. Луценко [5], в которых было показано, что в течение 14–30 суток воздействия на экспериментальных животных высокохолестериновой нагрузкой формируется стрессовая реакция организма, характеризующаяся экстренной гиперфункцией гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы. Высокая жировая нагрузка включала говяжье сало и холестерин (19 и 2 % от общей массы рациона соответственно). Эвтаназию животных проводили путем декапитации под эфирным наркозом согласно требованиям Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС. Для оценки функционирования иммунной системы определяли количество лейкоцитов и лимфоцитов, проводили тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ), определяли резерв НСТ (НСТР), индекс активации нейтрофилов (ИАН) и его резерв (ИАНР), содержание циркулирующих иммунных комплексов малых (ЦИК С3) и больших (ЦИК С4) размеров, их соотношение (К) [7]. Уровень белков острой фазы (гаптоглобин, кислый-1- α -гликопротеин), липидный спектр (общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеинов высокой плотности – ХС ЛПВП) в сыворотке крови определяли на биохимическом анализаторе FP-901M (LabSystem, Финляндия) с помощью наборов фирмы LabSystem. Рассчитывали концентрацию холестерина липопротеинов низкой (ХС ЛПНП) и очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), индекс атерогенности [8]. Оценивали содержание фактора некроза опухоли (TNF- α) в крови и печени методом иммуноферментного анализа (Genzyme diagnostics, США). Рассчитывали индекс активности цитокиновой регуляции (ИАЦР) как соотношение уровня индуцированного синтеза TNF- α (стимулированного липополисахаридом *Escherichia coli*) к спонтанному (нестимулированному). Состояние системы «прооксиданты – антиоксиданты» характеризовали по интегральному показателю антиоксидантной активности (АОА) в плазме крови, устойчивости эритроцитов к перекисному гемолизу (УЭПГ), активности глутатионредук-

тазы (ГР) и каталазы в эритроцитах, содержанию продуктов липопероксидации (малоновый диальдегид, гидроперекиси липидов) в плазме крови и гомогенатах печени, содержанию метаболитов оксида азота и монооксида углерода в крови [9]. Для разделения полярных липидов мембран эритроцитов использовали двумерную микротонкослойную хроматографию. Количественный анализ отдельных классов фосфолипидов представляли в процентах от их общей суммы. Состав жирных кислот фосфолипидов эритроцитов анализировали методом газофлюидной хроматографии. Рассчитывали суммарные значения полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) семейства n3 и n6 (Σ n3 и Σ n6) [10].

При проведении статистической обработки результатов исследования вычисляли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего (m). Статистическую значимость различий средних величин определяли с помощью критерия Стьюдента. Для анализа внутри- и межсистемных взаимодействий использовали метод корреляционных плеяд [6]. Применяли стандартные алгоритмы корреляционного анализа, в исследовании включены только достоверные коэффициенты r . Плеяды первого уровня характеризовали пороговыми значениями r 0,99–0,8, второго уровня – 0,79–0,6, третьего уровня – 0,59–0,5. Определяли следующие показатели: G – мощность плеяды (число признаков), G/k – относительная мощность плеяды (число признаков/общее количество участников), D – крепость плеяды (средняя арифметическая внутрплеядных коэффициентов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Воздействие на крыс высокой жировой нагрузкой в течение 30 суток сопровождалось значительными изменениями в показателях гомеостатических систем (см. таблицу).

Состояние системы иммунитета у крыс в условиях высокой жировой нагрузки характеризовалось высокой реактивностью и метаболической активностью нейтрофилов, о чем свидетельствовало увеличение показателей НСТ и ИАН, повышение уровня TNF- α в сыворотке крови и печени ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными животными. ИАЦР, показатель характеризующий реактивную способность иммунокомпетентных клеток, снижался в 2 раза. Изменения в гуморальном звене иммунитета у крыс опытной группы сопровождалось повышением уровней ЦИК С3 и ЦИК С4 ($p < 0,001$). Выявлено увеличение содержания гаптоглобина, кислого α -1-глипротеина ($p < 0,001$) в крови крыс опытной

Таблица

Показатели систем гомеостаза при адаптации к высокой жировой нагрузке у крыс, $M \pm m$

Показатель	Контрольная группа, $n = 10$	Опытная группа, $n = 10$
Показатели иммунной системы		
Содержание лейкоцитов, Г/л	$7,43 \pm 0,24$	$8,52 \pm 0,12^{***}$
Содержание лимфоцитов, %	$22,07 \pm 0,73$	$26,70 \pm 0,40^{***}$
НСТ, %	$8,57 \pm 0,46$	$18,8 \pm 0,8^{***}$
НСТР, у. е.	$1,45 \pm 0,14$	$1,16 \pm 0,04$
ИАН, у. е.	$0,12 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01^{***}$
ИАНР, у. е.	$1,49 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,03^{***}$
ЦИК С3, у. е.	$0,42 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,02^{***}$
ЦИК С4, у. е.	$0,44 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,03^{***}$
С4/С3, у. е.	$1,04 \pm 0,04$	$1,14 \pm 0,10$
Содержание TNF- α в крови, пг/мл	$31,3 \pm 4,0$	$849,9 \pm 53,1^{***}$
Содержание TNF- α (–) ЛПС, пг/мл	$49,2 \pm 4,8$	$1584 \pm 147^{***}$
Содержание TNF- α (+) ЛПС, пг/мл	$188,4 \pm 15,6$	$2923 \pm 176^{***}$
ИАЦР, у. е.	$4,0 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,1^{***}$
Содержание TNF- α в печени, пг/мл	252 ± 10	$8379 \pm 450^{***}$
Содержание гаптоглобина, г/л	$0,99 \pm 0,08$	$2,28 \pm 0,14^{***}$
Содержание кислого α -1-гликопротеина, г/л	$0,83 \pm 0,03$	$1,82 \pm 0,02^{***}$
Показатели системы «прооксиданты – антиоксиданты»		
Антиоксидантная активность, %	$22,7 \pm 0,6$	$24,64 \pm 2,2$
Содержание МДА в эритроцитах, нмоль/г гемоглобина	$4,6 \pm 0,3$	$5,31 \pm 0,31^*$
Содержание МДА в печени, нмоль/мг белка	$2,84 \pm 0,65$	$4,66 \pm 0,15^{***}$
Содержание гидроперекисей липидов, у. е.	$0,66 \pm 0,07$	$3,1 \pm 0,1^{***}$
Содержание оксида азота, мкмоль/л	$33,0 \pm 1,4$	$42,0 \pm 1,2^*$
Содержание монооксида углерода, мг/л	$0,32 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,04^*$
Устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу, %	$48,5 \pm 7,0$	$12,9 \pm 1,0^{***}$
Активность каталазы, %	$84,83 \pm 2,05$	$73,21 \pm 3,24^*$
Активность глутатионпероксидазы, мкмоль НАДФН/гНб/мин	$75,1 \pm 1,5$	$68,0 \pm 1,5^{**}$
Активность глутатионредуктазы в печени, нмоль НАДФН/мин/мг белка	$3,89 \pm 0,13$	$1,12 \pm 0,04^{***}$
Показатели липидного обмена		
Содержание общего холестерина, ммоль/л	$1,49 \pm 0,04$	$3,68 \pm 0,04^{***}$
Содержание триглицеридов, ммоль/л	$1,19 \pm 0,04$	$1,90 \pm 0,06^{***}$
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	$0,29 \pm 0,02$	$2,34 \pm 0,11^{***}$
Содержание ХС ЛПОНП, ммоль/л	$0,54 \pm 0,02$	$0,85 \pm 0,03^{***}$
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	$0,67 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,02^{***}$
Индекс атерогенности, у. е.	$1,36 \pm 0,15$	$11,87 \pm 1,55^{***}$
Содержание фосфатидилсерина, %	$6,80 \pm 0,85$	$13,00 \pm 0,67^{***}$
Содержание фосфатидилинозитола, %	$3,90 \pm 0,01$	$1,14 \pm 0,17^{***}$
Содержание сфингомиелина, %	$14,42 \pm 0,97$	$15,77 \pm 2,09$
Содержание фосфатидилхолина, %	$55,88 \pm 1,14$	$42,38 \pm 0,96^{***}$
Содержание фосфатидилэтаноламина, %	$21,50 \pm 0,75$	$28,82 \pm 0,99^{***}$
Σ п6, у. е.	$22,46 \pm 1,1$	$34,32 \pm 1,86^{***}$
Σ п3, у. е.	$10,04 \pm 0,22$	$6,47 \pm 0,19^{***}$

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя крыс контрольной группы статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

группы. Полученные данные свидетельствуют о компенсаторном активированном состоянии иммунной системы, развитии острого воспаления в ответ на высокую жировую нагрузку.

Влияние высокой жировой нагрузки в течение 30 суток способствовало развитию окислительного стресса у крыс опытной группы. Это подтвердилось увеличением содержания продуктов липопероксидации (малоновый диальдегид, гидроперекиси липидов), метаболитов оксида азота и монооксида углерода, падением активности каталазы и глутатионредуктазы в крови и печени крыс, снижением устойчивости эритроцитов к перекисному гемолизу по сравнению с величинами соответствующих показателей контрольных животных.

У крыс опытной группы установлено повышение содержания общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов (ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП), индекса атерогенности и снижение концентрации ХС ЛПВП ($p < 0,001$) в сыворотке крови, что указывает на развитие алиментарной дислипидемии. В эритроцитах крыс опытной группы выявлено накопление фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, снижение доли фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина ($p < 0,001$). Уровень сфингомиелина не изменялся. Появление дефицита фосфатидилинозитола и фосфатидилхолина, формирующих наружный слой липидного каркаса мембраны, свидетельствует об активации специфических фосфолипаз и интенсификации процессов липопероксидации [11, 12]. Последнее подтверждается состоянием системы «прооксиданты – антиоксиданты» у крыс. Наблюдалось снижение суммы ПНЖК n3 и повышение суммы ПНЖК n6.

Для анализа межсистемных взаимодействий был использован метод корреляционных плеяд. При сечении корреляционного цилиндра на уровне сильной связи ($r \geq 0,7$) в контрольной группе животных были выявлены три системы, участниками которых стали показатели липидного обмена и окислительно-восстановительных процессов и одна плеяда, отражающая взаимосвязь систем иммунитета и «прооксиданты – антиоксиданты» (рис. 1).

Центром первой плеяды ($G = 4; G/k = 0,09; D = 0,94$) стал фосфатидилинозитол эритроцитов, образующий отрицательные связи с суммарным показателем ПНЖК n3 ($r = -0,97$) и ПНЖК n6 ($r = -0,93$). Предиктором второй плеяды ($G = 4; G/k = 0,42; D = 0,78$) являлся ХС ЛПВП, содержание которого отрицательно коррелировало с индексом атерогенности ($r = -0,94$) и концентрацией ХС ЛПНП ($r = -0,69$), было прямо связано с показателем УЭПГ ($r = 0,71$). Третью по значимости плеяду ($G = 3; G/k = 0,07; D = 0,72$) образовывал гаптоглобин, концентрация которого была прямо связана с показателем метаболической активности нейтрофилов – НСТ ($r = 0,74$) и обратно – с содержанием гидроперекисей липидов в сыворотке крови ($r = -0,71$).

Полученные результаты свидетельствуют, что у здоровых животных большую роль в физиологических процессах играет ХС ЛПВП, способствующий поддержанию гомеостаза липидов, и фосфатидилинозитол, участвующий во внутри- и межклеточной сигнализации. Поддержание концентрации антиатерогенных липидов (ЛПВП) на нормальном уровне снижает возможность накопления гидроперекисей липидов, общего холестерина, регулирует структурное состояние клеточных мембран за счет сохранения баланса между ПНЖК семейства n3 и n6 в липидном каркасе, повышает устойчивость к свободнорадикальному повреждению [11, 13].

Выявленная связь между гаптоглобином и кислород-зависимой бактерицидностью фагоци-

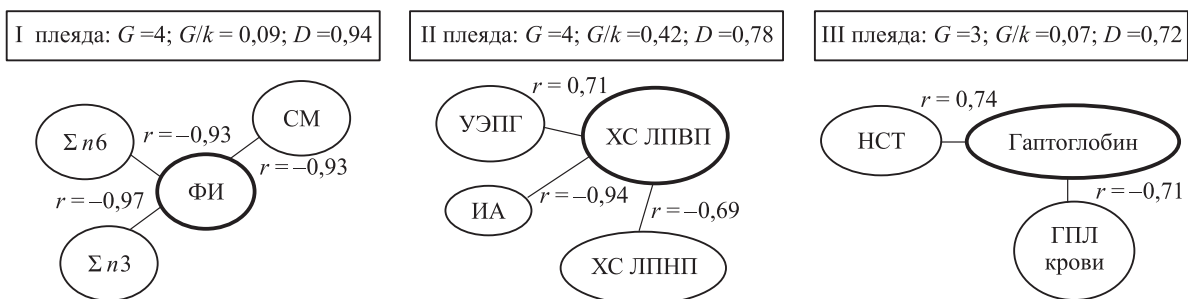


Рис. 1. Корреляционные плеяды иммунометаболических параметров у крыс контрольной группы. Здесь и на рис. 2 кружки с границей, выделенной жирным, соответствуют предикторам плеяд, цифры рядом с линиями обозначают уровни r . ФИ – фосфатидилинозитол; SM – сфингомиелин; УЭПГ – устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ИА – индекс атерогенности; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; НСТ – тест восстановления нитросинего тетразолия; ГПЛ – гидроперекись липидов

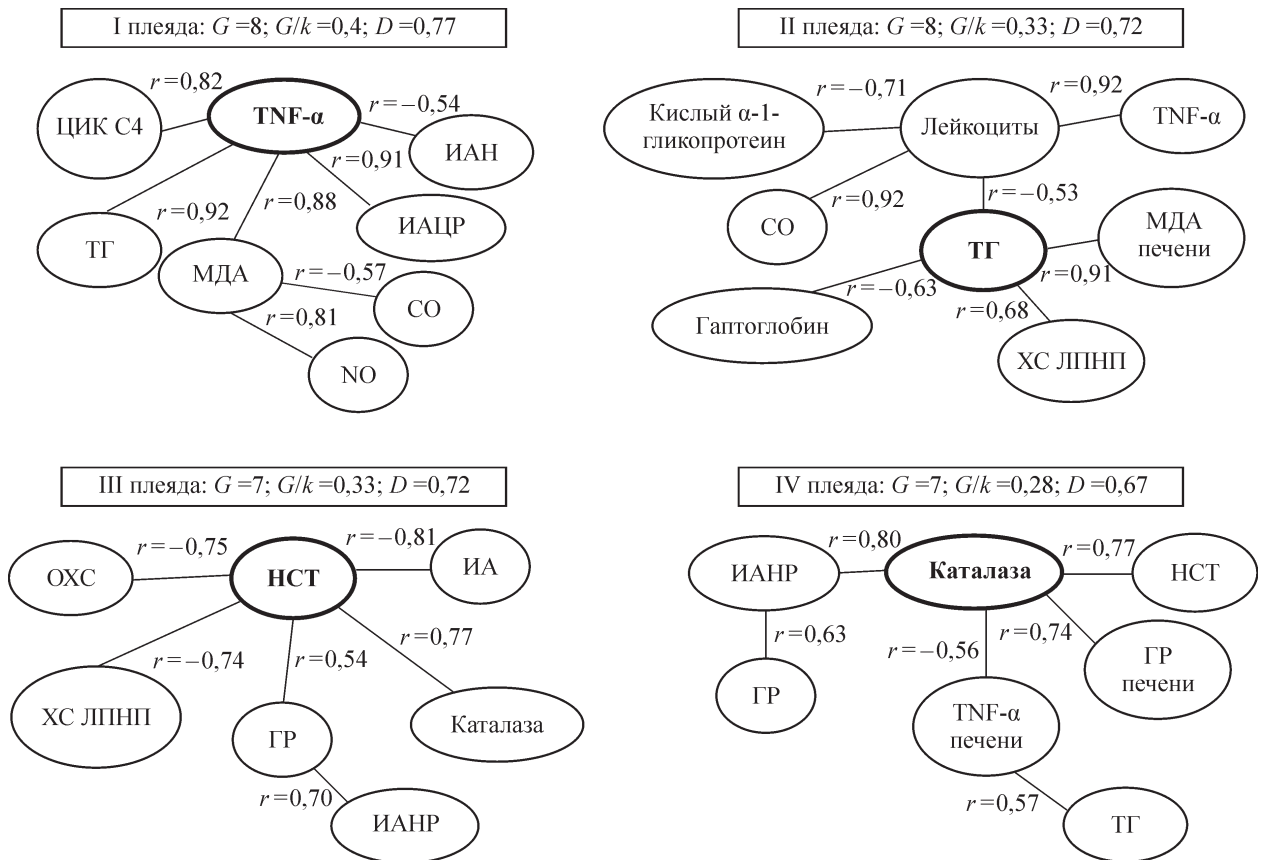


Рис. 2. Корреляционные плеяды иммунометаболических параметров у крыс опытной группы.

TNF- α – фактор некроза опухолей α (tumor necrosis factor α); ОХС – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ИАН – индекс активации нейтрофилов; ИАНР – резерв индекса активации нейтрофилов; ИА – индекс атерогенности; ГР – глутатионредуктаза; ИАЦР – индекс активности цитокиновой регуляции; СО – монооксид углерода; NO – оксид азота; МДА – малоновый диальдегид; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; НСТ – тест восстановления нитросинего тетразолия

тов отражает прямую зависимость иммунного ответа от уровня провоспалительных эффекторов. Пероксидазная активность гаптоглобина оказывает антиоксидантный эффект, противостоит продукции гидроксильных радикалов и проявлению ими цитотоксического действия, предотвращает мембранодеструкцию и нарушение энергетической обеспеченности клетки [4]. Следовательно, выявленные межсистемные связи между компонентами иммунитета, липидного обмена и системы «прооксиданты – антиоксиданты» являются обязательными для адекватной жизнедеятельности клетки, нормального протекания окислительно-восстановительных и иммунных реакций, обеспечивая тем самым сохранение постоянства внутренней среды организма.

Влияние высокой жировой нагрузки на крыс в течение 30 суток способствовало формированию

четырёх корреляционных групп на уровне сильной ($r \geq 0,7$) и умеренной ($0,5 \leq r \leq 0,7$) связей (рис. 2).

Признаком-индикатором первой плеяды ($G=8; G/k=0,4; D=0,77$) являлся TNF- α , содержание которого положительно коррелировало с уровнем триглицеридов ($r=0,92$), малонового диальдегида ($r=0,88$), ЦИК С4 ($r=0,82$) и ИАЦР ($r=0,91$), отрицательно – с индексом активности нейтрофильных гранулоцитов ($r=-0,54$). В свою очередь, сильная положительная связь выявлялась между концентрацией малонового диальдегида и метаболитов оксида азота ($r=0,81$), отрицательная – между уровнями малонового диальдегида и монооксида углерода в крови ($r=-0,57$). Возрастание мощности и крепости плеяды обусловлено подключением не только новых участников, но и образовани-

ем сильных взаимосвязей между ними. Стимуляция иммунного ответа на начальных этапах воспалительного процесса обеспечивается цитокиновой секрецией, регулирующей метаболическую активность иммунокомпетентных клеток, интенсивность процессов липолиза, липопероксидации и биосинтез сигнальных молекул нитрооксидэргической и гемоксигеназной систем [4, 14].

Предиктором второй по значимости плеяды ($G = 8$; $G/k = 0,33$; $D = 0,72$) выступали триглицериды, содержание которых образовывало сильные положительные корреляционные связи с уровнем малонового диальдегида ткани печени ($r = 0,91$), СО ($r = 0,92$), TNF- α ($r = 0,92$), ХС ЛПНП ($r = 0,68$) крови. Три обратные связи зарегистрированы с концентрацией белков острой фазы (кислый α -1-гликопротеин, $r = -0,71$; гаптоглобин, $r = -0,63$) в сыворотке крови и числом лейкоцитов ($r = -0,53$). Характер данной плеяды указывает на зависимость биохимических и иммунных процессов от гомеостаза липидов в крови, на обязательное присутствие воспалительного компонента в организме при дислипидемии. Известно, что гиперпродукция острофазных белков в печени блокирует активный рецептор-зависимый транспорт жирных кислот в составе липопротеинов, что приводит к накоплению в крови ХС ЛПНП и их окислению [11]. Модифицированные липопротеины в качестве эндогенных флогенов захватываются макрофагами с выбросом дополнительной порции провоспалительных факторов (TNF- α), поддерживающих местный и системный очаги воспаления [3].

Центром третьей корреляционной плеяды ($G = 7$; $G/k = 0,33$; $D = 0,72$) стал показатель метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов (НСТ), имеющий обратную связь с параметрами липидного спектра сыворотки крови (содержание общего холестерина и ХС ЛПНП, $r = -0,75$ и $r = -0,74$ соответственно). Самый высокий уровень корреляционной связи рассматриваемой системы установился между предиктором и индексом атерогенности ($r = -0,81$). Прямые связи наблюдались с показателями антиоксидантной системы – активностью каталазы ($r = 0,77$), глутатионредуктазы ($r = 0,54$) крови. В свою очередь, положительная зависимость обнаруживалась между активностью фермента, восстанавливающего глутатиондисульфид, и резервом окислительной функции нейтрофилов (ИАНР, $r = 0,70$). Взаимосвязь активности глутатионредуктазы и каталазы с показателями метаболической и бактерицидной активности нейтрофилов отражает важное зна-

чение этих антиоксидантных ферментов в нейтрализации липоперекисей и перекисей водорода, накапливающихся в фагосомах. Оптимальное содержание глутатионредуктазы и каталазы позволяет клетке поддерживать нормальное функционирование и адекватный ответ на дополнительную стимуляцию экзо- и эндогенами в условиях окислительного стресса. Однако постоянная повышенная потребность клетки в ферментах антиоксидантной защиты в условиях окислительного стресса способствует быстрому истощению их резерва. Наблюдаемый дефицит глутатионредуктазы в клетках печени и эритроцитах, каталазы в крови у крыс через 30 суток эксперимента доказывает сказанное выше.

Четвертая группа признаков была представлена ферментативным звеном антиоксидантной системы, показателями неспецифической резистентности иммунитета и липидного обмена ($G = 7$; $G/k = 0,28$; $D = 0,67$). Предиктором данной плеяды являлась каталаза, активность которой устанавливала внутрисистемную связь с активностью глутатионредуктазы печени ($r = 0,74$) и межсистемные прямые кооперации с параметрами фагоцитарной (НСТ, $r = 0,77$) и бактерицидной (ИАНР, $r = 0,80$) способности гранулоцитов, обратные – с содержанием TNF- α в печени ($r = -0,56$). Четвертая плеяда влияла на глутатионовое звено антиоксидантной системы крови и метаболизм липидов (см. рис. 2). Благодаря каталазе в иммунокомпетентных клетках активируются процессы поглощения антигенов и быстрой деградации потенциально опасного пероксида водорода до воды и молекулярного кислорода с предотвращением образования цитотоксического гидроксильного радикала (НО \bullet) [15]. Обратная зависимость между активностью каталазы и содержанием TNF- α в печени указывает на взаимосвязь антиоксидантных процессов и воспалительных реакций.

Результаты исследования показали, что обязательным атрибутом адаптации к высокой жировой нагрузке является усиление мощности и крепости межсистемной интеграции, что свидетельствует о функционировании организма с максимальной степенью напряжения, вовлеченности в реализацию адаптивных реакций всех гомеостатических систем. В условиях адаптации к высокой жировой нагрузке на первое место выходит взаимодействие между провоспалительным медиатором иммунной системы (TNF- α), компонентами системы «прооксиданты – антиоксиданты» (каталаза, малоновый диальдегид, оксид азота, монооксид углерода), показателями неспецифической резистентности и триглицеридами. Это объяс-

няется тем, что на начальных этапах формирования адаптивного ответа избыточный поток флогогенов в виде экзогенного холестерина и триглицеридов индуцирует острую воспалительную реакцию, запускающую формирование окислительного стресса: увеличивается поступление в печень свободных жирных кислот, осуществляются реакции их окисления и образуются продукты липопероксидации, вызывающие окисление ХС ЛПНП [4, 13]. Активация свободнорадикальных процессов приводит к изменению липидного состава клеточных мембран. Свободные радикалы и окисленные ЛПНП еще больше усиливают процессы липопероксидации, вызывают дифференцировку моноцитов в макрофаги, секретирующие цитокины, сигнальные биорегуляторы [13]. Компенсаторная гиперпродукция оксида азота оказывает вазодилататорный и антитромбогенный эффекты на сосудистый эндотелий, становится главным лимитирующим механизмом развития ишемии и гипоксии тканей, минимизирует липотоксическое действие активных форм кислорода [14, 15]. Компоненты систем иммунитета и «прооксиданты – антиоксиданты» представлены в каждой плеяде, так как именно эти звенья гомеостаза организма находятся на первой линии защиты от чужеродных патогенов и дают сигнал об активации иммунного ответа и экспрессии синтеза антиоксидантных ферментов. Таким образом, адаптационные перестройки в организме под действием высокой жировой нагрузки сопровождаются усилением интегрирования иммунных и окислительно-восстановительных процессов, что, возможно, является ключевым механизмом приспособления организма к неадекватным условиям существования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Медведев В.И.* Адаптация человека. СПб.: ИМЧ РАН, 2003. 584 с.
- Medvedev V.I.* Human adaptation. SPb.: IMCH RAN, 2003. 584 p.
2. *Доценко В.А.* Теоретические и практические проблемы питания здорового и больного человека // *Вопр. питания.* 2004. (6). 36–39.
- Dotsenko V.A.* Theoretical and practical problems of nutrition of healthy and sick person // *Vopr. pitaniya.* 2004. (6). 36–39.
3. *Калинина Е.П., Иванов Е.М., Исаченко Е.Г.* Нарушения межсистемных взаимодействий при хроническом воспалительном процессе // *Мед. иммунология.* 2007. 9. (6). 581–588.
- Kalinina E.P., Ivanov E.M., Isachenko E.G.* Violations of intersystem interactions in chronic

inflammatory processes // *Med. immunologiya.* 2007. 9. (6). 581–588.

4. *Zhao J., Yang X., Auh S.L. et al.* Do adaptive immune cells suppress or activate innate immunity? // *Immunol.* 2009. 30. (1). 8–12.

5. *Луценко М.Т., Рыжавский Б.Я., Чертов А.Д., Луценко Н.В.* Адаптация организма к повышенному содержанию холестерина. Благовещенск, 1973. 143 с.

Lutsenko M.T., Ryzhavsky B.Ya., Chertov A.D., Lutsenko N.V. Adaptation to high cholesterol. Blagoveshchensk, 1973. 143 p.

6. *Терентьев П.В., Ростова Н.С.* Практикум по биометрии. Л., 1977. 152 с.

Terent'ev P.V., Rostova N.S. Workshop on biometrics. L., 1977. 152 p.

7. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник / *Ред. А.И. Карпищенко.* СПб., 1999. 656 с.

Medical laboratory technology and diagnostics: A Handbook / *Ed. A.I. Karpishchenko.* SPb., 1999. 656 p.

8. *Климов А.Н., Никульчева Н.Г.* Обмен липидов, липопротеидов и его нарушения. СПб.: Питер, 1999. 512 с.

Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Lipid and lipoprotein metabolism and its disorders. SPb.: Piter, 1999. 512 p.

9. *Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И.* Руководство по методам исследования параметров системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2003. 80 с.

Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yan'kova V.I. Manual methods studies parameter systems «lipid peroxidation – antioxidant protection» in biological liquid. Vladivostok: Publishing Far Eastern Federal University, 2003. 80 p.

10. *Christie W.W.* Lipid Analysis. 3-rd Edition. Bridgwater: Oily Press, 2003. 280 p.

11. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes / Eds. J.E. Vance, D. Vance.* Hardbound, 2008. 624 p.

12. *Fadeel B., Xue D.* The ins and outs of phospholipids asymmetry in the plasma membrane: roles in health and disease // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2009. 44. (5). 264–277.

13. *Droge W.* Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. 82. (1). 47–95.

14. *Марков Х.М.* Сосудистые эффекты липопротеинов и оксида азота: клеточные и молекулярные механизмы // *Патологич. физиология и эксперим. терапия.* 2006. (3). 2–7.

Markov X.M. Vascular effects of lipoproteins and nitric oxide: cellular and molecular mechanisms // *Patologich. fiziologiya i eksperim. terapiya*. 2006. (3). 2–7.

15. *Дубинина Е.Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Фи-

зиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006. 400 с.

Dubinina E.E. Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells (the life and death, creation and destruction). *Physiological and clinical and biochemical aspects*. SPb.: Medicine press, 2006. 400 p.

INTEGRATION HOMEOSTATIC SYSTEMS RATS IN ADAPTATION BY HIGH FAT LOAD

Yulia Konstantinovna KARAMAN

*Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation
690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g*

The research studies the character of the intra- and intersystem interaction of the lipid transport system, antioxidant system, pro-oxidant system and immune system of the rats under the adaptation for high fat load. It was revealed that the necessary property of adaptation to the alimentary stressors is an increase of strength of the intra and intersystem integration of homeostatic systems, that is an evidence of organism functioning under the down to the limit strain.

Key words: adaptation, high-fat load, intersystem interactions.

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, senior researcher worker of the laboratory of biomedicine researches, e-mail: karaman@inbox.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛОИДНОСТИ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЖИРОВОГО РАЦИОНА

**Наталья Владимировна БИВАЛЬКЕВИЧ, Юлия Константиновна КАРАМАН,
Татьяна Александровна ГВОЗДЕНКО**

*Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, Владивосток, ул. Русская, 73-г*

Исследована ploидность гепатоцитов крыс в условиях высокожирового рациона. Показано, что клеточные механизмы регенерации по пути полиплоидизации гепатоцитов осуществляются при высокой степени повреждения органа (стеатогепатит), в то время как при стеатозе и отсутствии деструктивно-некротической трансформации ткани изменений в уровне ploидности клеток печени не выявлялось.

Ключевые слова: печень, высокожировой рацион, полиплоидия.

Фактор питания является ведущим в формировании оптимального алиментарного статуса и здоровья населения. В последнее десятилетие рацион питания жителей развитых стран характеризуется избыточным потреблением жиров животного происхождения (более 30 % от общей калорийности). Установлено, что высокожировой рацион вызывает стойкие нарушения обмена веществ, сопровождающиеся длительно текущими хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой, гепатобилиарной и других систем [1].

Высокожировая нагрузка определяется как одна из главных этиопатогенетических причин развития дисметаболических нарушений в печени [2]. Формирующиеся при этом структурно-функциональные нарушения становятся независимыми патогенетическими звеньями в общей цепочке механизмов формирования заболеваний гепатобилиарной системы. Структурные нарушения ткани печени стимулируют механизмы, способствующие поддержанию ее функциональной активности [3, 4].

Одним из таких биологических механизмов сохранения структурной целостности и функциональной активности печени является клеточная регенерация [5]. Как известно, физиологическая регенерация происходит за счет деления гепатоцитов. Массовая потеря гепатоцитов вследствие некроза и апоптоза активизирует процессы, запускающие вхождение «покоящихся» гепа-

тоцитов в клеточный цикл деления для восстановления первоначальной клеточной массы и поддержания клеточного гомеостаза органа [6, 7]. В печени всегда имеется резерв гепатоцитов с полиплоидными ядрами, готовых к митозу в любой момент. Увеличение уровня ploидности гепатоцитов является одной из основных компенсаторно-приспособительных реакций печени, обеспечивающих сохранение функции органа [8].

До настоящего времени регенерационные механизмы печени в условиях высокожировой нагрузки изучены недостаточно, остаются неизвестными и способы регенерации печени в зависимости от степени ее функциональных нарушений и глубины структурных повреждений. В связи с этим целью работы явилось изучение характера ploидности гепатоцитов крыс и установление клеточных механизмов регенерации печени в условиях высокожирового рациона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на половозрелых крысах-самцах линии Вистар ($n = 40$, масса $173 \pm 5,6$ г). Животных содержали на высокожировой диете, состоящей из 19 % топленого говяжьего сала и 2 % холестерина от общей массы рациона. Анализ ткани печени проводили через 30, 90 и 180 суток. Выделено 4 группы животных по 10 особей в каждой: контрольная группа – крысы, находившиеся на стандартном

*Бивалькевич Н.В. – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований,
e-mail: lbmi@yandex.ru*

*Караман Ю.К. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований,
e-mail: karaman@inbox.ru*

Гвозденко Т.А. – д.м.н., директор, e-mail: vfdnz@mail.ru

рационе вивария; опытные группы – животные, содержащиеся на экспериментальном рационе (30 суток – опытная группа 1; 90 суток – опытная группа 2; 180 суток – опытная группа 3).

Экспериментальные работы были проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС, эвтаназию животных осуществляли путем декапитации под эфирным наркозом. Для проведения гистологического исследования небольшие фрагменты центральной части правой доли печени фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, приготовленного на 0,07М фосфатном буфере (рН 6,98). Обезвоживание тканей проводили в этиловом спирте возрастающей концентрации, после чего их заливали в парапласт. Далее готовились срезы ткани печени толщиной 7 мкм. Для гистологических исследований срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Романовскому и пикрофуксинном по Ван-Гизону на выявление коллагеновых волокон. Морфометрические измерения гепатоцитов проводили с помощью программы «ВидеоТест-Морфология 5.2.» («ВидеоТест», Санкт-Петербург). Площадь гепатоцитов и их ядер изучали по тетраплоидным клеткам. Измерения проводили в выборке из 100 клеток различных зон каждого препарата. Для плоидометрических исследований готовили препараты-мазки, окрашенные по Фельгену. Оценку плоидности гепатоцитов проводили методом компьютерной плоидометрии. Измеряли интегральную оптическую плотность (Du) окрашенных ядер гепатоцитов, представленную суммой плотностей всех точек ядра, отражавших содержание в них Фельген-ДНК. Для получения значений «тканевого стандарта плоидности» измеряли среднюю интегральную оптическую плотность малых лимфоцитов в мазках

и принимали ее соответствующей диплоидному набору хромосом. Рассчитывали распределение ядер по классам плоидности по формуле: (среднее значение Du гепатоцитов / среднее значение Du малых лимфоцитов) $\times 2$ [9].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t -критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

«Плоидометрический профиль» ядер гепатоцитов крыс контрольной группы был представлен тремя уровнями плоидности: диплоидные гепатоциты (2с), на долю которых приходилось 28,1 % клеток от общего числа гепатоцитов, тетраплоидные (4с) – 66,3 % и октаплоидные клетки (8с) – 5,6 % (рис. 1). Число двуядерных клеток печени составляло 24,7 % от общего числа гепатоцитов.

Результаты гистологического исследования ткани печени крыс, получавших высокожировую нагрузку в течение 30 суток, выявили значительные изменения по сравнению с гистоморфологией печени контрольных крыс (рис. 2, а). У крыс опытной группы 1 наблюдалось нарушение балочной структуры печеночных долек, гепатоциты в паренхиме располагались беспорядочно. Гипертрофированные клетки печени (размеры увеличивались в 1,7 раза ($p < 0,001$)) по сравнению с размерами гепатоцитов крыс контрольной группы, см. таблицу), наполненные мелкокапельными и крупнокапельными жировыми включениями, плотно прилегали

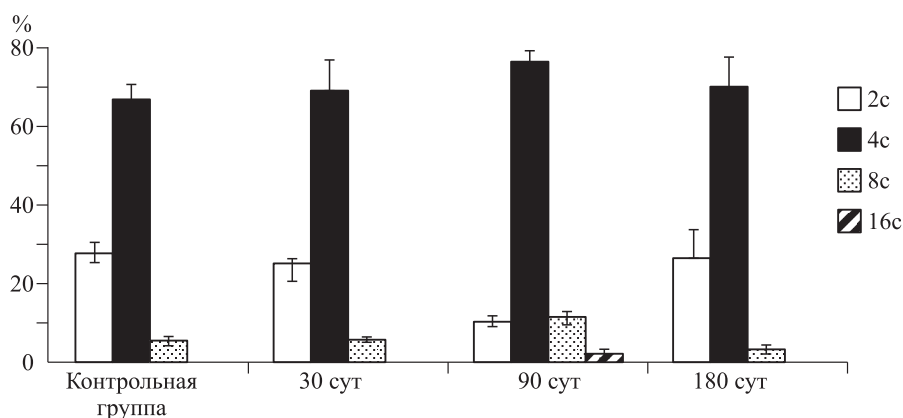


Рис. 1. Плоидность ядер гепатоцитов печени крыс в условиях высокожирового рациона

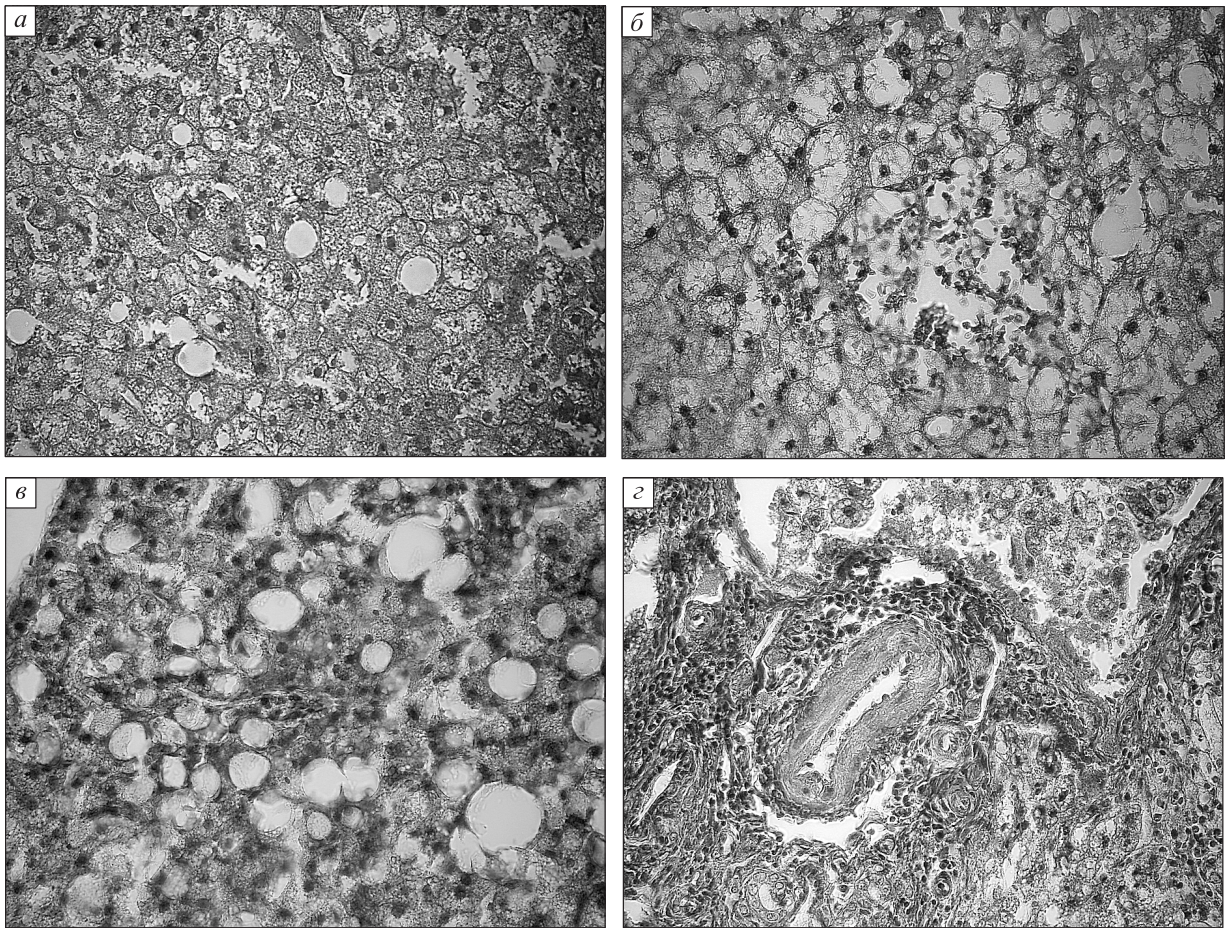


Рис. 2. Морфологические изменения печени крыс при высокожировой нагрузке. а – сужение просветов синусоидных капилляров за счет гипертрофии гепатоцитов в печени крыс опытной группы 1, окраска гематоксилином и эозином, увел. 150; б – участок гистологического среза с некротическими изменениями печени крыс опытной группы 2, окраска гематоксилином и эозином, увел. 150; в – крупнокапельный стеатоз печени крыс опытной группы 2, окраска гематоксилином и эозином, увел. 150; г – портальный фиброз печени с разрастанием соединительнотканых структур вокруг печеночной триады у крыс опытной группы 3, окраска по Ван-Гизону, увел. 150

друг к другу, что приводило к сужению просветов синусоидных капилляров. Площадь ядер гепатоцитов по сравнению с контролем уменьшилась на 15 % ($p < 0,001$), индекс ядерно-цитоплазматического соотношения (Я/Ц) – в два раза (см. таблицу). Ядра имели гиперхромный хроматин с плохо отличимыми ядрышками. Количество двуядерных гепатоцитов также незначительно увеличивалось и составляло в среднем 25,2 % от общего числа клеток.

Плоидометрическая характеристика гепатоцитов печени крыс опытной группы 1 существенно не изменялась. Отмечалась тенденция к увеличению класса тетраплоидных ядер (69 % от общего числа исследуемых ядер). Исходя из полученных данных, можно предположить наличие стимулированной пролиферативной ак-

тивности гепатоцитов в условиях краткосрочной высокожировой нагрузки. Однако эти изменения не носят ярко выраженного характера.

Влияние высокожировой нагрузки на крыс в течение 90 суток способствовало переходу стадии стеатоза печени в стеатогепатит, что подтверждалось обнаруженными фокальными участками некроза с лимфомакрофагальными элементами (см. рис. 2, б). В препортальной и центральной зонах долек синусоидные капилляры были расширены, лимфатические сосуды имели достаточно крупные размеры, центральные вены чаще встречались полнокровные и более крупных размеров, чем у животных контрольной группы. Жировая дистрофия гепатоцитов сохранялась и имела вид мелкокапельной и крупнокапельной вакуолизации, заполняющей

Морфометрические показатели гепатоцитов крыс в условиях высокожирового рациона, $M \pm m$

Показатель	Контрольная группа, $n = 10$	Сроки воздействия высокожировой нагрузкой		
		30 суток (опытная 1), $n = 10$	90 суток (опытная 2), $n = 10$	180 суток (опытная 3), $n = 10$
Площадь гепатоцита, $\mu\text{м}^2$	$248,5 \pm 4,4$	$431,6 \pm 29,5^{**}$	$420,9 \pm 11,6^{**}$	$498,5 \pm 22,7^{**}$
Площадь ядра гепатоцита, $\mu\text{м}^2$	$47,6 \pm 0,7$	$40,5 \pm 1,3^{**}$	$43,6 \pm 1,0^*$	$41,1 \pm 1,1^{**}$
Площадь цитоплазмы гепатоцита, $\mu\text{м}^2$	$200,8 \pm 6,4$	$391,0 \pm 19,5^{**}$	$377,2 \pm 15,6^*$	$457,4 \pm 12,5^{**}$
Я/Ц	$0,23 \pm 0,01$	$0,103 \pm 0,008^{**}$	$0,115 \pm 0,001^{**}$	$0,089 \pm 0,002^{**}$

Примечание. Статистическая значимость отличия от величины соответствующего показателя в контрольной группе: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$.

всю цитоплазму клетки и смещающей ядро к периферии (см. рис. 2, в). Кариоплазма была плотная с 1–2 ядрышками. Размеры гепатоцитов увеличились на 22,5 % ($p < 0,001$) относительно величин показателей контрольной группы, но не отличались от размеров гепатоцитов крыс опытной группы 1 (см. таблицу). Площадь ядер гепатоцитов крыс опытной группы 2 имела тенденцию к увеличению по сравнению с опытной группой 1, но не достигала значений контрольной группы.

Плоидометрический анализ ткани печени крыс опытной группы 2 выявил снижение числа диплоидных гепатоцитов в 2,7 раза, увеличение уровня тетраплоидных и октаплоидных ядер на 13 и 52 % соответственно по сравнению с контрольной группой. Выявлялся класс гепатоцитов 16с-плоидности, число которых составило 2 % от общего числа исследуемых клеток. Количество двуядерных гепатоцитов снизилось до 21 %.

Повышение полиплоидизации ядерного аппарата гепатоцитов свидетельствует о включении новых регенерационных механизмов репарации органа за счет увеличения синтеза генетического материала [2]. Повышение уровня плоидности клеток при заболеваниях печени, в частности при циррозе, отмечается как у грызунов, так и у человека [2, 7, 10–12]. Значительное увеличение очагов некроза в печени стимулирует регенерационные процессы посредством повышения количества полиплоидных гепатоцитов, что необходимо для сохранения энергетического и пластического резерва клеток. Высокоплоидные гепатоциты, вследствие наличия в них продублированного несколько раз генетического материала, отличаются большей устойчивостью, являются более дифференцированными, процессы гетеросинтеза в них преобладают над аутосинтезом [8, 13].

На 180-е сутки содержания крыс на высокожировом рационе гистоструктура печени подверглась значительным изменениям, выразившимся в увеличении площади некротизированных участков (10–15 % от общей площади исследуемых участков печени), окруженных лимфомакрофагальным инфильтратом, нарушении балочного строения долек печени. Гепатоциты не образовывали трабекул, располагались беспорядочно, синусоиды не прослеживались. Было отмечено расширение крупных портальных трактов за счет разрастания стромы и заполнения ее воспалительным инфильтратом. Некоторые портальные тракты были с некротическими изменениями сосудов. Стенки таких сосудов слабо различались, в некоторых случаях были нарушены. Выявлялась деструкция желчных протоков, сопровождаемая большими очагами воспалительного инфильтрата. На препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, в препортальной зоне четко обнаруживались коллагеновые волокна, что является прямым доказательством сформировавшегося фиброза печени (см. рис. 2, г). Площадь гепатоцитов у крыс опытной группы 3 увеличивалась в 2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с площадью клеток животных контрольной группы и на 35 % по сравнению с величиной показателя крыс опытной группы 2 ($p < 0,001$) (см. таблицу). Площадь ядер гепатоцитов сохраняла тенденцию к уменьшению, будучи меньше, чем у крыс контрольной группы, на 13 % ($p < 0,001$). При этом распределение по классам плоидности показало уменьшение пула 2с- и 8с-ядер гепатоцитов и повышение количества 4с-клеток. Число двуядерных гепатоцитов было больше на 10 %, чем в группе контроля. Следовательно, при формировании фиброза печени регенерация происходит за счет пролиферации гепатоцитов менее зрелых форм либо клеток желчных протоков. Данный механизм регенера-

ции способствует сохранению клеточного пула печени и поддержанию нормального функционирования органа при серьезном тканевом повреждении [12, 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что высокожировая нагрузка способствует развитию деструктивно-дистрофических изменений ткани печени, морфологически классифицирующихся как стеатоз, стеатогепатит и фиброз. Структурно-функциональные нарушения активизируют механизмы клеточной репарации, которые напрямую связаны со степенью структурных изменений в ткани печени. На 30-е сутки воздействия на крыс высокожировым рационом при формировании стеатоза и отсутствии деструктивно-некротической трансформации ткани изменения в уровне плоидности клеток печени не выявляются. Процессы регенерации на данном этапе структурной реорганизации печени не затрагивают клеточные пролиферативные механизмы, а осуществляются другими путями, например, гипертрофией клеток. На 90-е сутки эксперимента при развитии стеатогепатита восстановление и сохранение структурно-функциональной целостности печени происходит за счет повышения числа высокоплоидных клеток. К 180-м суткам эксперимента при высокой степени повреждения органа, развитии фиброза механизмы регенерации печени регулируются через увеличение пролиферации менее зрелых форм гепатоцитов. Это подтверждается увеличением количества диплоидных клеток, а также возросшим числом двуядерных гепатоцитов.

Таким образом, характер плоидности гепатоцитов крыс в условиях высокожировой нагрузки зависит от длительности воздействия алиментарным фактором и степени структурных нарушений органа. Полученные результаты исследования расширяют знания о механизмах клеточной регенерации и структурной реорганизации печени, что может быть использовано для разработки профилактических и лечебных технологий заболеваний гепатобилиарной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Погожева А.В., Каганов Б.С.* Современные взгляды на лечебное питание // *Клинич. медицина.* 2009. (1). 4–13.

Pogozheva A.V., Kaganov B.S. Modern view on dietetic therapy // *Clinich. meditsina.* 2009. (1). 4–13.

2. *Fan J.* Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia // *World J. Gastroenterol.* 2003. 9. (9). 2045–2049.

3. *Гарбузенко Д.В.* Механизмы компенсации структуры и функции печени при ее повреждении и их практическое значение // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2008. (6). 14–20.

Garbuzenko D.V. Mechanism of indemnification of structure and liver function at its damage and their practical value // *Ros. zhurn. gastroenterol., gepatol., koloproktol.* 2008. (6). 14–20.

4. *Kaplowits N.* Mechanism of liver cell injury // *J. Hepatol.* 2000. 32. (1). 39–47.

5. *Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М.* Регенеративная медицина: направления, достижения, проблемы и перспективы развития. Стволовые пространства // *Укр. мед. часопис.* 2004. (3). 99–107.

Kukharchuk A.L., Radchenko V.V., Sirman V.M. Regenerative medicine: trends, achievements, problems and development prospects. Part II. Stem spaces // *Ukr. med. chasopis.* 2004. (3). 99–107.

6. *Долгих М.С.* Перспективы терапии печеночной недостаточности с помощью стволовых клеток // *Биомед. химия.* 2008. (4). 376–391.

Dolgikh M.S. Prospects of therapy of hepatic failure by means of stem cells // *Biomed. khimiya.* 2008. (4). 376–391.

7. *Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н.* Клеточные механизмы регенерации цирротически измененной печени крыс // *Цитология.* 2005. (5). 379–387.

Sakuta G A, Kudryavtsev B.N. Cellular mechanisms of cirrhotic rat liver regeneration // *Tsitologiya.* 2005. (5). 379–387.

8. *Бродский В.Я., Урываева И.В.* Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М.: Наука, 1981. 259 с.

Brodsky V.Ya., Uryvaeva I.V. Cellular polyploidy. Proliferation and differentiation. М.: Nauka, 1981. 259 p.

9. *Автандилов Г.Г.* Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистоцитологии. М.: Изд-во РМАПО, 1996. 256 с.

Avtandilov G.G. Computer microtelephotometry in histocitology. М.: Publish. RMAPO, 1996. 256 p.

10. *Безбородкина Н.Н., Оковитый С.В., Кудрявцева М.В. и др.* Морфометрия митохондриального аппарата гепатоцитов нормальной и цирротически измененной печени крыс // *Цитология.* 2008. 50. (3). 228–235.

Bezborodkina N.N., Okovityi S.V., Kudryavtseva M.V. et al. Morphometry of hepatocyte mitochondrial apparatus in normal and cirrhotic rat liver // *Tsitologiya.* 2008. 50. (3). 228–236.

11. Дзидзигури Д.В., Кудрявцев Б.Н., Модебадзе И.Р. и др. Особенности кинетики популяции гепатоцитов крыс в условиях гормонального дисбаланса до и после частичной гепатэктомии // Цитология. 2005. 47. (6). 501–504.

Dzidziguri D.V., Kudryavtsev B.N., Modebadze I.R. et al. Kinetic features of rat hepatocyte population under hormonal disbalance before and after partial hepatectomy // *Tsitologiya*. 2005. 47. (6). 501–504.

12. Margall-Ducos G., Celton-Morizur S., Couton D. et al. Liver tetraploidization is controlled by a new process of incomplete cytokinesis // *J. Cell Sci*. 2007. 120. 3633–3639.

13. Урываева И.В. Репликативный потенциал гепатоцитов и стволовые клетки печени // Известия АН. Сер. биол. 2001. (6). 728–737.

Uryvaeva I.V. Replication potential of hepatocytes and liver stem cells // *Izvestiya AN. Ser. biol.* 2001. (6). 728–737.

14. Никитин И.Г. Стволовые клетки печени: современное состояние проблемы // Клинич. перспективы гастроэнтерол., гепатол. 2004. (3). 10–19.

Nikitin I.G. Liver stem cells: the current state of problem // *Klinich. perspektivy gastroenterol., hepatol.* 2004. (3). 10–19.

HEPATOCYTE PLOIDY OF THE RATS UNDER THE HIGH FAT DIET

Nataliya Vladimirovna BIVALKEVICH, Yulia Konstantinovna KARAMAN,
Tatyana Alexandrovna GVOZDENKO

*Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology
of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation
690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g*

The ploidy of rats' hepatocytes under the high fat diet condition has been investigated. It was shown that cellular mechanisms of regeneration on the way of hepatocytes polyploidy were performed only under the high degree of the organ damage (steatohepatitis), while there were no changes of the liver cells ploidy level under the condition of steatosis and absence of the destructive necrotic transformation of tissues.

Key words: liver, high fat diet, polyploidy.

Bivalkevich N.V. – junior researcher of the laboratory of biomedical researches, e-mail: lbmi@yandex.ru

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of biomedical researches, e-mail: karaman@inbox.ru

Gvozdenko T.A. – doctor of medical sciences, director, e-mail: vfdnz@mail.ru

КОНСТИТУЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Валерий Михайлович ПЕТРЕНКО

194021, Санкт-Петербург, ул. Карбышева, 6-2-65

Лимфатическая система состоит из сегментов двух уровней организации – генеральных, или периартериальных, и специальных, или собственных, межклапанных. Сегменты организуют все реакции системы на воздействия окружения, включая толчки лимфотока.

Ключевые слова: лимфатическая система, сегмент, клапан, артерия.

В литературе накоплено множество данных о строении лимфатической системы у человека и млекопитающих животных, включая ее видовые, возрастные, региональные, органные и локальные особенности [1–11]. Предложено немало концепций об устройстве лимфатической системы и разных ее частей, моделей их функционирования: лимфатические сердца L. Ranvier, лимфангионы или клапанные сегменты как функциональные единицы лимфатического сосуда E. Horstmann – H. Mislin, нервно-сосудистые фрагменты тела и функциональные сегменты лимфатических узлов Б.В. Огнева, лимфатические регионы Ю.И. Бородина и др. [1, 2, 4, 7]. Они с разных сторон характеризуют организацию лимфатической системы и процессов, в которых эта система участвует. Однако, с моей точки зрения, еще только предстоит создать всеобъемлющую и общепринятую концепцию организации лимфатической системы [7–10].

Цель: показать общее в строении всех звеньев лимфатического русла независимо от их региональной и органной принадлежности, чтобы установить принцип общего устройства лимфатической системы у человека и млекопитающих животных.

Основные направления исследований анатомии лимфатической системы – топографическое и функциональное. Конечно, такое разделение условно. Так, в XVII веке G. Asellius переоткрыл лимфатические сосуды около артерий брыжейки тонкой кишки – топографически, по их молочной окраске, т. е. по особой функции. Всегда можно найти элементы функциональной морфологии в топографо-анатомических концепциях и элементы топологии в морфофункциональных концепциях, примеры: 1)

периартериальное размещение лимфатического русла как следствие сомитного устройства эмбриона (рост артерий к сомитам детерминирует положение первичных лимфатических сосудов); 2) размещение клапанов на протяжении грудного протока коррелирует с его топографией.

Топографо-генетические особенности лимфатического русла. Лимфатические сосуды и узлы обычно находятся около аорты и ее ветвей, полых вен, других экстраорганных кровеносных сосудов [3, 11]. И это неудивительно: первичные вены всегда сопровождают артерии эмбриона, часть его первичных вен выключается из кровотока с образованием первичных лимфатических сосудов, в их просвет у плодов инвагинируют кровеносные сосуды с закладкой лимфоузлов [6]. Б.В. Огнев предложил классифицировать лимфоузлы с учетом фрагментарного принципа строения нервной и сосудистой систем, который он пытался обосновывать с позиций эмбриогенеза: фрагмент – это органы, кровоснабжаемые одной ветвью аорты и имеющие общие по происхождению участки нервной, венозной и лимфатической систем (рис. 1). Я объясняю такие корреляции следующим образом. Артерии – сосуды с более высоким кровяным давлением и более толстыми, плотными стенками, они: 1) доминируют во взаимодействиях с венами и лимфатическим руслом, контактом (фрагментирование эмбриональных и массаж дефинитивных сосудов) и дистантном (через капилляры и тканевые каналы); 2) более устойчивы к давлению окружающих органов и как стержень сохраняют стабильность сосудистых пучков [6–8].

Ю.И. Бородин предложил выделять лимфатический регион – лимфатические сосуды с их

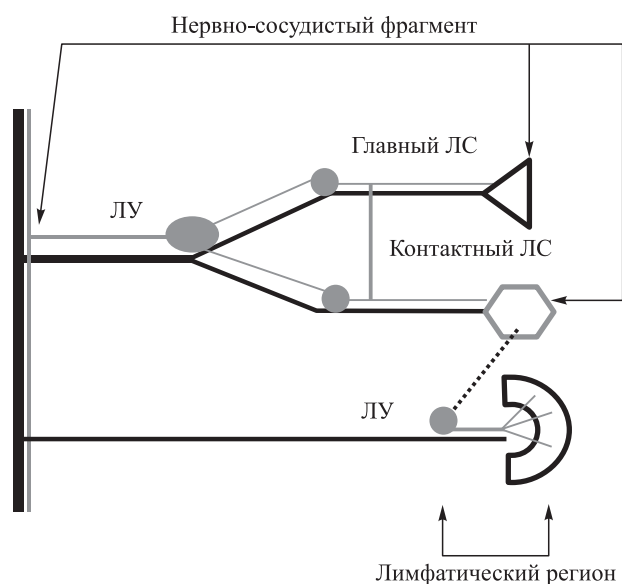


Рис. 1. Генеральные сегменты лимфатической системы (схема): ЛС, ЛУ – лимфатические сосуды и узлы; черные полоски – аорта и ее ветви, серые линии – лимфатическое русло. Генеральные сегменты лимфатической системы на разных уровнях ветвления аорты подобны нервно-сосудистым фрагментам Б.В. Огнева (региональные сегменты как часть фрагментов) и лимфатическим регионам Ю.И. Бородина (органные сегменты)

истоками в данном органе или органах, которые заканчиваются в одном регионарном лимфоузле. Б.В. Огнев высказал тезис о функциональной сегментарности лимфатического узла: для каждого из приносящих лимфатических сосудов и, следовательно, для каждого участка лимфосбора данного лимфоузла существует собственный участок распространения жидкости в паренхиме узла. Анатомической предпосылкой данного феномена считается разделение вещества лимфатического узла трабекулами вплоть до полного разобщения на два дочерних органа [2]. Без этого происходит смешение лимфы из разных лимфатических сосудов и сегментов лимфоузла. С. Belisle и G. Sainte-Marie выделили функциональную единицу глубокой коры в лимфоузле – Т-домен. 1–4 Т-домена концентрируются вокруг приносящих лимфатических сосудов узла. J.J. Oord рассматривал вторичный лимфоидный узелок с прилегающей Т-территорией глубокой коры лимфатического узла как сложный узелок – функциональная единица коркового вещества узла. И.Т. Гегин и А.И. Краюшкин описали такую структурно-функциональную единицу лимфоузла: Т-домен, прилегающие к нему лимфоидные узелки, мозговые тяжи и аф-

ферентные лимфатические сосуды. Ю.Е. Выренков с соавторами назвали структурную единицу лимфатического узла компартментом – Т-домен и прилегающие 1–6 лимфоидных узелков, «приуроченные» к одному приносящему лимфатическому сосуду. По моим данным [8], вещество лимфоузла разделяется на доли, сегменты (доля может быть моносегментарной), зоны и субзоны. Их жесткая связь с лимфатическими сосудами отсутствует, хотя порой обнаруживается «приуроченность» отдельных афферентных лимфатических сосудов к долям и даже 1–3 сегментам лимфоузла, а последних – к эфферентным лимфатическим сосудам.

Я решил подойти к вопросу о сегментарном строении лимфатического узла с другой стороны: 1) узел устроен с момента закладки как комплекс кровеносных и лимфатических сосудов, между которыми образуется лимфоидная ткань; 2) по форме и строению узел напоминает такой паренхиматозный орган, как почка. В ее воротах почечная артерия разделяется на полярные и центральные артерии, они входят в почечные столбы. Роль почечных столбов, разделяющих паренхиму почки на доли, в узле выполняют хиларные трабекулы. Они бывают сквозными, хиларно-капсулярными. Длинные и толстые в узлах фрагментарного типа, они разделяют вещество узла на доли разных размеров, вплоть до полного разобщения глубокими щелями. В трабекулах проходят артерии, отдающие ветви в вещество узла. Их сопровождают вены, а трабекулы – промежуточные синусы. На границе мозгового и коркового вещества почки ее междольковые артерии образуют дугообразные артерии почки. Их ветви, междольковые артерии идут в дольки коркового вещества. Подобное начало имеют межсегментарные артерии лимфатического узла, проходящие между Т-доменами. В почке выделяют также ее сегменты на базе сосудисто-экскреторных пучков, они включают интраорганные сосуды и почечные каналы. Наиболее выражено соответствие между артериями и почечными чашками. Лимфоидная ткань лимфоузла окружает разветвления хиларных артерий, а сама окружена лимфатическими синусами – краевым и воротным (вся паренхима), промежуточными (части паренхимы – лимфоидные узелки, Т-домены и мозговые тяжи). По строению и топографии лимфатические сосуды наиболее переменчивые, тогда как артерии – наиболее стабильные сосуды. Кровеносные сосуды как пути рециркуляции лимфоцитов являются системообразующим фактором для иммунных органов. Поэтому лимфоузлы, как лимфоидные

сегменты лимфатического русла, следует «привязывать» к артериям, а не к лимфатическим сосудам, в отличие от нодальных лимфангионов (краевой синус с капсулой между входными и выходными клапанами узла). Промежуточные синусы объединяют лимфоидный и лимфатический сегменты лимфоузла. Лимфоузел – это локальная деформация (изгиб с сильным расширением) лимфатического пути. Она образуется под давлением боковой ветви смежной артерии и окружающей ее лимфоидной ткани: структурно – это нарост, лимфоидная плакода, функционально – это биофильтр, лимфоидная насадка. Стенки экстраорганных лимфатических сосудов всегда содержат питающие ветви артерии. Если они обрастают лимфоидной тканью, то такой участок лимфатического сосуда деформируется и может преобразоваться в лимфоузел, как это происходит у плодов человека. У белой крысы я нашел пристеночный лимфоузел, его воротный синус открывался прямо в крупный подвздошный лимфатический сосуд.

Дефинитивные сосуды возникают из первичной сосудистой сети эмбриона, которая дифференцируется (локальная магистрализация отдельных сосудов и редукция смежных участков сети) по градиенту кровяного давления сначала на артерии (с опережающими утолщением и усложнением строения стенок) и первичные вены с эндотелиальными стенками, между ними сохраняется сеть протокапилляров (без базальной мембраны). Позднее появляются вторичные вены, кровеносные капилляры (с базальной мембраной) и лимфатическое русло. Дефинитивное микроциркуляторное русло, как и сосудистое русло органов у эмбриона, имеет сетевидную ангиоархитектонику, сравнительно тонкие и слабо дифференцированные стенки. В. Zweifach [1, 5] предлагал 2 модели функциональной единицы микроциркуляторного русла: 1) главный канал в сети кровеносных капилляров, между метартериолой и посткапиллярной венулой; 2) дискретный модуль в виде терминальной артериолы и собирательной венулы с сетью капилляров между ними. В.В. Куприянов [1, 5] считал ангион структурной единицей микроциркуляторного русла – артериоло-венулярная петля с истинными капиллярами внутри петли. По моим данным [9], самые крупные, магистральные артериолы и венулы, их ветви и притоки разделяют брыжейку тонкой кишки на микрорайоны микроциркуляторного русла. Обычно от контура такого микрорайона отходят терминальные артериолы. Артериолы сопровождаются венулами, возможно их раздельное прохождение. В микрорайо-

нах постоянно встречаются дискретные модули В. Zweifach. В их составе прекапилляры распадаются на сети кровеносных капилляров, из них выходят посткапиллярные венулы – это метаболические блоки микроциркуляторного русла [1]. В составе его микрорайона обнаружены разные анастомозы артериол и венул, центральные каналы, венулярные сплетения. А вот кольцевые модули типа ангиона В.В. Куприянова встречаются редко. В состав контурных пучков микрорайона входят лимфатические сосуды I порядка. Они лежат чаще всего сбоку от магистральных венулы и артериолы, а лимфатические капилляры – кнаружи от клубков кровеносных капилляров, между метаболическими блоками, затем соединяются в лимфатические посткапилляры, которые направляются к контурному пучку микрорайона, чаще – вдоль собирательных венул. Сходным образом устроено лимфатическое русло и в органах с многослойной конструкцией. Таким образом, все лимфатическое русло, начиная с его корней, занимает коллатеральное положение относительно кровеносных сосудов. В дефинитивном микроциркуляторном русле лимфатические сосуды чаще всего сопровождают венулы, как и в закладке лимфатического русла у эмбриона, тогда как за пределами органов крупные лимфатические стволы и протоки больше и чаще ориентированы на аорту и ее ветви.

Морфогенетическая складчатая адаптация лимфатического русла – образование его клапанов: периодические «сшибки» противотоков лимфы вызывают повторяющиеся локальные лимфодинамические удары и перерастяжения стенки русла, в результате чего возникают и увеличиваются остаточные деформации стенки в виде ее окружных складок [7]. Клапаны ограничивают обратный лимфоток и тем самым предотвращают разрушительные лимфодинамические удары. Еще в XIX веке А. Haller наблюдал ритмические сокращения сегментов брыжечных лимфатических сосудов между соседними клапанами и высказал предположение, что такие сегменты представляют собой лимфатические насосы. Тогда же L. Ranvier описал лимфатические сердца у млекопитающих. Согласно Е. Horstmann (1951) и Н. Mislin (1961) – это клапанные сегменты или лимфангионы, функциональные единицы лимфатического сосуда: дистально расположенный клапан ограничивает обратный лимфоток, более проксимальная мышечная манжетка поддерживает прямой лимфоток.

Я считаю, что лимфангионы – это межклапанные сегменты лимфатического сосуда [7],

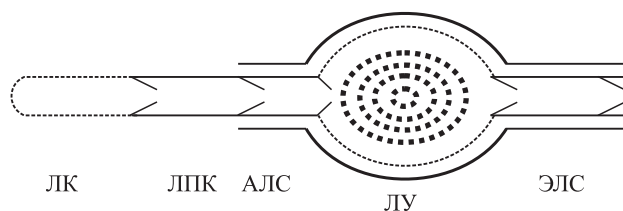


Рис. 2. Лимфатическое русло как цепь межклапанных сегментов с прогрессивно усложняющейся конструкцией стенок (схема): ЛК – лимфатический капилляр с эндотелиальными стенками, пунктирная линия символизирует подвижные межклеточные контакты, они функционируют как миниклапаны на входе в безмышечный межклапанный квазисегмент; ЛПК – лимфатический посткапилляр, в котором появляются типичные, интралюминарные клапаны (безмышечный межклапанный сегмент); АЛС, ЭЛС – афферентный и эфферентный лимфатические сосуды, жирные линии символизируют мышечный слой в их стенках (мышечные межклапанные сегменты или лимфангионы); ЛУ – лимфатический узел как нодальный или лимфоидный лимфангион, стенки которого содержат лимфоидную ткань

поскольку лимфангионы функционируют только при участии обоих пограничных клапанов (Webb R., 1932; и др.), как и нагнетательный насос в технике. Более того, лимфатическое русло имеет сегментарное строение на всем своем протяжении.

Клапаны разделяют лимфатическое русло на межклапанные сегменты с разным строением: в лимфатических посткапиллярах – безмышечные межклапанные сегменты, которые организуют пассивный лимфоотток из сети лимфатических капилляров; в лимфатических сосудах – мышечные межклапанные сегменты или лимфангионы, которые при дефиците энергии экстравазальных факторов способны сами сокращаться и активно продвигать лимфу к венам; в лимфатическом узле – нодальный, или лимфоидный лимфангион, регулирующий не только объемную скорость лимфотока, но и состав лимфы.

Все межклапанные сегменты лимфатического русла имеют общее строение: между входным и выходным клапанами находится бесклапанная часть сегмента, но с разной конструкцией. Стенка лимфатического посткапилляра состоит из эндотелия и (часто) соединительной ткани. Стенка лимфатического сосуда включает еще и гладкие миоциты, стенка лимфоузла – лимфоидную ткань. Пограничный клапан входит в состав обоих смежных межклапанных сегментов (стенка лимфатического русла непрерывна). Створки закрытого клапана разделяют их полости на автономные компартменты. Их расши-

рение при наполнении индуцирует пассивное сокращение межклапанного сегмента (давление окружающих тканей – наружной манжетки), а растяжение стенок – активное (мышечной манжетки лимфангиона). Сегментарный принцип построения распространяется на сеть лимфатических капилляров. Подвижные межклеточные контакты эндотелия работают как клапаны на входе в полость лимфатического капилляра: они выравнивают переменный ток жидкости между тканевыми каналами и лимфатическим капилляром, регулируя таким образом фильтрацию тканевой жидкости в полость капилляра (лимфообразование).

Лимфатическую систему можно представить как цепь межклапанных сегментов. Их строение прогрессивно усложняется в ортоградном направлении (рис. 2): к эндотелию лимфатического капилляра присоединяются его складки (клапаны) и адвентиция в стенках лимфатического посткапилляра, мышечные элементы – в стенках лимфатического сосуда, лимфоидная ткань – в стенках лимфатического узла. Эта иерархия в строении дефинитивной лимфатической системы рекапитулирует основные этапы развития данной системы в связи с органогенезом (ростом функциональной нагрузки) в эволюции и онтогенезе позвоночных. Так, грудной проток человека: 1) имеет эндотелиальные стенки у эмбрионов 7–8 недель, с конца 8-й недели – первые клапаны с короткими створками; 2) у плодов 3-го месяца приобретает тонкую адвентициальную оболочку и несколько клапанов с длинными створками, перекрывающими просвет при их смыкании; 3) с конца 3-го – начала 4-го месяца становится непарным, одновременно начинается разделение его утолщающейся стенки на дефинитивные слои с включением гладких миоцитов [6].

Лимфатический узел является частью непрерывного лимфатического пути: стенки и полость афферентного лимфатического сосуда переходят в капсулу и синусы узла, которые продолжают в стенки и полость эфферентного лимфатического сосуда. Их мышечные слои взаимосвязаны. Лимфатический узел – это один из лимфангионов в сети экстраорганного лимфатического русла: по строению и функции капсула узла – это мышечная манжетка нодального лимфангиона, в соединительную ткань которой внедряются лимфоциты [8]. И в эволюции позвоночных, и в онтогенезе человека и млекопитающих животных лимфоузлы образуются последними среди всех звеньев лимфатического русла, на основе лимфатических сосудов, но

при участии артерий и вен, инвагинирующих в просвет лимфатического сосуда. Затем возникает лимфоидная паренхима узла: макрофаги и лимфоциты из кровеносных микрососудов инвагинации мигрируют в ее межсосудистую соединительную ткань – стромальный зачаток лимфоузла. Массовая закладка лимфоузлов происходит у плодов человека 3-го месяца, когда все экстраорганные лимфатические сосуды имеют клапаны [6].

Классификация сегментов лимфатической системы. Сегментарная организация лимфатического русла определяется как строением его стенок (клапанами), так и топографией (ветвящейся артерией). Поэтому все сегменты лимфатической системы я разделил на 2 группы (рис. 3): 1) генеральные (общие для лимфатического и кровеносного русла), или системные; 2) специальные (собственные для лимфатического русла), или локальные. Генеральные, периартериальные сегменты можно также разделить на 2 группы: 1) центральные, парааортальные; 2) периферические, субаортальные, в том числе 2а) региональные, или топографо-анатомические, являются частью нервно-сосудистых фрагментов Б.В. Огнева; 2б) органные, анатомические, или субнодальные, соответствуют лимфатическим регионам Ю.И. Бородина; 2в) микроорганные, или микроанатомические (периартериоларные – лимфатические сосуды I порядка с их истоками в микрорайонах микроциркуляторного русла); 2г) корневые, или первичные (субартериоларные – лимфатические посткапилляры с их истоками в модулях микроциркуляторного русла). Специальные сегменты лимфатической системы я разделяю на безмышечные и мышечные (лимфангионы) межклапанные сегменты, лимфангионы – на сосудистые и нодальные (лимфоидные). Строение собственных сегментов лимфатической системы усложняется ортоградно: 1) на уровне тканей в органах (т.е. в местах лимфообразования) определяются корневые генеральные сегменты, которые состоят из безмышечных межклапанных сегментов; 2) на выходе из оболочек органов (на удалении от *vis a tergo*) возникают лимфангионы; 3) на уровне региональных генеральных сегментов (вне дренируемых органов) сосудистые лимфангионы дополняются и чередуются с нодальными лимфангионами. Собственные сегменты лимфатической системы соединяются с другими компонентами ее генеральных сегментов и корпоральных нервно-сосудистых фрагментов посредством соединительной ткани. В стенках лимфатического русла можно выделить

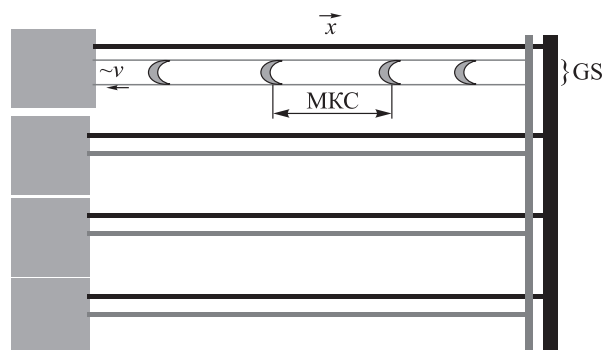


Рис. 3. Физические основы сегментарного морфогенеза лимфатического русла (схема): серые квадраты – сомиты; серые линии – лимфатические сосуды и их стенки; черные линии – артерии; МКС – межклапанный (специальный) сегмент; $\sim v$ – колебания (скорости) лимфотока в связи с функциональной активностью (в том числе с колебаниями продукции тканевой жидкости) сомита и его производных, клапаны находятся на пути обратного лимфотока; GS – генеральный сегмент; x – место собственного сегмента лимфатического русла относительно главной (сегментарной) артерии генерального сегмента, направление (роста) которой детерминирует топографию и состояние лимфатического русла генерального сегмента. Морфогенез лимфатического русла определяется формулой работы ($A = 1/2 mv^2 + 1/2 kx^2$) системы развития генерального сегмента как производной кинетической и потенциальной энергий системы

собственный сегментарный аппарат (межклапанные сегменты) и надсегментарный аппарат двухсторонних связей с тканями, окружающими русло. К первому из них относятся внутренние слои стенки лимфатического русла: в капиллярах и посткапиллярах – эндотелий, в сосудах и узлах – интима и медиа. Межклапанные сегменты окружены их общим футляром адвентиции. В его состав у сосудов и узлов могут входить субадвентициальный мышечный слой средней и мышечный слой наружной оболочек. Их преимущественно (косо)продольные пучки гладких миоцитов без перерыва и значительного отклонения проходят над клапанами и соединяют мышечные манжетки соседних лимфангионов в единую мышечную полосу – структурная основа их совместных сокращений. В поверхностные слои адвентиции лимфатического русла вплетаются пучки соединительнотканых волокон периадвентиции. Она объединяет стенки лимфатического русла с окружающими тканями и органами – механические приводы наружной манжетки экстралимфатического (тканевого) насоса.

Заключение. Таким образом, конституция или общее устройство лимфатической системы, определяющее ее реакции на все воздействия окружения, в том числе на толчки лимфотока, состоит в сегментарном строении всех частей и звеньев системы. Организация лимфатической системы включает складчатую конструкцию стенок лимфатического русла, обусловленную колебаниями лимфотока, и квазисегментарную связь с артериями. Топографо-анатомическая периартериальная сегментация лимфатического русла является следствием сегментарного устройства эмбриона (сомиты, другие органы – корпоральные нервно-сосудистые фрагменты) и отражает внешние связи русла с окружением – источником всех экстравазальных факторов лимфотока. Функциональная межклапанная сегментация лимфатического русла возникает у плода и соответствует импульсному лимфообразованию в органах и парциальному лимфооттоку из органов, что обусловлено циклическим характером жизнедеятельности клеток и тканей. В условиях дефицита собственной энергии лимфотока межклапанные сегменты лимфатического русла во всем разнообразии организуют базовое, пассивное и дополнительно активное продвижение лимфы от органов к венам. Строение и режим функционирования межклапанных сегментов определяются их топографией: на каждом уровне генеральной сегментации, ветвления главной артерии системного сегмента лимфатическое русло подразделяется на собственные межклапанные сегменты с разной конструкцией стенок. Она адекватна колебаниям функциональной активности окружения: метаболической – у дренируемых органов (лимфообразование ~ поршень тканевого насоса), механической – у смежных, прилегающих органов (~ наружная манжетка тканевого насоса). Лимфоузлы являются одновременно лимфатическими (транспорт) и лимфоидными (фильтр) сегментами лимфатической системы: 1) как звено лимфатического русла – это специальный лимфангион с лимфоидной насадкой (лимфоидный вариант собственных сегментов лимфатической системы); 2) как иммунный орган – это лимфоидный участок генерального сегмента лимфатической системы, начиная с лимфатического региона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бородин Ю.И., Сапин М.Р., Этинген Л.Е. и др.* Общая анатомия лимфатической системы. Новосибирск, 1990. 243 с.
2. *Бородин Ю.И., Сапин М.Р., Этинген Л.Е. и др.* Функциональная анатомия лимфатического узла. Новосибирск, 1992. 257 с.
3. *Бородин Ю.И., Сапин М.Р., Этинген Л.Е. и др.* Functional anatomy of lymphatic node. Novosibirsk, 1990. 257 p.
4. *Жданов Д.А.* Общая анатомия и физиология лимфатической системы. Л., 1952. 336 с.
5. *Zhdanov D.A.* General anatomy and physiology of lymphatic system. L., 1952. 336 p.
6. *Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С.* Лимфология. Новосибирск, 2012. 1104 с.
7. *Konenkov V.I., Borodin Yu.I., Lubarsky M.S.* Lymphology. Novosibirsk, 2012. 1104 p.
8. *Куприянов В.В., Бородин Ю.И., Караганов Я.Л., Выренков Ю.Е.* Микролимфология. М., 1983. 288 с.
9. *Kupriyanov V.V., Borodin Yu.I., Karaganov Ya.L., Birenkov Yu.Ye.* Microlymphology. M., 1983. 288 p.
10. *Петренко В.М.* Эволюция и онтогенез лимфатической системы. Второе издание. СПб., 2003. 336 с.
11. *Petrenko V.M.* Evolution and ontogenesis of lymphatic system. SPb., 2003. 336 p.
12. *Петренко В.М.* Функциональная морфология лимфатических сосудов. СПб., 2008. 400 с.
13. *Petrenko V.M.* Functional morphology of the lymphatic vessels. SPb., 2008. 400 p.
14. *Петренко В.М.* Структурные основы активного лимфотока в лимфатическом узле // Актуальные проблемы современной морфологии. СПб., 2008. 24–90.
15. *Petrenko V.M.* Structural basis of active lymph flow in lymph node // Actual problems of modern morphology. SPb., 2008. 24–90.
16. *Петренко В.М.* Ангиоархитектоника микроциркуляторного русла // Журн. теоретич. и практич. медицины. 2010. (8). 177–178.
17. *Petrenko V.M.* Angioarchitectonics of microcirculatory bed // Zhurn. teoretich. i praktich. meditsiny. 2010. (8). 177–178.
18. *Петренко В.М.* Лимфатическая система: определение // Успехи соврем. естествознания. 2011. (3). 23–27.
19. *Petrenko V.M.* Lymphatic system: definition // Uspekhi sovrem. estestvoznaniya. 2011. (3). 23–27.
20. *Сапин М.Р., Борзьяк Э.И.* Внеорганные пути транспорта лимфы. М., 1982. 264 с.
21. *Sapin M.R., Borzyak E.I.* Extraorgan paths of lymph transport. M., 1982. 264 p.

CONSTITUTION OF LYMPHATIC SYSTEM

Valeriy Michaylovich Petrenko

194021, Sankt-Peterburg, Karbyshev str., 6-2-65

Lymphatic system consists of segments of two levels of organization – general, or periarterial, and special or native, intervalvular. The segments organize all the system responses to the environment influences including impact of lymph flow.

Key words: lymphatic system, segment, valve, artery.

Petrenko V.M. – doctor medical sciences, professor, e-mail: deptanatomy@hotmail.com

УДК [616.151.5-07:616.12-008.331.1]-053.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ ВНЕШНЕГО, ВНУТРЕННЕГО И ОБЩЕГО МЕХАНИЗМОВ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ СТАБИЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ**Марина Владимировна ГОМЕЛЛЯ¹, Владимир Валентинович ДОЛГИХ¹, Евгений Семенович ФИЛИППОВ², Любовь Владимировна РЫЧКОВА¹**¹ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16² ГБОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

В статье представлены результаты исследования факторов свертывания внешнего, внутреннего и общего механизмов коагуляционного гемостаза детей со стабильной артериальной гипертензией. Выявлено достоверное увеличение активности факторов VIII, XI, X и V, снижение активности фактора XII, а также повышение активности и содержания фактора Виллебранда при стабильной артериальной гипертензии у детей, что свидетельствует о наличии скрытой гиперкоагуляции. Увеличение активности фактора VIII наблюдалось у 29,7 %, фактора XI – у 15,6 %, X – у 12,5 %, V – у 14,1 %, снижение активности фактора XII – у 12,5 %, увеличение активности и содержания фактора Виллебранда – у 37,5 % детей при стабильной артериальной гипертензии.

Ключевые слова: коагуляционный гемостаз, артериальная гипертензия.

Нарушения системы гемостаза, согласно современным представлениям, играют важную роль в развитии осложнений при артериальной гипертензии (АГ) [1–5]. В ряде работ обсуждается значение изменений гемостаза в патогенезе развития дисфункции органов-мишеней, нарушений мозгового кровообращения, возникновения инфаркта миокарда [6, 7]. Ключевые этапы тромбообразования связаны с факторами свертывания крови VIII, IX, X, XI, XII, VII, II, V [7]. К сожалению, имеются лишь единичные публикации, посвященные исследованию гемостаза при АГ у детей и подростков, частота встречаемости которой среди них составляет 4,8–18,0 % [8]. В связи с этим нами было проведено исследование сопряженных изменений показателей факторов свертывания внешнего (VII), внутреннего (VIII, IX, XI, XII) и общего

(X, V, II) механизмов коагуляционного гемостаза, а также фактора Виллебранда у детей при стабильной АГ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе клиники Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН обследовано 205 детей в возрасте от 9 до 17 лет, из них 170 детей с эссенциальной АГ и 35 практически здоровых детей. Из числа 170 детей с эссенциальной АГ у 90 была стабильная АГ. Среди детей со стабильной АГ у 64 (71,1 %) выявлены протромботические нарушения гемостаза на основании проведения комплексного исследования сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза (1 группа). Контрольную группу составили 35 практически здоровых детей (2 группа). У всех детей

Гомелля М.В. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической педиатрии и реабилитации, ассистент кафедры педиатрии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, e-mail: marina_gomellya@mail.ru

Долгих В.В. – д.м.н., проф., зам. директора по науке

Филиппов Е.С. – д.м.н., проф., зав. кафедрой педиатрии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Рычкова Л.В. – д.м.н., зав. отделом экологической педиатрии

впервые определяли активность факторов свертывания внешнего (VII), внутреннего (VIII, IX, XI, XII) и общего (X, V, II) механизмов коагуляционного каскада методом коррекции активированного парциального тромбопластинового времени на дефицитной по соответствующему фактору плазме с реагентами фирмы Roche (Швейцария). Диапазон нормальных значений активности для фактора VIII составил 60–150 %, для фактора IX – 60–150 %, для фактора X – 70–120 %, для фактора XI – 60–140 %, для фактора XII – 60–140 %, для фактора VII – 60–150 %, для фактора II – 70–120 %, для фактора V – 70–120 %. Исследования проводили на автоматическом коагулометре ACL-200 (Instrumentation Laboratory, США). Активность фактора Виллебранда (ристоцетин-кофакторную активность) определяли на формализированных тромбоцитах по методу Born (реактивы фирмы Roche) на агрегометре PACKS-4 (Helen Laboratories, Великобритания). Содержание антигена фактора Виллебранда исследовали при помощи латексного набора на коагулометре STA-R Evolution (Roche Diagnostics) с реагентом фирмы Roche. У здоровых детей как активность, так и содержание фактора Виллебранда находились в пределах 60–150 %. Исследования гемостаза проводили на базе лаборатории гематологии Иркутского областного консультативно-диагностического центра.

Сравнение полученных результатов проводили по формулам математической статистики. В описании представлены средние значения результатов исследования в группах (*M*) и значения стандартной ошибки (*m*). Различия между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Крамера – Уэлча и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании показателей активности коагуляционных факторов было установлено, что у детей со стабильной АГ активность VIII фактора была значимо больше, чем у детей контрольной группы (на 62,4 %, $p < 0,001$) (см. таблицу). При этом у 19 (29,7 %) пациентов величина показателя превышала 150,0 %, у 13 (68,4 %) из них активность VIII фактора была в диапазоне от 150,0 до 159,0 %, у 5 (26,3 %) – в пределах 160,0–169,0 %, у 1 (5,3 %) – 170,0–180,0 %. Таким образом, у 29,7 % детей при стабильной АГ выявлено повышение активности фактора VIII.

На основе полученных результатов, а также литературных данных, свидетельствующих о том, что повышение активности фактора VIII является тромбофилическим состоянием [9, 10], можно предположить наличие патогенетической связи между гиперпродукцией фактора VIII и тромботическими осложнениями при эссенциальной АГ. У детей с АГ данные нарушения, возможно, являются фоном (тем более, что при АГ имеется продолжительная травма сосудистого эндотелия, что закономерно снижает его атромбогенные свойства) или даже пусковым механизмом развития предтромботических нарушений при АГ.

При исследовании XI фактора свертывания установлено, что у 10 (15,6 %) детей при стабильной АГ его активность превышала 140,0 %, в целом по группе 2, будучи больше контрольных значений, на 42,4,0 % ($p < 0,001$) (см. таблицу). У 6 (60,0 %) из 10 этих пациентов активность XI фактора составляла от 140,0 до 169,0 %, у 4 (40,0 %) – от 170,0 до 199,0 %. Данные изменения указывают на то, что у 15,6 % детей при стабильной АГ имеется повышение активности фактора XI.

Таблица

Изменение показателей факторов свертывания крови у детей при стабильной АГ

Показатель, %	1 группа ($n = 64$)	2 группа (контрольная) ($n = 35$)
Активность фактора VII	–	$99,9 \pm 3,5$
Активность фактора VIII	$155,7 \pm 2,7$	$93,3 \pm 3,6^*$
Активность фактора IX	–	$86,0 \pm 3,8$
Активность фактора XI	$159,4 \pm 2,6$	$117,0 \pm 2,9^*$
Активность фактора XII	$39,8 \pm 3,5$	$102,3 \pm 3,4^*$
Активность фактора X	$146,0 \pm 3,0$	$89,2 \pm 3,9^*$
Активность фактора V	$141,6 \pm 3,9$	$89,5 \pm 3,9^*$
Активность фактора II	–	$110,5 \pm 3,2$
Активность фактора Виллебранда	$180,1 \pm 2,2$	$101,8 \pm 4,6^*$
Содержание фактора Виллебранда	$202,0 \pm 2,1$	$105,6 \pm 4,5^*$

Известно, что факторы VIII и XI участвуют в реализации внутреннего механизма свертывания крови. Активация свертывания по этому механизму происходит вследствие контакта крови с субэндотелием (коллагеном), что наблюдается при повреждении стенок кровеносных сосудов [9, 10]. Следовательно, можно предположить, что скрытая гиперкоагуляция по внутреннему пути, выявленная в наших исследованиях, может быть следствием длительной травмы стенок кровеносных сосудов при стабильной АГ у детей.

При изучении активности XII коагуляционного фактора установлено, что у детей группы 2 в среднем она была меньше контрольных величин на 62,5 % ($p < 0,001$) (см. таблицу), в том числе у 8 (12,5 %) детей – до значений менее 50,0 %. У 4 (50,0 %) из этих 8 пациентов активность XII фактора находилась в пределах от 50,0 до 40,0 %, у 4 (50,0 %) – от 39,0 до 30,0 %.

Согласно литературным данным, дефицит XII фактора способен вызывать тромбозы, главным образом из-за снижения фибринолитической активности плазмы, так как XII фактор участвует во внутреннем механизме фибринолиза [9, 10]. Следовательно, снижение активности XII фактора у 12,5 % детей при стабильной АГ может способствовать развитию и прогрессированию тромботических осложнений.

Наряду с этим в наших исследованиях наблюдались изменения активности коагуляционных факторов конечного этапа свертывания крови, которые выразились в увеличении активности X фактора (на 56,8 %, $p < 0,001$) и V фактора (на 52,1 %, $p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы (см. таблицу). Повышение активности X и V факторов до значений более 120 % установлено соответственно у 8 (12,5 %) и у 9 (14,1 %) детей со стабильной АГ. При этом в первом случае у всех 8 пациентов (100,0 %) величина показателя составляла от 130,0 до 140,0 %, а во втором у 6 (66,7 %) из 9 пациентов активность V фактора была в диапазоне от 130,0 до 140,0 %, у 2 (22,2 %) – от 140,0 до 150,0 %, у 1 (11,1 %) – от 150,0 до 160,0 %.

На X факторе замыкаются оба механизма свертывания, при этом в процесс вовлекается фактор V, играющий роль ускорителя реакции [9, 10]. Вероятно, увеличение активности этих факторов связано с выявленными нами изменениями активности VIII, XI факторов при стабильной АГ у детей.

Изменений активности факторов VII (внешнего механизма), IX (внутреннего механизма)

и II (общего механизма) коагуляционного гемостаза у детей при стабильной АГ не выявлено.

Как известно, процесс коагуляции по внешнему (тканевому) пути предполагает контакт крови с поврежденными клетками, которые высвобождают тканевой фактор. Кроме этого фактор VII активируется фактором XIIa, а фактор VIIa ускоряет активацию фактора IX [9, 10]. Таким образом, можно предположить, что отсутствие изменений активности VII фактора может быть обусловлено выявленным в наших исследованиях снижением активности XII фактора при стабильной АГ у детей. А отсутствие изменений активности IX фактора при изучаемой патологии у детей может быть связано с отсутствием изменений активности фактора VII.

О наличии связи между нарастанием активности фактора VIII и ряда других с проявлениями эндотелиоза у детей со стабильной АГ свидетельствуют изменения активности и содержания фактора Виллебранда. При исследовании этого кофактора фактора VIII установлено, что у детей при стабильной АГ повышены его активность (на 78,3 %, $p < 0,001$) и содержание (на 96,4 %, $p < 0,001$) по сравнению с группой контроля (см. таблицу). При этом у 24 (37,5 %) пациентов активность фактора Виллебранда была больше 150,0 % (у 7 (29,2 %) больных – в диапазоне от 150,0 до 179,0 %, у 12 (50,0 %) – от 180,0 до 199,0 %, у 5 (20,8 %) – 200,0 % и более), а уровень антигена фактора Виллебранда – также у 24 (37,5 %) пациентов (у 3 (12,5 %) больных – в диапазоне от 150,0 до 179,0 %, у 2 (8,3 %) больных – от 180,0 до 199,0 %, у 19 (79,2 %) – 200,0 % и более).

Согласно литературным данным, повышение содержания фактора Виллебранда и увеличение размера его мультимеров может являться как фактором предрасположенности к тромбозам, так и неспецифическим признаком воспаления [9, 10]. Кроме этого фактор Виллебранда является прямым свидетелем повреждения эндотелия кровеносных сосудов. Повышение активности и содержания фактора Виллебранда в 37,5 % случаев при стабильной АГ свидетельствует о повреждении сосудистого эндотелия у обследованных нами детей.

Выявленные предтромботические нарушения при стабильной АГ у детей могут быть как приобретенными, так и врожденными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что у детей со стабильной АГ имеется скрытая гиперкоагуляция, характеризующаяся увеличением

активности факторов свертывания внутреннего (VIII, XI) и общего (X, V) путей свертывания крови, снижением активности фактора XII на фоне увеличенной активности и содержания фактора Виллебранда. Несмотря на отсутствие у обследованных детей клинически значимых тромботических событий, выявленная активация гемостаза, по нашему мнению, является потенциально опасной, создавая реальные предпосылки для возникновения тромботических осложнений (особенно при осуществлении инвазивных методов лечения и обследования). В этой связи детям с эссенциальной АГ необходим контроль за состоянием системы гемостаза и при необходимости – фармакологическая коррекция сдвигов в системе свертывания крови.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Выражаем огромную благодарность и признательность зав. лабораторией гематологии Иркутского областного клинического консультативно-диагностического центра, к.б.н. Елене Иннокентьевне Нешиной за содействие и выполнение комплексного исследования сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза (всего 32 показателя) у всех обследованных больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бугун О.В. Клинико-патогенетические варианты артериальной гипертензии у детей и подростков и обоснование рациональной терапии и реабилитационных программ: дис. ... докт. мед. наук. Иркутск, 2008.

Bugin O.V. Clinical-pathogenetic variants of arterial hypertension in children and teenagers and the basis of the rational therapy and rehabilitation programs: abstract of thesis. ... doc. med. sci. Irkutsk, 2008.

2. Подчерняева Н. Тромбоз в педиатрической практике // Врач. 2006. (9). 20–23.

Podchernyaeva N. Thrombosis in pediatric practice // *Vrach.* 2006. (9). 20–23.

3. Чупрова А.В., Хозяинова Ж.В., Соловьев О.Н., Яхонтов Д.А. Состояние системы свертывания крови при артериальной гипертензии у детей // Педиатрия. 1998. (6). 48–52.

Chuprova A.V., Khozyainova Zh.V., Solov'ev O.N., Yakhontov D.A. The condition of blood coagulation system in children with arterial hypertension // *Pediatriya.* 1998. (6). 48–52.

4. Kjeldsen S.E., Julius S., Hender T. et al. Stroke is more common than myocardial infarction in hypertension analysis based on 11 major randomized Intervention trials // *Blood Press.* 2001. 10. 190–192.

5. Salomaa V., Rasi V., Kulantinal S. et al. Haemostatic factors a predictors of coronary events and total mortality // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002. 22. (2). 353–358.

6. Keskin A., Tombuloglu M., Buyukkececi F. Fibrinolytic activity and platelet release reaction in essential hypertension // *Jpn Heart J.* 1994. 35. (6). 757–763.

7. Spenser C.G.C., Gurney D., Blann A.D. et al. Platelet and haemorheological markers in high risk hypertensives are improved by tighter blood pressure control // *Am. J. Hypertens.* 2000. 13. 237A.

8. Долгих В.В., Колесникова Л.И. Патогенез эссенциальной артериальной гипертензии у детей. Иркутск: Изд-во ВСНЦ СО РАМН, 1999. 220 с.

Dolgikh V.V., Kolesnikova L.I. Pathogenesis of the essential arterial hypertension in children. Irkutsk: *Izd-vo VSNC RAMN,* 1999. 220 p.

9. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Изд. 2-е, дополненное. М.: Ньюдиамед, 2001. 296 с.

Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostics and the controlled therapy of the disturbances of hemostasis. The 2nd edition. M.: *Newdiamed,* 2001. 296 p.

10. Руководство по гематологии: в 3-х томах с прил; изд. 4-е / Ред. А.И. Воробьев. М.: Ньюдиамед, 2007. 1275 с.

The Guidance to Hematology; 3 Volumes with Appendixes: The 4th Edition / Ed. A.I. Vorobjov. M.: *Newdiamed,* 2007. 1275 p.

THE RESEARCH ON COAGULATION FACTORS OF EXTERNAL, INTERNAL AND GENERAL MECHANISMS OF COAGULATION HEMOSTASIS IN CHILDREN WITH STABLE ARTERIAL HYPERTENSION

**Marina Vladimirovna GOMELLYA¹, Vladimir Valentinovich DOLGIKH¹,
Evgenii Semenovitch PHILIPPOV², Lyibov Vladimirovna RYCHKOVA¹**

¹ *Scientific Center for Problems of Family Health and Human Reproduction SB RAMS
664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16*

² *Irkutsk State Medical University
664003, Irkutsk, Red Revolt str., 1*

This article presents a study on factors of external, internal and general mechanisms of coagulation hemostasis in children with stable arterial hypertension. The significant increase of activity factors VIII, XI, X, V, decrease of activity factor XII, as well as increase of the factor Willebranda` activity and content in children with stable hypertension have been revealed, that testify to latent hypercoagulation. The increase of factor VIII activity was observed in 29,7 %, factor XI – 15,6 %, X – 12,5 %, V – 14,1 %, the decrease in factor XII – 12,5 %, the increase of factor Willebranda` activity and content – in 37,5 % of patients with stable arterial hypertension.

Key words: coagulation hemostasis, arterial hypertension.

***Gomellya M.V.** – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of environmental pediatrics and rehabilitation, assistant of the chair for pediatrics of the faculty for advanced training and occupational retraining, e-mail: marina_gomellya@mail.ru*

***Dolgikh V.V.** – doctor of medical sciences, professor, the deputy director on scientific researches*

***Philippov E.S.** – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for pediatrics of the faculty for advanced training and occupational retraining*

***Rychkova L.V.** – doctor of medical sciences, the head of the department of environmental pediatrics*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ДЕТЕЙ НА ТЕРРИТОРИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО, РАДИАЦИОННОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ

Антон Вячеславович КОРСАКОВ¹, Владислав Павлович ТРОШИН¹,
Владимир Петрович МИХАЛЁВ², Андрей Владимирович ЖИЛИН¹,
Ольга Владимировна ЖИЛИНА¹, Дина Анваровна ВОРОБЬЁВА¹,
Нина Сергевна КОРОТКОВА¹

¹ ГБУЗ Брянский патологоанатомический институт
241033, г. Брянск, просп. Станке Димитрова, 86

² ГБОУ ВПО Брянский государственный университет им. академика И.Г. Петровского
241036, г. Брянск, ул. Бежицкая, 14

Представлена сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений у детей (по микроядерному тесту в буккальном эпителии) на экологически неблагоприятных территориях Брянской области с различной плотностью токсического (от 1,7 до 171,6 кг/чел./год по токсическим веществам), радиоактивного (от 10,7 до 504,3 кБк/м² по ¹³⁷Cs) и комбинированного загрязнения среды. Установлены статистически достоверные неблагоприятные изменения в цитогенетическом статусе детей в условиях высокотоксического, радиационно-изолированного и, особенно, радиационно-токсического загрязнения среды, проявляющиеся повышенной частотой двуядерных клеток, клеток с карнопикнозом и карполилизисом.

Ключевые слова: экологическое неблагополучие, среднегодовые токсические нагрузки, плотность радиоактивного загрязнения, буккальный эпителий, цитогенетические нарушения, микроядерный тест.

В последнее десятилетие после промышленного спада производства 90-х годов прошлого столетия вновь обострились проблемы техногенной токсико-химической загрязненности окружающей среды, влияющей на здоровье населения, особенно детей, как наиболее чувствительной группы при воздействии различных ксенобиотиков [1–3]. Техногенное токсико-химическое загрязнение атмосферного воздуха в настоящее время достигает чрезвычайных размеров: свыше 10 ПДК подвергаются 15 % населения в 37 городах РФ, от 5 до 10 ПДК – 52 % в 129 городах, до 5 ПДК – 14 % в 35 городах страны [4]. В городах Брянской области отмечается до 10 ПДК [4, 5]. Так, индекс загрязнения атмосферы, учитывающий несколько примесей токсикантов и характеризующий уровень хронического воздействия, в городах Брянской области составляет от 5 до 13 (от 1 до 10 ПДК)

[5, 6], что указывает на повышенный и высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха.

Состояние современной среды является одной из ведущих причин ухудшения здоровья, прежде всего детского населения страны. По данным Министерства здравоохранения и социального развития РФ общая и первичная заболеваемость детей в Брянской области за двадцатилетний период (1990–2009 гг.) возросла соответственно на 102,0 и 88,1 %, в РФ – на 77,0 % [7]. По данным НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков научного центра здоровья детей РАМН, за последние 50 лет установлено значительное уменьшение числа детей первой группы здоровья, которое в настоящее время составляет 2–4 % при существенном увеличении распространенности хронических заболеваний и морфофункциональных отклонений [8, 9]. Такие явные негативные тенденции в

Корсаков А.В. – к.б.н., зам. директора, e-mail: korsakov_anton@mail.ru

Трошин В.П. – д.м.н., директор, заслуженный врач РФ, e-mail: patanat32@gmail.com

Михалёв В.П. – д.м.н., проф., e-mail: korsakov_anton@mail.ru

Жилин А.В. – к.б.н., биолог, e-mail: patanat32@gmail.com

Жилина О.В. – к.б.н., биолог, e-mail: patanat32@gmail.com

Воробьёва Д.А. – биолог, e-mail: patanat32@gmail.com

Короткова Н.С. – зав. отделением КЛД № 3, e-mail: patanat32@gmail.com

изменении показателей здоровья детей и состояния окружающей среды ставят эту проблему в разряд наиболее приоритетных задач государственной политики [1, 2].

Однако данные, указывающие на причины и закономерности резкого ухудшения состояния здоровья детского населения, определяющие иерархичность (распределение по степени агрессивности) техногенных факторов среды, отсутствуют [10].

Мониторинг радиационной обстановки на юго-западных территориях (ЮЗТ) Брянской области показал, что, несмотря на прошедшие от момента аварии на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) 25 лет, радиоактивность по основным долгоживущим радионуклидам (^{137}Cs и ^{90}Sr) остается высокой и коренного перелома в сторону улучшения пока не наступило, что служит дополнительным дозообразующим фактором, влияющим на состояние здоровья населения [5, 6, 11]. Так, по данным Управления федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Брянской области, плотность радиоактивного загрязнения ЮЗТ ^{137}Cs в 2008 г. снизилась на 30–35 % по отношению к маю 1986 г., достигая максимальных значений в с. Заборье Красногорского района (2523,4 кБк/м² или 68,2 Ки/км²) [5, 6]. Процессы освобождения и самоочищения почв от долгоживущих радионуклидов идут медленно. Снижение уровня плотности загрязнения почв сельхозугодий ^{137}Cs по отношению к маю 1986 г. по области составило всего 1,6 раза, превышение же доаварийного уровня на пашне и в сенокосно-пастбищных угодьях соответственно 45- и 88-кратное [5, 6, 11].

В Брянской области вследствие аварии на ЧАЭС образовалась не встречающаяся на других территориях экологическая среда, уникальная как в плане повышенной радиоактивной загрязненности ЮЗТ области, так и в плане появления территорий новейших, не известных ранее (до аварии) комбинированных радиационно-токсических и радиационно-изолированных (экологически благополучных по токсическим компонентам) экосистемных воздействий (при равных дозах радиационных нагрузок на население) [10, 12].

Вместе с тем, несмотря на известность географии распределения радиационных загрязнений Брянской области, исследование последствий Чернобыльской катастрофы по-прежнему рассматривается без учета фоновых техногенно-токсических воздействий, их интенсивности и неизбежного в таких ситуациях роста заболеваемости населения, особенно детей – крити-

ческого звена при воздействии различных ксенобиотиков [10, 12].

Изучение цитогенетического статуса детей, проживающих в таких условиях, представляется крайне важным и необходимым для прогнозирования эффективности вкладов техногенно-токсических факторов среды в частоту цитогенетических нарушений на радиоактивно-загрязненных территориях, пострадавших вследствие аварии на ЧАЭС. Частота цитогенетических нарушений (микроядер, деструкции ядра и повышенной пролиферации) в буккальном эпителии у детей, проживающих при такой многофакторной загрязненности среды, не исследована и является основным вопросом настоящей статьи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами проведена сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7–9 лет, проживающих на экологически благополучных (контрольных), радиационных (вследствие аварии на ЧАЭС), высокотоксических (вследствие накопления промышленных выбросов) и комбинированных радиационно-токсических территориях Брянской области. Исследования цитогенетического статуса детей 7–9 лет проводились на основе метода анализа микроядер и аномалий ядра в эксфолиативных клетках человека, предложенного Stich et al. [13].

У 242 детей 7–9 лет (123 мальчика и 119 девочек) проводился забор буккального эпителия. В п.г.т. Клетня обследовано 59 детей (26 мальчиков и 33 девочки), в с. Творишено – 42 ребенка (21 мальчик и 21 девочка), г. Новозыбкове – 72 ребенка (39 мальчиков и 33 девочки) и г. Дятьково – 69 детей (37 мальчиков и 32 девочки). От каждого ребенка изучались от 500 до 1500 клеток, затем производился пересчет на 1000 клеток (окончательный результат выражен в промилле, ‰). Всего проанализировано 237 000 клеток (см. рисунок).

На стеклах с буккальным эпителием детей 7–9 лет с помощью светового микроскопа Nikon (Япония) подсчитывались: клетки с микроядрами (КМЯ), двуядерные клетки (ДК), клетки с более чем двумя ядрами (КЯ > 2), клетки с двойным ядром (ДЯ), протрузии разных форм (ПРФ), клетки с кариопикнозом (КП), кариорексисом (КР) и кариолизисом (КЛ). Перечисленные показатели оценивались как ведущие признаки нарушения цитогенетического статуса.

Мазки буккального эпителия фиксировались после высушивания на воздухе с помощью кра-

сителя-фиксатора Лейшмана (раствор азура I, метиленового синего и желтого водорастворимого эозина в метаноле) в течение 3–4 минут. Краситель-фиксатор сливали, мазок на предметном стекле промывали проточной водопроводной водой при pH 6,5–7,0, так как использование воды другой реакции может привести к плохой, нежелательной, а в ряде случаев и непригодной для цитологического исследования окраске препаратов. Для приготовления красителя-фиксатора Лейшмана 2,5 г сухого порошка краски Лейшмана растворяли в 1 л метилового спирта и оставляли на 3 дня в сосуде с притертой пробкой, периодически помешивая. Через 3 дня раствор профильтровывали и помещали в другой сосуд. Раствор стоек.

Показатели величин валовых газообразных промышленных выбросов в атмосферу летучих органических соединений с входящими в их состав бенз(а)пиреном, бензолом, формальдегидом, фенолом и др., оксидами азота, диоксидом серы, оксидом углерода (тонн в год) нами изучены по материалам паспортизации всех предприятий Брянской области за десятилетний период, выполняющих проект предельно допустимых выбросов (2000–2009 гг.) [14]. Последующий расчет показателей степени загрязненности отдельных районов по мощности суммарных газообразных выбросов (тонн в год) данного токсиканта в данном районе Брянской области проводили путем пересчета величин среднегодового выброса на отдельного жителя данного района (кг/чел/год) [15].

Для установления величин плотности радиоактивного загрязнения по ^{137}Cs использовали данные справочника [16], дополненные в учебном пособии «Радиационная экология» по нерадиационным районам Брянской области [17].

Нами выделены следующие территории Брянской области по уровню токсического, радиоактивного и комбинированного загрязнения среды (табл. 1): 1) п.г.т. Клетня – малая плотность радиоактивного и токсического загрязнения (экологически благополучный); 2) с. Творишино – высокая плотность радиоактивного при низком уровне токсического загрязнения (радиационно-изолированный); 3) г. Дятьково – малая плотность радиоактивного при максимально высоком уровне токсического загрязнения (высокотоксический); 4) г. Новозыбков – высокая плотность радиоактивного и токсического загрязнения (комбинированный радиационно-токсический).

Среднегодовые токсические нагрузки на отдельного жителя рассматриваемых районов и плотность радиоактивного загрязнения по цезию-137 представлены в табл. 1.

Анализ полученных данных проводили с использованием методов математической статистики. В качестве среднего значения везде фигурирует выборочное среднее, так как выборочные данные обладают очевидной симметрией. При описании разброса данных используется ошибка средней арифметической. Для проверки статистической гипотезы о значимости отклонения того или иного показателя нами применялся

Таблица 1

Загрязненность районов Брянской области по уровню токсического, радиоактивного и комбинированного загрязнения окружающей среды

Вариант воздействия факторов экологического неблагополучия среды	Экологическое благополучие (п.г.т. Клетня)	Высокое токсическое загрязнение (г. Дятьково)	Радиационно-изолированное загрязнение (с. Творишино)	Радиационно-токсическое загрязнение (г. Новозыбков)
Среднегодовые суммарные токсические нагрузки на жителя по газообразным токсикантам (2000–2009 гг.), кг/чел./год	1,7	171,6	2,7	26,2
Из них:				
летучих органических соединений	0,1	6,3	0,2	5,3
NO _x	0,6	59,9	1,3	8,4
SO ₂	0,5	36,3	0,0	4,1
CO	0,5	68,6	1,1	8,4
Плотность радиоактивного загрязнения среды по ^{137}Cs , (2001 г.), кБк/м ²	10,73 (0,29)*	29,60 (0,80)*	383,3 (10,36)*	504,30 (13,63)*

* Значения в Ки/км²

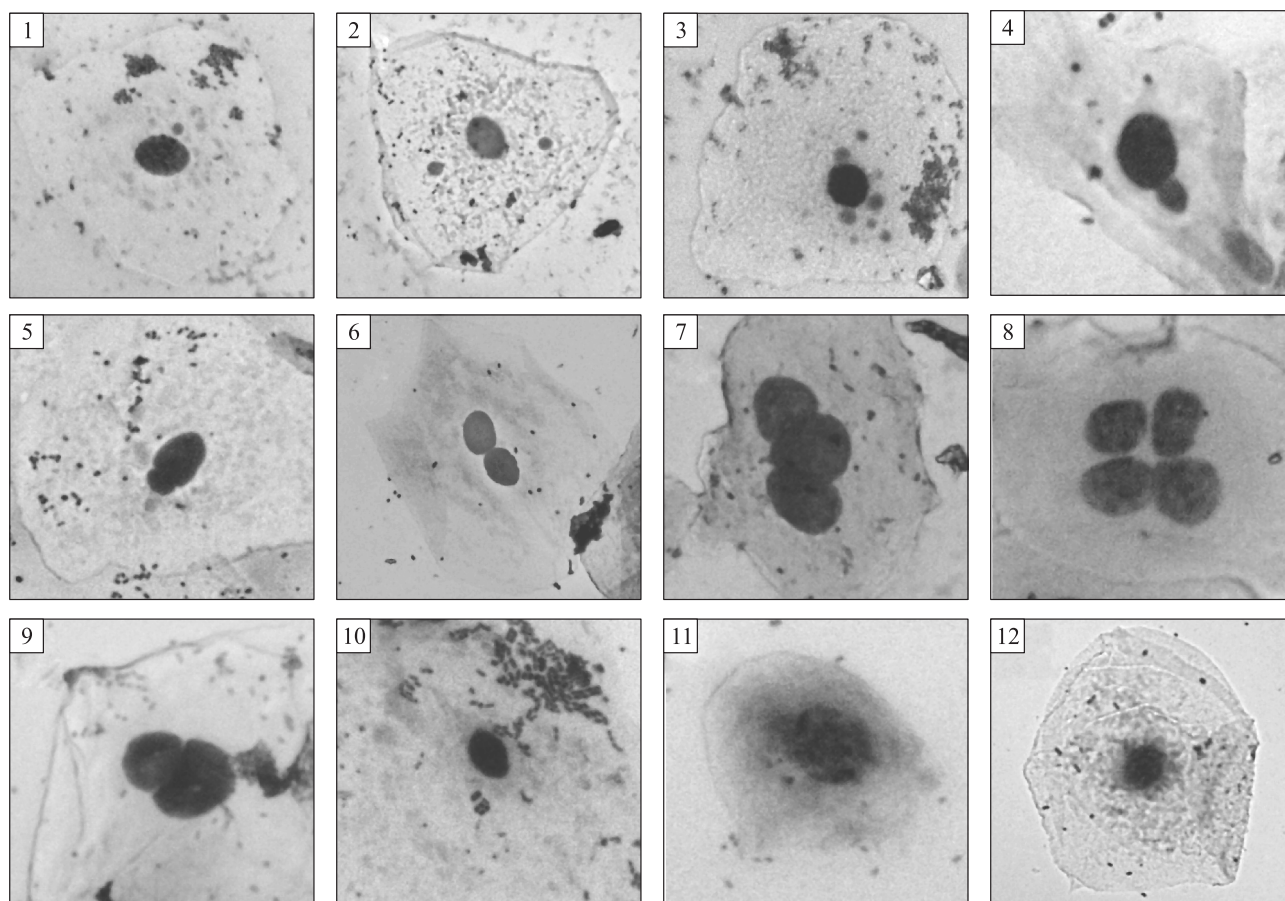


Рис. Микрофото цитогенетических нарушений в буккальном эпителии детей 7–9 лет (окраска по Лейшману, ув. $\times 400$). 1 – клетка с микроядром; 2 – клетка с двумя микроядрами; 3 – клетка с множеством микроядер; 4, 5 – клетка с протрузией ядра; 6 – двуядерная клетка; 7 – клетка с тремя ядрами; 8 – клетка с четырьмя ядрами; 9 – клетка с двойным ядром; 10 – клетка с кариопикнозом; 11 – клетка с кариорексисом; 12 – клетка с кариолизисом

традиционный в медико-биологических исследованиях *t*-критерий Стьюдента, используемый для нормального распределения непрерывных переменных. Для оценки достоверности данных использованы разные уровни статистической значимости различий: 0,05, 0,01, 0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7–9 лет, проживающих в условиях экологического благополучия, высокотоксического, радиационно-изолированного и радиационно-токсического загрязнения среды, выявила однотипные фактор-зависимые реакции на исследуемые техногенные воздействия, при этом наибольшие статистически достоверные ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) неблагоприятные изменения цитогенетического статуса

зарегистрированы у мальчиков и девочек, проживающих в г. Новозыбкове, что указывает на дополнительное влияние фоновых техногенно-токсических метаболитов на частоту цитогенетических нарушений у детей в условиях радиоактивного загрязнения среды вследствие аварии на ЧАЭС (табл. 2).

У детей высокотоксических, радиационно-изолированных и, особенно, экологически благополучных территорий неблагоприятных изменений в цитогенетическом статусе значительно меньше или вообще не выявлено (см. табл. 2).

Так, у мальчиков и девочек г. Новозыбкова число ДК, клеток с КП и КЛ достигает максимальных значений, будучи больше показателей экологически благополучных, высокотоксических и радиационно-изолированных территорий соответственно в 1,9, 1,3 и 1,4 раза, в 6,5, 2,0 и 2,8 раза и в 4,0, 2,7 и 3,1 раза (см. табл. 2). Частота КМЯ, клеток с ПРФ, КЯ > 2 , клеток с ДЯ и клеток с КР, как и в других районах, состав-

Таблица 2

Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7–9 лет, проживающих в условиях экологического благополучия, высокотоксического, радиационно-изолированного и радиационно-токсического загрязнения среды (на 1000 клеток, ‰)

Цитогенетический показатель, ‰	Экологическое благополучие (п.г.т. Клетня), n = 59	Высокое токсическое загрязнение (г. Дятьково), n = 69	Радиационно-изолированное загрязнение (с. Творишино), n = 42	Радиационно-токсическое загрязнение (г. Новозыбков), n = 72
Цитогенетические нарушения				
КМЯ	0,02 ± 0,02	1,47 ± 0,67	0,18 ± 0,08	0,04 ± 0,03
ПРФ	0,04 ± 0,03	0,31 ± 0,09	0,29 ± 0,12	0,13 ± 0,06
Показатели пролиферации				
ДК	6,84 ± 0,79	9,60 ± 1,20	9,37 ± 1,26	12,84 ± 1,37
КЯ > 2	0,15 ± 0,06	0,16 ± 0,06	0,08 ± 0,04	0,23 ± 0,09
ДЯ	0,04 ± 0,04	0,36 ± 0,09	0,76 ± 0,29	0,12 ± 0,07
Показатели деструкции ядра				
КП	1,79 ± 0,37	5,73 ± 1,05	4,19 ± 0,67	11,66 ± 2,21
КР	0,15 ± 0,08	0,27 ± 0,14	0,12 ± 0,06	0,74 ± 0,31
КЛ	7,08 ± 1,98	10,51 ± 1,39	9,19 ± 1,54	28,58 ± 3,21

Примечание. ДК – двуядерные клетки; КЯ > 2 – клетки с более чем с двумя ядрами; ДЯ – двойное ядро; КМЯ – клетки с микроядрами; ПРФ – протрузии разных форм; КП – кариопикноз; КР – кариорескис; КЛ – кариолизис. Различия статистически достоверны ($p < 0,001$) при сравнении частоты ДК в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково; клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове. Различия статистически достоверны ($p < 0,01$) при сравнении частоты клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково; клеток с КП в п.г.т. Клетня и с. Творишино. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$) при сравнении частоты КМЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, с. Творишино и г. Дятьково, г. Новозыбкове и г. Дятьково; клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и с. Творишино; ДК в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с КР в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове. Различия статистически недостоверны ($p > 0,05$) при сравнении частоты КМЯ в п.г.т. Клетня и с. Творишино, п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Новозыбкове и с. Творишино; клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове, г. Новозыбкове и с. Творишино; ДК в п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино; КЯ > 2 между всеми районами; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и с. Творишино; клеток с КП в г. Дятьково и с. Творишино; клеток с КР в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове; клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино.

ляет малые величины, достигая максимальных значений по КР. Регистрируются статистически достоверные различия частоты ДК в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове ($p < 0,001$), г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове ($p < 0,05$); клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове ($p < 0,001$); клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове ($p < 0,001$) (см. табл. 2).

Анализ частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей, проживающих в п.г.т. Клетня, показывает, что число

КМЯ, клеток с ПРФ, КЯ > 2, клеток с ДЯ и клеток с КР составляет от 0,0 до 0,15 ± 0,06 ‰, а число ДК, клеток с КП и КЛ меньше показателей г. Дятьково, с. Творишино и г. Новозыбкова соответственно в 1,4, 1,4 и 1,9 раза, в 3,2, 2,3 и 6,5 раза и в 1,5, 1,3 и 4,0 раза (см. табл. 2). Такие цитогенетические показатели указывают на экосистемную стабильность среды и ее экологическое благополучие. Регистрируются статистически достоверные различия частоты ДК в п.г.т. Клетня и г. Дятьково ($p < 0,05$); клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Дятьково ($p < 0,001$), п.г.т. Клетня и с. Творишино ($p < 0,01$) (см. табл. 2).

Аналогичный анализ показывает, что число КМЯ у мальчиков и девочек г. Дятьково

существенно выше, чем у детей п.г.т. Клетня, с. Творишино и г. Новозыбкове, что указывает на наибольшую частоту формирования КМЯ на высокотоксических территориях по сравнению с экологически благополучными, радиационно-изолированными и радиационно-токсическими территориями. Вместе с тем средний уровень МЯ в норме для населения составляет от 1 до 3 ‰, поэтому число КМЯ у детей г. Дятьково, равное $1,47 \pm 0,67$ ‰, не может рассматриваться как повышенное.

Число клеток с ПРФ, $KY > 2$, клеток с ДЯ и клеток с КР составляет от 0,0 до $0,36 \pm 0,09$ ‰, незначительно превышая показатели в п.г.т. Клетня, а число ДК, клеток с КП и КЛ больше показателей п.г.т. Клетня в 1,4, 3,2 и 1,5 раза, что указывает на негативное влияние токсико-химических веществ на цитогенетический статус детей (см. табл. 2). Регистрируются статистически достоверные различия частоты КМЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, с. Творишино и г. Дятьково, г. Новозыбкове и г. Дятьково ($p < 0,05$) (см. табл. 2).

Анализ частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей с. Творишино показывает, что число КМЯ, клеток с ПРФ, $KY > 2$, клеток с ДЯ и клеток с КР составляет малые величины, достигая максимальных значений по ДЯ, а число ДК, клеток с КП и КЛ статистически значимо не отличается от величин соответствующих показателей г. Дятьково, указывая на негативное влияние радиационно-изолированного загрязнения среды на цитогенетический статус мальчиков и девочек, а также на однонаправленный характер частоты цитогенетических нарушений на токсико-химические и радиоактивные метаболиты современной урбанизированной среды (см. табл. 2).

Следует отметить, что статистически достоверные различия в исследуемых цитогенетических показателях между мальчиками и девочками одних и тех же районов практически не регистрируются (кроме числа клеток с КП в г. Новозыбкове, которое составляет $15,00 \pm 4,05$ ‰ у мальчиков и $8,32 \pm 1,59$ ‰ у девочек, $p < 0,05$).

Полученные авторами результаты подтверждаются данными других исследователей, указывающих на дозозависимое подавление созревания клеток буккального эпителиа у детей с преобладанием КП, КР, КЛ и конденсированного хроматина в ядре как в условиях повышенного и высокого загрязнения атмосферного воздуха [18, 19], так и в аналогичных условиях радиоактивного загрязнения среды [20–22]. Тем не ме-

нее комбинированное влияние радиационного и токсико-химического загрязнения окружающей среды в реальной экологической ситуации, а в не лабораторных моделях, является нерешенной проблемой [9].

ВЫВОДЫ

1. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7–9 лет выявила наибольшие статистически достоверные ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) неблагоприятные изменения цитогенетического статуса у детей, проживающих в г. Новозыбкове, проявляющиеся повышенной частотой ДК, клеток с КП и КЛ, что указывает на дополнительное влияние фоновых техногенно-токсических метаболитов на частоту цитогенетических нарушений у детей в условиях радиоактивного загрязнения среды вследствие аварии на ЧАЭС.

2. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей 7–9 лет с. Творишино показывает, что число ДК, клеток с КП и КЛ статистически значимо не отличается от величин соответствующих показателей г. Дятьково, указывая на негативное влияние радиационно-изолированного загрязнения среды на цитогенетический статус мальчиков и девочек, а также на однонаправленный характер частоты цитогенетических нарушений в ответ на токсико-химические и радиоактивные метаболиты современной урбанизированной среды.

3. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей 7–9 лет п.г.т. Клетня показывает, что число ДК, клеток с КП и КЛ статистически достоверно меньше показателей г. Дятьково, с. Творишино и г. Новозыбкова, указывая на экосистемную стабильность среды и ее экологическое благополучие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Онищенко Г.Г.* Городская среда и здоровье человека // Гигиена и санитария. 2007. (5). 3–5.
2. *Onishchenko G.G.* The City environment and human health // Gigiena i sanitariya. 2007. (5). 3–5.
3. *Онищенко Г.Г.* Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации // Гигиена и санитария. 2008. (2). 4–15.

Onishchenko G.G. Topical issues of ensuring sanitary-epidemiological well-being of the population of the Russian Federation // *Gigiena i sanitariya*. 2008. (2). 4–15.

3. *Рахманин Ю.А., Иванов С.И., Новиков С.М. и др.* Актуальные проблемы комплексной гигиенической характеристики факторов городской среды и их воздействия на здоровье населения // *Гигиена и санитария*. 2007. (5). 5–8.

Rahmanin Yu.A., Ivanov S.I., Novikov S.M. et al. Actual problems of the complex hygienic characteristic of factors of city environment and their influence on population health // *Gigiena i sanitariya*. 2007. (5). 5–8.

4. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды в Российской Федерации в 2008 г. // Мин-во природ. ресурсов и экологии Рос. Федерации. М., 2009. 488 с.

The state report on a condition and preservation of environment in the Russian Federation in 2008 // The ministry of natural resources and ecology of the Russian Federation. M., 2009. 488 p.

5. Государственный доклад «Санитарно-эпидемиологическая обстановка в Брянской области в 2009 году» // Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Брянской области / *Гл. ред. П.А. Степаненко*. Брянск, 2010. 109 с.

The state report «Sanitary-and-epidemiologic conditions in the Bryansk region in 2009» // Management of federal service on supervision in sphere of protection of the rights of consumers and well-being of the person across the Bryansk region / *Ed.-in-chief P.A. Stepanenko*. Bryansk, 2010. 109 p.

6. Государственный доклад «О состоянии окружающей природной среды Брянской области в 2008 году» // Комитет природопользования и охраны окружающей среды, лицензирования отдельных видов деятельности Брянской области / *Сост. С.А. Ахременко, А.В. Городков, Г.В. Левкина и др.* Брянск, 2009. 306 с.

The state report «About the condition of surrounding environment of the Bryansk region in 2008» // Committee of wildlife management and preservation of the environment, licensing of separate kinds of activity of the Bryansk region / *Compliers S.A. Akhremenko, A.V. Gorodkov, G.V. Levkin*. Bryansk, 2009. 306 p.

7. *Ермилова Е.А.* Общая и первичная заболеваемость детского, подросткового и взрослого населения Брянской области и Российской Федерации с 1990 по 2009 г. // *Мат. медицинского информационно-аналитического центра при Департаменте здравоохранения Брянской области (рукопись)*. Брянск, 2010. 26 с.

Ermilova E.A. Overall and primary morbidity of children, adolescent, and adult populations of the

Bryansk region of the Russian Federation from 1990 to 2009 // *Materials of the medical information-analytical center of the Department of healthcare of the Bryansk region (manuscript)*. Bryansk, 2010. 26 p.

8. *Баранов А.А., Кучма В.Р., Сухарева Л.М.* Состояние здоровья современных детей и подростков и роль медико-социальных факторов в его формировании // *Вестн. РАМН*. 2009. (5). 6–10.

Baranov A.A., Kuchma V.R., Sukhareva L.M. Health condition of contemporary children and teenagers and the role of medical-social factors in its formation // *Vestn. RAMN*. 2009. (5). 6–11.

9. *Сухарева Л.М., Рапопорт И.К., Бережков Л.Ф. и др.* Особенности заболеваемости московских школьников за последние 50 лет // *Гигиена и санитария*. 2009. (2). 21–26.

Sukhareva L.M., Rapoport I.K. Berezhkov L.F. et al. Peculiarities of Moscow schoolchildren morbidity over the last 50 years // *Gigiena i sanitariya*. 2009. (2). 21–26.

10. *Корсаков А.В., Михалев В.П.* Комплексная эколого-гигиеническая оценка состояния окружающей среды как фактора риска для здоровья // *Проблемы региональной экологии*. 2010. (2). 172–181.

Korsakov A.V., Mikhalev V.P. Integrated ecological-hygienic assessment of the state of the environment as a risk factor for health // *Problemy regional'noy ekologii*. 2010. (2). 172–181.

11. *Онищенко Г.Г.* Радиологические и медицинские последствия аварии на Чернобыльской АЭС в Российской Федерации // *Гигиена и санитария*. 2007. (4). 6–13.

Onishchenko G.G. Radiological and health consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power plant in the Russian Federation // *Gigiena i sanitariya*. 2007. (4). 6–13.

12. *Михалев В.П., Адамович В.Л.* Гигиеническая оценка радиоактивной загрязненности окружающей среды // *Гигиена и санитария*. 1997. (3). 36–41.

Mikhalev V.P., Adamovich V.L. Hygienic assessment of radioactive contamination of the environment // *Gigiena i sanitariya*. 1997. (3). 36–41.

13. *Stich H.F., Stich V., Parida B.B.* Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals // *Cancer Lett*. 1981. 17. (2). 125–134.

14. *Степаненко П.А.* Выбросы наиболее распространенных загрязняющих атмосферу веществ, отходящих от стационарных источников в Брянской области в 1999–2009 гг. (согласно отчетам ТП-1 воздух) // *Мат. Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (рукопись)*. Брянск, 2010. 20 с.

Stepanenko P.A. Emission of the most widespread substances polluting atmosphere departing from stationary sources in the Bryansk region in 2000–2009 // Materials of Management of Federal Agency of supervision in sphere of protection of the rights of consumers and well-being of the person (manuscript). Bryansk, 2010. 20 p.

15. Муратова Н.А. Численность населения Брянской области с 2000 по 2009 г. // Мат. Федеральной службы государственной статистики по Брянской области (рукопись). Брянск, 2010. 15 с.

Muratova N.A. The population size of the Bryansk region from 2000 to 2009 // Materials of the Federal service of state statistics in the Bryansk region (manuscript). Bryansk, 2010. 15 p.

16. Средние накопленные за 1986–2001 гг. эффективные дозы облучения (включая дозы облучения щитовидной железы) жителей населенных пунктов Брянской, Калужской, Липецкой, Орловской, Рязанской и Тульской областей Российской Федерации, отнесенных к зонам радиоактивного загрязнения по постановлению Правительства Российской Федерации № 1582 от 18 декабря 1997 года «Об утверждении Перечня населенных пунктов, находящихся в границах зон радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС» (справочник) / Ред. Г.Я. Брукк. М.: МЗ РФ, 2002. 206 с. (издание официальное).

The average effective doses of irradiation saved up for 1986–2001 (including doses of an irradiation of a thyroid gland) inhabitants of settlements of the Bryansk, Kaluga, Lipetsk, Oryol, Ryazan and Tula regions of the Russian Federation carried to zones of radioactive pollution under the governmental order of the Russian Federation №1582 from December, 18th, 1997 «About the statement of the List of the settlements which are in borders of zones of radioactive pollution owing to accident on the Chernobyl atomic power station» (directory) / Ed. G.J. Brukk. M.: MZ RF, 2002. 206 p. (official edition).

17. Пивоваров Ю.П., Михалев В.П. Радиационная экология: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. М.: Академия, 2004. 240 с.

Pivovarov Yu.P., Mikhalev V.P. Radioactive ecology: Course book for students. M.: Akademiya, 2004. 240 p.

18. Алещенко А.В., Алчинова И.Б., Дмитриева О.С. и др. Использование цитогенетического метода исследования буккального эпителия и метода лазерной корреляционной спектрометрии для

мониторинга нарушений в организме детей // Цитология. 2007. 48. (2). 169–172.

Aleshchenko A.V., Alchinova I.B., Dmitriev O.S. et al. The application of a cytogenetic method of buccal epithelium and method of laser correlation spectrometry to the monitoring of abnormalities in children // Tsitologiya. 2007. 48. (2). 169–172.

19. Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Подольная М.А. Микроядерный тест эпителия щеки в комплексной оценке экологического благополучия детей в Москве // Гигиена и санитария. 2007. (6). 83–86.

Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Podolnaya M.A. The micronuclear test of epithelium of cheeks in a complex estimation of ecological well-being of children in Moscow // Gigiena i sanitariya. 2007. (6). 83–86.

20. Колубаева С.Н. Хромосомные aberrации, микроядра и апоптоз в лимфоцитах при радиационных воздействиях и других патологических состояниях: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Обнинск, 2010.

Kolyubaeva S.N. Chromosomal aberration, micronuclei and apoptosis in lymphocytes at radioactive influences and other pathological conditions: abstract of thesis ... doctor of biological sciences. Obninsk, 2010.

21. Кузьмина Н.С., Сусков И.И. Экспрессирование геномной нестабильности в лимфоцитах детей, проживающих в условиях длительного действия радиационного фактора // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. 42. (6). 735–739.

Kuzmina N.S., Suskov I.I. Expression of genomic instability in children lymphocytes living in conditions of long influence of the radiating factor // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2002. 42. (6). 735–739.

22. Севаньяев А.В., Михайлова Г.Ф., Потетняя О.И. и др. Результаты динамического цитогенетического наблюдения за детьми и подростками, проживающими на радиоактивно-загрязненных территориях после Чернобыльской аварии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2005. (1). 5–15.

Sevan'kaev A.V., Mikhailova G.F., Potetnyaya O.I. et al. Results of dynamic cytogenetic observation of children and the teenagers living in radioactive-polluted territories after Chernobyl failure // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2005. (1). 5–15.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF FREQUENCY OF CYTOGENETIC ABNORMALITIES IN BUCCAL EPITHELIUM OF CHILDREN IN THE TERRITORIES OF TOXIC, RADIOLOGICAL, AND COMBINED ENVIRONMENTAL POLLUTION

**Anton Vyacheslavovich KORSAKOV¹, Vladislav Pavlovich TROSHIN¹,
Vladimir Petrovich MIKHALEV², Andrey Vladimirovich ZHILIN¹,
Olga Vladimirovna ZHILINA¹, Dina Anvarovna VOROBEOVA¹,
Nina Sergeevna KOROTKOVA¹**

¹ *Bryansk Institute for Pathoanatomy,
241033, Bryansk, Stanke Dimitrov av., 86*

² *Bryansk State University n.a. acad. I.G. Petrovskiy
241036, Bryansk, Bezhitskaya str., 14*

The comparative estimation of frequency of cytogenetic abnormalities at children (under the micronuclear test in buccal epithelium) in ecologically unsuccessful territories of the Bryansk region with various density toxic (from 1.7 to 171.6 kg/foreheads/years on toxic substances), radioactive (from 10.7 to 504.3 kBc/m² on ¹³⁷Cs) and combined environmental pollution has been presented. Statistically significant adverse changes in the cytogenetic status of children under conditions of high-toxic, radiological-isolated and, especially, radiological-toxic environmental pollution have been revealed. These changes have been manifested in the raised frequency of the cells containing two nucleus and cells with karyopyknosis and karyolysis.

Key words: ecological trouble, mid-annual toxic loadings, density of radioactive pollution, buccal epithelium, cytogenetic abnormalities, micronuclear test.

*Korsakov A.V. – candidate of biological sciences, deputy director, e-mail: korsakov_anton@mail.ru
Troshin V.P. – doctor of medical sciences, director, honored doctor of the RF, e-mail: patanat32@gmail.com
Mikhalev V.P. – doctor of medical sciences, professor, e-mail: korsakov_anton@mail.ru
Zhilin A.V. – candidate of biological sciences, e-mail: patanat32@gmail.com
Zilina O.V. – candidate of biological sciences, e-mail: patanat32@gmail.com
Vorobeveva D.A. – biologist, e-mail: patanat32@gmail.com
Korotkova N.S. – head of the department, e-mail: patanat32@gmail.com*

СОДЕРЖАНИЕ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ПОДАГРОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

**Наталья Николаевна КУШНАРЕНКО, Анатолий Васильевич ГОВОРИН,
Олеся Анатольевна ЩЕРБАКОВА**

*ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ
672090, г. Чита, ул. Горького, 39а*

Изучено содержание неэтерифицированных жирных кислот и адениловых нуклеотидов у пациентов с первичной подагрой в зависимости от наличия артериальной гипертензии. Выявлены увеличение содержания неэтерифицированных жирных кислот в плазме крови и сдвиг в системе адениловых нуклеотидов у всех обследованных больных. Наиболее выраженные нарушения субстратного и энергетического метаболизма отмечены у пациентов с первичной подагрой, страдающих артериальной гипертензией.

Ключевые слова: подагра, неэтерифицированные жирные кислоты, адениловые нуклеотиды, артериальная гипертензия.

Результатами многочисленных клинических исследований показано, что ведущей причиной смерти больных подагрой являются кардиоваскулярные нарушения [1]. Важнейшим фактором, определяющим риск развития сердечно-сосудистых осложнений, служит артериальная гипертензия (АГ) [2]. Одним из патогенетических механизмов развития АГ у больных подагрой может быть нарушение жирно-кислотного статуса. Повышенные концентрации неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК) оказывают многоплановое неблагоприятное воздействие на ряд метаболических процессов: разобщение окислительного фосфорилирования, угнетение активности митохондриальных ферментов, нарушение трансдукции инсулинового сигнала [3], ингибирующего перенос АТФ [4]. Энергетический дефицит может вызывать ограничение транспортно-трофического обеспечения сосудистой стенки, итогом которого является развитие АГ [5]. Между тем исследований, посвященных изучению содержания НЭЖК, состояния системы адениловых нуклеотидов в крови у больных первичной подагрой в зависимости от наличия АГ, в литературе нет.

В связи с этим целью нашего исследования было изучение содержания НЭЖК и макроэргических фосфатов в крови у больных первичной подагрой в зависимости от наличия артериальной гипертензии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В настоящей работе проанализированы результаты обследования 29 здоровых мужчин (контрольная группа) и 117 больных первичной подагрой, сопоставимых по возрасту. Диагноз подагры выставлен на основании классификационных критериев по Wallace S.L. et al. [6]. Критерием исключения явилось наличие вторичной подагры, острого подагрического артрита, ишемической болезни сердца, сахарного диабета, гипертонической болезни, острых воспалительных и хронических заболеваний в стадию обострения, прием нестероидных противовоспалительных средств и аллопуринола. Всем пациентам проводилось тщательное общеклиническое, лабораторное и инструментальное обследование, применялась визуальная аналоговая шкала боли (ВАШ). Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) осуществля-

Кушнарeнко Н.Н. – к.м.н., зав. кафедрой внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, e-mail: natnikkush@rambler.ru

*Говорин А.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой факультетской терапии, ректор
e-mail: pochta@medacadem.chita.ru*

Щербакова О.А. – ассистент кафедры внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, e-mail: zhenia5@rambler.ru

ли с помощью аппарата «АВРМ» («Meditech», Венгрия) с использованием программного обеспечения Medibase. Средняя длительность мониторинга составила $23,3 \pm 1,03$ ч, интервал между измерениями артериального давления (АД) – 15 мин днем и 30 мин ночью. Время сна указывалось индивидуально. Оценку данных, полученных при СМАД, проводили согласно рекомендациям Канадского общества по артериальной гипертензии [7]. Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови определяли с помощью ферментативного колориметрического теста с использованием реакции с уриказой («HUMAN», Германия). В плазме крови измеряли общий уровень НЭЖК с использованием колориметрического метода определения медных солей [8]. Концентрацию глицерола в сыворотке крови определяли методом ферментативного фотометрического теста с глицерол-3-фосфатоксидазой [9]. Эритроциты крови служили объектом исследования содержания АТФ [10], АДФ и АМФ [11]. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Перед проведением расчетов все вариационные ряды тестировались на нормальность при помощи метода оценки коэффициентов асимметрии и эксцесса. Распределение практически всех вариационных рядов не подчинялось критериям нормальности, поэтому в дальнейшем в анализе применялись методы непараметрической статистики. Достоверность различий между группами оценивали с помощью критерия Манна – Уитни, статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$. Корреляционный анализ выполнен с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании показателей СМАД были выделены пациенты, страдающие первичной по-

дагрой с нормальным АД (18 мужчин, 1-я группа) и в сочетании с АГ (99 мужчин, 2-я группа). Больные первичной подагрой с АГ отличались более длительным течением заболевания, имели более высокий уровень мочевой кислоты сыворотки крови по сравнению с больными подагрой с нормальным АД. Количество вовлеченных в воспалительный процесс суставов у пациентов с подагрой с АГ превышало величину аналогичного показателя у больных подагрой с нормальным АД. Мужчины с подагрой с наличием АГ в течение последнего года наблюдения чаще демонстрировали атаки подагрического артрита и выраженность болевого синдрома, оцениваемого по шкале ВАШ, по сравнению с нормотониками (табл. 1).

У больных первичной подагрой было обнаружено повышение относительно контроля уровня НЭЖК в сыворотке крови (табл. 2), которое у пациентов 2-й группы составило 158 %, 1-й – 128 %. Уровень глицерола в крови был наиболее низким у мужчин с первичной подагрой с наличием АГ, отличаясь от аналогичного параметра лиц контрольной группы и пациентов без АГ на 41 и 24 % соответственно. Максимальное значение соотношения концентраций НЭЖК и глицерола отмечено у больных 2-й группы, у которых оно в 2,9 раза превышало показатель контроля и в 1,8 раза – коэффициент мужчин 1-й группы (см. табл. 2).

Концентрация АТФ и АДФ в эритроцитах всех больных подагрой была ниже, чем у лиц контрольной группы (см. табл. 2). Так, у мужчин 1-й и 2-й групп содержание АТФ было соответственно в 1,3 и 2,1 раза меньше, чем в контроле. В свою очередь, уровень АТФ у больных с наличием АГ был снижен на 37 % по сравнению с группой нормотоников. Концентрация АДФ в эритроцитах пациентов с подагрой 1-й и 2-й групп также была меньше, чем у лиц контрольной группы, на 16 и 23 % соответственно, при этом нормо- и гипертоники статистически зна-

Таблица 1

Клиническая характеристика больных первичной подагрой (медиана [25-й; 75-й процентиля])

Показатель	Нормотоники (n = 18)	Пациенты с АГ (n = 99)
Длительность заболевания, лет	3,0 [2,0; 4,0]	8,0** [5,0; 15,0]
Количество пораженных суставов	2,0 [1,0; 2,0]	5,0** [2,0; 7,0]
Количество атак в год	2,0 [0,5; 2,0]	3,0** [2,0; 7,0]
Содержание мочевой кислоты, мкмоль/л	476,0 [426,0; 514,0]	522,0** [464,0; 610,0]
Интенсивность боли по ВАШ, мм	38,5 [33,5; 47,0]	44,5** [37,0; 55,0]

** Здесь и в табл. 2 отличие от соответствующего значения в группе нормотоников статистически значимо при $p < 0,01$.

Содержание НЭЖК и адениловых нуклеотидов в крови больных подагрой в зависимости от наличия АГ (медиана [25-й; 75-й процентили])

Показатель	Контрольная группа (n = 29)	Больные подагрой	
		1-я группа, нормотоники (n = 18)	2-я группа, пациенты с АГ (n = 99)
НЭЖК, мкмоль/л	456,27 [409,35; 488,78]	560,26* [540,63; 576,34]	718,57*,** [608,82; 880,03]
Глицерол, мкг/дл	3,44 [2,89; 3,96]	2,67* [2,23; 3,17]	2,02*,** [1,79; 2,23]
НЭЖК/глицерол, усл. ед.	131,59 [119,14; 149,28]	208,71* [174,30; 267,35]	374,60*,** [266,81; 449,94]
АТФ, ммоль/л	1,88 [1,72; 1,96]	1,45* [1,33; 1,54]	0,91*,** [0,71; 0,99]
АДФ, ммоль/л	1,16 [1,04; 1,24]	0,98* [0,87; 1,14]	0,88*,** [0,78; 0,95]
АМФ, ммоль/л	0,94 [0,76; 0,97]	1,21* [0,88; 1,26]	1,99*,** [1,59; 2,33]
НЭЖК/АТФ, усл. ед.	237,04 [216,35; 273,26]	389,90* [351,42; 459,08]	880,03*,** [652,19; 984,08]

* Отличие от соответствующего значения в контрольной группе статистически значимо при $p < 0,05$.

чимо различались по величине данного показателя. Содержание АМФ в эритроцитах крови у больных подагрой было выше, чем у здоровых лиц. Так, уровень АМФ у больных подагрой с АГ и без АГ превышал показатель контрольной группы на 29 и 112 % соответственно, при этом первые статистически значимо отличались от вторых. Коэффициент НЭЖК/АТФ был выше в 3,7 раза у пациентов с АГ и в 1,6 раза у мужчин без АГ, чем у здоровых лиц; выявлено увеличение показателя у пациентов 2-й группы в 2,3 раза по сравнению с больными без АГ.

Для установления патогенетических взаимосвязей между содержанием НЭЖК, макроэргических фосфатов и мочевой кислоты в сыворотке крови у больных первичной подагрой был проведен корреляционный анализ. Установлено, что ряд показателей субстратного и энергетического метаболизма миокарда (содержание НЭЖК, АМФ, коэффициенты НЭЖК/глицерол и НЭЖК/АТФ) положительно связаны с концентрацией мочевой кислоты (коэффициенты корреляции от 0,42 до 0,58, $p < 0,05$), в то время как между уровнем АТФ, АДФ и глицерола, с одной стороны, и урикемией, с другой, выявлены отрицательные корреляции (коэффициенты корреляции от $-0,38$ до $-0,46$, $p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациентов с первичной подагрой зафиксированы существенные сдвиги в состоянии субстратного и энергетического метаболизма независимо от наличия или отсутствия АГ. Максимальные нарушения выявлены у больных первичной подагрой с наличием АГ. Проведенный корреляционный анализ подтвердил роль гиперурикемии в разбалансировке субстратного и энергетического метаболизма у мужчин с первичной подагрой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fang J., Alderman M. Serum uric acid and cardiovascular mortality: The NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971–1992. National Health and Nutrition Examination Survey // JAMA. 2000. 238. 2404–2410.
2. Маркелова Е.И., Барскова В.Г., Ильина А.Е., Насонов Е.Л. Значение суточного мониторинга артериального давления в диагностике артериальной гипертонии у больных подагрой // Научно-практическая ревматология. 2010. (1). 61–66.
3. Markelova E.I., Barskova V.G., Ilina A.E., Nasonov E.L. Significance of blood pressure monitoring to 24 hours in diagnostics of hypertension in patients with gout // Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2010. (1). 61–66.

3. Boden G., Chen X., Capulong E., Mozzoli M. Effects of free fatty acids on gluconeogenesis and autoregulation of glucose production in type 2 diabetes // *Diabetes*. 2001. 50. (4). 810–816.
4. Цветкова М.В., Хирманов В.Н., Зыбина Н.Н. Роль неэтерифицированных жирных кислот в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний // *Артериальная гипертензия*. 2010. 16. (1). 93–103.
Tsvetkova M.V., Khirmanov V.N., Zybina N.N. Significance of non-etherified fatty acids in pathogenesis of cardiovascular diseases // *Arterial'naya gipertenziya*. 2010. 16. (1). 93–103.
5. Говорин А.В. Некоронарогенные поражения миокарда. Новосибирск, 2010. 230 с.
Govorin A.V. Non-coronarogenic myocardial damages. Novosibirsk, 2010. 230 p.
6. Wallace S.L., Robinson H., Masi A.T. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout // *Arthritis Rheum*. 1977. 20. 895–900.
7. Myers M.G., Haynes R.B., Rabkin S.W. Canadian hypertension society guidelines for ambulatory blood pressure monitoring // *Am. J. Hypertens*. 1999. 12. 1149–1157.
8. Прохоров М.Ю., Тиунов М.П., Шакалис Д.А. Простой колориметрический микрометод определения свободных жирных кислот // *Лаб. дело*. 1977. (9). 535–536.
Prokhorov M.Yu., Tiunov M.P., Shakalis D.A. Simple calorimetric method of free fatty acids evaluation // *Lab. delo*. 1977. (9). 535–536.
9. Tietz N.B. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1987. 809–861.
10. Явербаум П.М., Издебская Л.И. Методика определения АТФ в эритроцитах // *Лаб. дело*. 1986. (1). 32–34.
Yaverbaum P.M., Izdebskaya L.I. Method of ATP in erythrocytes assessment // *Lab. delo*. 1986. (1). 32–34.
11. Bergmeyer H.U. *Methods of enzymatic analysis*. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie; N.Y.: Acad. Press, 1965. 1963 p.

CORRELATION BETWEEN ARTERIAL HYPERTENSION AND NON-ETHERIFIED FATTY ACIDS AND ADENINE NUCLEOTIDES LEVELS IN BLOOD OF PATIENTS WITH PRIMARY GOUT

Natalia Nikolaevna KUSHNARENKO, Anatoly Vasilievich GOVORIN,
Olesya Anatolievna SHCHERBAKOVA

Chita State Medical Academy of Roszdraw
672090, Chita, Gorky str., 39a

The correlation between arterial hypertension and non-etherified fatty acids and adenylic nucleotides levels has been studied in patients with primary gout. Elevated non-etherified fatty acids levels in blood plasma and changes in ATP-ADP-AMP system have been revealed in all examined subjects. The most evident substrate and energy metabolism disturbances have been determined in patients with primary gout associated with arterial hypertension.

Key words: gout, non-etherified fatty acids, adenine nucleotides, arterial hypertension.

Kushnarenko N.N. – candidate of medical sciences, head of the chair for internal diseases of pediatric and stomatology faculty, e-mail: natnikkush@rambler.ru

Govorin A.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for departmental therapy, rector, e-mail: pochta@medacadem.chita.ru

Shcherbakova O.A. – assistant of the chair for internal diseases of pediatric and stomatology faculty, e-mail: zhenia5@rambler.ru

СТРУКТУРА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ СУСТАВНОГО ХРЯЦА У БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ: ВЛИЯНИЕ ТОПОГРАФИИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Татьяна Васильевна РУСОВА, Владислав Сергеевич БАИТОВ

ФГБУ Новосибирский НИИ ортопедии и травматологии Минздрава РФ
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Исследовали качественный и количественный состав гликозаминогликанов (ГАГ) хряща в разных топографических зонах коленного сустава больных остеоартрозом III стадии (11 человек в возрасте 65–75 лет). Общее количество ГАГ низкое в зоне дегенерированного хряща, высокое – в зонах интактного хряща и остеофитов. В дегенерированном хряще преобладает кератансульфат, гетерогенный по размеру цепей. Отношение содержания хондроитинсульфата и кератансульфата в хряще остеофитов высокое, свойственное новообразованному хрящу. В дегенерированном хряще очень низкое соотношение концентраций сульфатированных гликозаминогликанов и уроновых кислот, что предполагает нарушение сульфатирования цепей ГАГ. В топографически разных зонах дегенерированного хряща и хряща с низкой биомеханической нагрузкой накапливаются продукты гликирования белков. В коленном суставе пожилых пациентов с остеоартрозом в зонах дегенерированного и интактного хряща обмен и структура ГАГ существенно различаются, что можно объяснить изменением фенотипа хондроцитов. Биомеханическая нагрузка провоцирует развитие дегенеративного процесса.

Ключевые слова: гликозаминогликаны, хрящ, коленный сустав, остеоартроз.

Остеоартроз – дегенеративное заболевание коленного сустава с различной степенью тяжести, которое помимо разрушения и перерождения ткани включает формирование новых хрящей, покрывающих растущие по периферии сустава остеофиты.

Нормальный суставной хрящ обеспечивает гладкую опорную и амортизирующую поверхность для подвижных концов длинных трубчатых костей. Тканеспецифичность хряща определяют молекулы протеогликанов (ПГ) [1, 2], которые заключены в фибриллярную сеть коллагена. Макромолекулы ПГ состоят из полианионных цепей полисахаридов (гликозаминогликанов, ГАГ) – хондроитинсульфатов (ХС) и кератансульфата (КС), ковалентно связанных с центральной нитью белка (кором). Высокий отрицательный заряд ГАГ создает во внеклеточном матриксе большое электрическое поле, которое регулирует потоки интерстициальной жидкости, активность сигнальных веществ (цитокинов, факторов роста), связывая их во внеклеточном матриксе и определяя их взаимодействие с клеткой во времени и пространстве [1, 3, 4].

Известно, что при развитии остеоартроза уже на начальных стадиях снижается общее со-

держание ГАГ, впоследствии меняется соотношение разных видов ХС – увеличивается содержание ХС, содержащих сульфатную группу у 6-го углеродного атома кольца галактозы, в отличие от хондроитин-4-сульфата [2, 4]. Но пока структура хряща в разных локальных зонах коленного сустава в условиях прогрессирующих дегенеративных изменений исследована мало. Поэтому сравнение качественных и количественных изменений ГАГ в разных топографических зонах коленного сустава, испытывающих разную нагрузку, и с разными проявлениями выраженности дегенеративного процесса было целью данного исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы хряща из разных топографических зон коленного сустава (рис. 1) больных идиопатическим остеоартрозом III степени с варусной деформацией (11 человек в возрасте от 65 до 75 лет), забранные во время операции эндопротезирования коленного сустава: зона 1 – задний край внутреннего мыщелка бедра; зона 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости; зона 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости; зона 4 – поверхность

Русова Т.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,
e-mail: galarusova@gmail.ru

Байтов В.С. – старший научный сотрудник отделения эндопротезирования, e-mail: VBaitov@1.st.ru

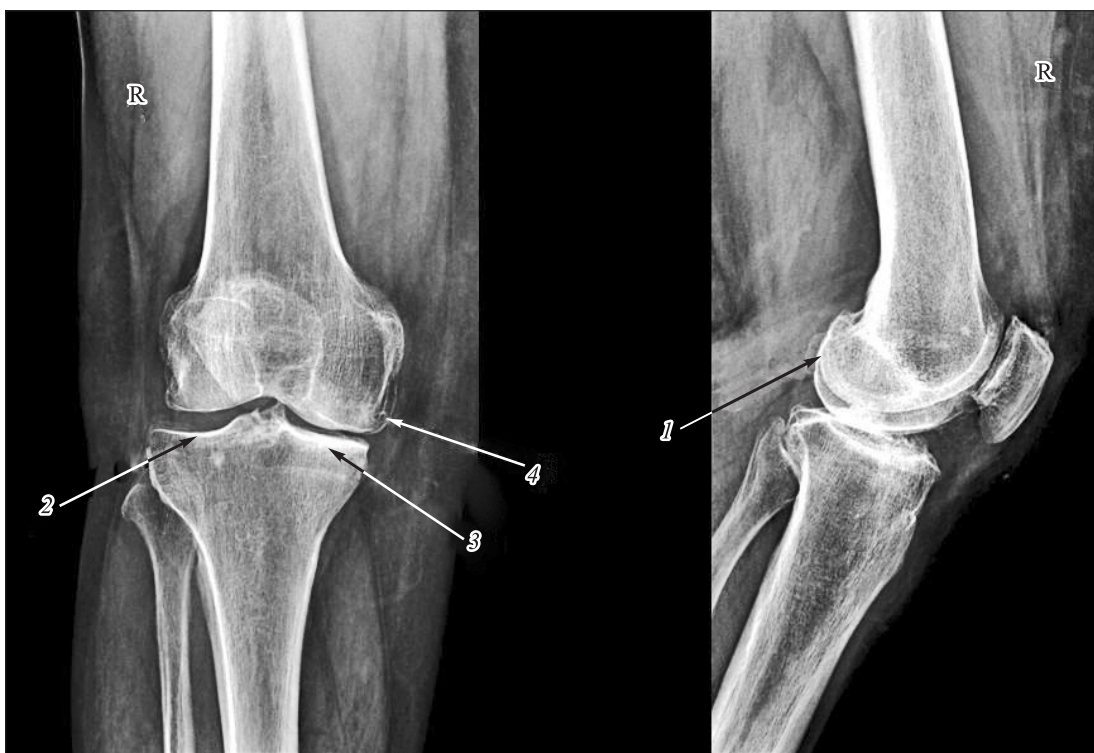


Рис. 1. Схематическое изображение топографических зон коленного сустава.

1 – задний край внутреннего мыщелка бедра (интактный хрящ); 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); 4 – поверхность остеофитов

остеофитов. Результаты сравнивали с образцами хряща с мыщелков бедра без признаков остеоартроза, взятых посмертно (45, 50 лет).

Содержание воды в ткани хряща определяли высушиванием до постоянного веса и выражали в процентах от первоначального веса ткани. Гликозаминогликаны выделяли двумя методами.

1. После обработки хряща раствором папаина с добавлением 0,01 М ЭДТА и 0,005 М цистеина в буфере 0,2 М ацетата натрия, рН 5,8 (60 °С, 18 часов, 0,2 мг папаина на 1 г сырой ткани) выделяли общие ГАГ хряща с последующей очисткой ионообменной хроматографией на сефадексе ДЕАЕ А-25 [6].

2. Диссоциативным экстрагированием 4 М гуанидинхлоридом в 50 мМ ацетатном буфере рН 5,8 в присутствии ингибиторов выделяли протеогликаны. ГАГ отделяли от белкового ко́ра обработкой раствора протеогликанов боргидридом натрия (0,15 М NaBH_4 /10М NaOH в соотношении 10:1 при 60 °С 4 часа), очищали хроматографией на ионообменной смоле ДЕАЕ А-25.

Количество ГАГ определяли по содержанию химических структурных единиц: уоновых кислот (общепринятый метод с карбазолом),

сульфатных групп с 1,9-диметилметиленовым голубым (стандарт – ХС-С) и гексоз (антроновый метод, стандарт – галактоза). Содержание рассчитывали в микрограммах стандартного вещества на миллиграмм сухого веса ткани. Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Отдельные виды ГАГ идентифицировали с помощью горизонтального электрофореза в 1%-м геле агарозы толщиной 2 мм на пластине 5 × 10 см в 50 мМ буфере ацетата бария, рН 8,0 (4 °С, 1 час, 10 В/см) и после обработки специфическими ферментами. Для этого образцы ГАГ предварительно обрабатывали хондроитин-АС- и хондроитин-АВС-лиазами (20 мМ трис-буфер, рН 7,5), кератаназой (20 мМ трис-буфер, рН 7,4), гепаран-1-лиазой (50 мМ ацетат натрия, 50 мМ ацетат кальция, рН 7,0) при 37 °С в течение 18 часов. После окончания электрофореза гель окрашивали 0,1%-м раствором азура А в смеси 10 мМ формиата натрия и 10 мМ хлорис-

того магния. Избыток красителя отмывали 10 мМ раствором ацетата натрия, рН 5,8. В качестве маркеров использовали хондроитинсульфаты А, В, С, кератансульфат и гепарансульфат. Природу ГАГ определяли по исчезновению полосы или пятна в геле в зависимости от используемого фермента [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На примере одного коленного сустава провели сравнительное исследование содержания общего количества ГАГ в хряще, находящегося в разных состояниях – интактном, в стадии разрушения и новообразования и испытывающего разную биомеханическую нагрузку (см. рис. 1). В зонах 1 и 2 находится зрелый нефиброзированный бесцветный суставной хрящ, в зоне 3 – тонкая полоска истонченного хряща, расположенного в непосредственной близости от места полного разрушения хряща. Хрящ остеоцитов бледно-розовый, новообразованный, гиалиновый. В зоне 1 хрящ практически не подвергается биомеханической нагрузке, хрящ зоны 2 вследствие варусной деформации нагружается мало. Сохранившийся хрящ зоны 3 испытывает максимальную нагрузку. Учитывая разнообразие состава ГАГ в разных зонах, их тестировали несколькими аналитическими методами. Так, уроновые кислоты присутствуют в структуре хондроитинсульфатов (ХС-АС), гексозы (галактоза) – в структуре кератансульфата (КС) и нейтральных полисахаридов. Сульфатные группы присутствуют практически во всех видах ГАГ и позволяют определить их общее количество (сульфатированные ГАГ, Сгаг). Полученные данные количественного анализа разных химических составляющих ГАГ в ткани хряща представлены в табл. 1.

Содержание воды в разных зонах хряща варьирует. В остеоцитах оно не отличается от

нормальных значений, в зоне максимального разрушения хряща – низкое. В зонах 1 и 2 (интактный и мало нагружаемый хрящ) значения совпадающие, но ниже нормального уровня, что отражает влияние возраста и биомеханической нагрузки на хрящ. В зоне 2 высокое содержание воды сохраняется на фоне явной тенденции уменьшения концентрации ГАГ, что может быть связано с изменением структуры сети коллагена в зоне 2 под влиянием биомеханических нагрузок. В других зонах (1, 3, 4) уровень сохраняемой воды в ткани прямо пропорционален содержанию ГАГ.

Содержание Сгаг во всех зонах хряща снижено относительно контроля и различно в отдельных зонах. В нативном хряще (зона 1) и остеоцитах оно практически одинаково, в зоне 3 (дегенерированный хрящ) достоверно снижено (в 2,8 раза). В зоне 2 (мало нагружаемом хряще) существует тенденция к уменьшению относительно уровня нативного хряща (зона 1). Уроновых кислот (УК) в нативном хряще меньше, чем в остальных топографических зонах, их концентрация сравнима с уровнем в контрольной группе и остеоцитах. Известно, что высокое содержание ХС характерно для гиалинового хряща и молодых, растущих тканей [4, 5, 8]. В нашем исследовании даже у людей пожилого возраста с высокой стадией остеоартроза существуют участки ткани, соответствующие по структуре ГАГ нормальному гиалиновому хрящу, а хондроциты в отдельных зонах обладают синтетической активностью на достаточно высоком уровне для формирования хряща *de novo*.

Концентрация гексоз во всех топографических зонах (кроме остеоцитов) значительно выше, чем в контроле, особенно в мало нагружаемом (зона 2) и дегенерированном хряще (зона 3). При этом основное количество гексоз не связа-

Таблица 1

Содержание компонентов ГАГ, выделенных обработкой папаином, в хрящах разных топографических зон (мкг/мг сухой ткани) (n = 11)

Компонент ГАГ	Зона 1	Зона 2	Зона 3	Остеоцит	Контроль
Вода, %	70,6 ± 1,51	69,1 ± 3,87	58,8 ± 2,89*	77,0 ± 2,13	75,4 ± 3,06
Сгаг	55,2 ± 6,28	45,6 ± 5,21	19,4 ± 1,12*	58,5 ± 4,48	68,6 ± 8,14
УК	33,1 ± 3,06	22,4 ± 2,12*	23,4 ± 1,79*	28,2 ± 2,97	32,4 ± 5,05
Гексозы	65,4 ± 6,24	124,5 ± 17,6*	196,8 ± 10,2*	10,8 ± 0,98*	27,7 ± 7,84

Примечание. Здесь и в табл. 2 зона 1 – задний край внутреннего мышелка бедра (интактный хрящ); зона 2 – латеральный мышелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); зона 3 – медиальный мышелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); контроль – контрольный интактный хрящ; * – отличие от величины соответствующего показателя в контроле статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2

Содержание компонентов ГАГ, выделенных диссоциативным экстрагированием, в хрящах разных топографических зон (мкг/мг сухой ткани)

Компонент ГАГ	Зона 1	Зона 2	Зона 3	Остеофит	Контроль
Сгаг	42,1 ± 3,25*	26,5 ± 3,01*	4,4 ± 0,56*	33,0 ± 2,01	51,2 ± 4,53
УК	18,5 ± 2,11	9,8 ± 1,02*	6,2 ± 0,56*	15,1 ± 0,98	23,5 ± 2,55
Галактоза	12,3 ± 0,65	6,5 ± 0,33*	10,2 ± 1,75	5,7 ± 0,12*	11,5 ± 0,89
Отношение содержания уроновых кислот и галактозы	1,50	1,51	0,60	2,76	2,04

но с ГАГ, что подтверждается ионно-обменной хроматографией ГАГ – до 80 % гексоз элюируется водой. Эти гексозы могут накапливаться вследствие активации процессов гликирования белков, который может быть инициирован неадекватной биомеханической нагрузкой [9, 10]. Известно, что такие нагрузки в начале процесса дегенерации повреждают ткань матрикса хряща или непосредственно, или опосредовано, через обменные процессы в хондроцитах, стимулируя экспрессию в клетках металлопротеаз, активируя производство свободных радикалов и окиси азота, снижая биосинтез ПГ и коллагена [4, 9, 10]. В результате из-за потери ПГ и разрушения коллагена сети снижается жесткость хряща и сопротивление ткани к сжимающим нагрузкам [1, 10]. Потеря ГАГ стимулирует гибель клеток в результате некроза, что впоследствии ускоряет процесс апоптоза [1, 8, 9]. В хондроцитах происходит перестройка метаболизма с последующим снижением восприимчивости к факторам роста, подавлению функции митохондрий и способности репарации ДНК, т. е. к «старению» клеток. Изменение свойств внеклеточного матрикса приводит к снижению способности ткани противостоять биомеханическим нагрузкам и/или к ее восстановлению после небольших травм, что запускает цепную реакцию генерации повреждений и дальнейшее прогрессирование болезни [1, 4, 10].

Следовательно, неадекватная биомеханическая нагрузка провоцирует целую цепь биохимических реакций, стимулируя изменение структуры матрикса хряща. Вероятно, накопление гексоз является относительно ранним проявлением метаболических перестроек в ткани.

Структура внеклеточного матрикса определяется наличием разнообразных ПГ, несущих разные виды ГАГ, отличающиеся размерами и количеством сульфатных групп [3, 4]. Поэтому представляют интерес результаты анализа ГАГ, принадлежащих основному пулу ПГ, находящихся во внеклеточном матриксе и выделяемых диссоциативным экстрагированием (табл. 2).

Сравнивая результаты, представленные в таблицах 1 и 2, надо отметить одинаковую тенденцию изменений содержания общих ГАГ и ГАГ, выделенных из ПГ, из разных зон коленного сустава и относительно контроля. Разница в количестве структурных компонентов ГАГ в двух таблицах характеризует значимые физиологические процессы в ткани с участием ПГ/ГАГ. Если из нативного и хряща контрольной группы диссоциирующими растворами можно выделить почти 75 % Сгаг, из зоны мало нагружаемого хряща – около 60 %, то из дегенерированного хряща – только 25 % общего количества ГАГ. Следовательно, функционирование ткани в условиях больших нагрузок и дегенерации стимулирует не только потерю ГАГ, но и формирование жесткого коллагенового каркаса. Функциональная морфология хряща тесно связано с количеством ГАГ. Жесткая сеть коллагена ограничивает экспансивный рост ткани при условии повышения содержания ГАГ, изменяя их содержание в хряще в экспериментальных условиях, можно менять фенотип роста хряща [8, 10], добиваясь либо экспансивного, либо интенсивного роста ткани, что можно использовать в клинической практике для регуляции его восстановления [11].

Кроме того, в дегенерированном хряще (зона 3) существенно меняются свойства цепей ГАГ – в них содержится меньше сульфатных групп. Об этом можно судить по снижению соотношения Сгаг/УК (см. табл. 2): если в норме и других топографических зонах оно ≥ 2 , то в дегенерированном хряще < 1 . Этот факт может отражать нарушение одного из важных посттрансляционных процессов формирования ПГ в момент элонгации цепей ГАГ – снижения присоединения остатков сульфата к цепям ГАГ. Судя по сообщениям из других лабораторий, подобные нарушения затрагивают преимущественно цепи ХС-АС [4, 10]. Фундаментальные биологические функции сульфатированных ГАГ как структурных элементов ПГ, расположенных во внеклеточном матриксе и на поверхности

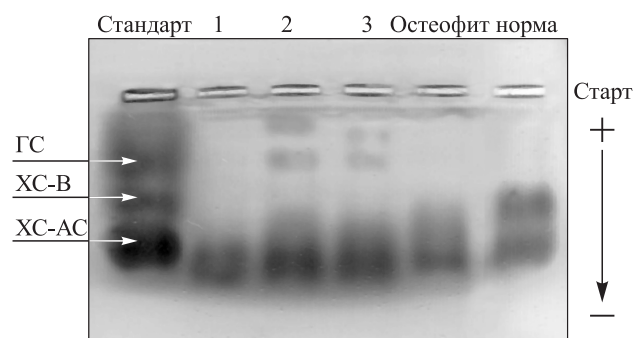


Рис. 2. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, рН 8,0). Здесь и на рис. 3, 4 стандарт – смесь хондроитинсульфатов А, В, С и гепарансульфата (ГС). 1 – задний край внутреннего мыщелка бедра (интактный хрящ); 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); остеофит; контрольный интактный хрящ

клеток, связаны с рецепторным аппаратом клеток и обеспечивают прохождение сигналов факторов роста и хемокинов [1, 8, 10]. Кроме того, такие ГАГ могут ингибировать активность протеолитических ферментов и других факторов, способствующих повреждению хрящевой ткани и смерти ХЦ. Снижение сульфатирования ГАГ изменяет структуру ПГ и их свойства, что приводит к нарушению нормальной физиологии ткани. Но сведения об этом процессе в хряще при дегенерации противоречивы: в некоторых исследованиях не обнаружили уменьшения сульфатирования ГАГ [12], в других, напротив, подтвердили их существование [13] и даже обосновано предполагают, что дефицит сульфатирования ГАГ является одной из причин развития остеоартроза у животных и человека, оказывая самое разнообразное влияние на обменные процессы в ткани.

Такая противоречивость связана с тем, что разные исследователи изучали метаболические процессы на разных этапах развития процесса дегенерации. На ранних этапах изменения хряща минимальны и отличаются от нормальных повышенной интенсивностью катаболизма и анаболизма. Но с развитием патологического процесса происходят глубокие изменения метаболизма в самих хондроцитах – меняется спектр синтезируемых ПГ/ГАГ и, в частности, снижается активность ферментов, сопряженных с посттрансляционным формированием сульфатированных ГАГ. Наши результаты указывают на такую возможность, демонстрируя разное качество ГАГ в разных топографических зонах.

Присутствие низкосульфатированных ГАГ, которые легко разрушаются в ткани, необходимо, поскольку такой хондроитин незаменим в морфогенезе и делении клеток, оказывая стимулирующее действие на митотический потенциал хондроцитов [14].

Содержание галактозы в ГАГ связано с уровнем КС, количество которого в хряще увеличивается с возрастом и в процессе дегенерации [2, 4, 5, 14]. Исходя из соотношения галактозы и УК, классического компонента ХС (см. табл. 2), можно предположить, что в хрящах разных топографических зон и контрольной группы преобладают ХС, тогда как в дегенерированном хряще может находиться значительное количество КС. В остеофитах гексозы присутствуют в следовых количествах, что характерно для молодого новообразованного хряща, в котором преобладают ХС.

Для точной идентификации типов ГАГ в хрящах разных топографических зон мы исследовали их качественный состав электрофорезом в геле агарозы до и после обработки специфическими ферментами (рис. 2), как указано ранее. ГАГ (ХС и ДС) хрящей топографических зон 1, 2 и 3 дальше уходят от старта и хуже разделяются, чем ГАГ контрольных образцов, остеофитов и стандартов (см. рис. 2). Это можно объяснить укорочением их цепей и снижением плотности заряда в этих цепях. Во всех хрящах содержатся ХС-АС и ДС в значительном количестве. В хрящах зон 2 и 3 хорошо видны полосы возле старта. Это ГАГ, имеющие либо более значительную длину цепей, чем ХС/ДС, либо иную величину заряда. Их природу можно определить только после обработки специфическими ферментами. Удаление ХС-АС (рис. 3) выявляет полосы ДС (ХС-В), которые в хрящах зон 2 и 3 дальше уходят от старта, чем ДС из

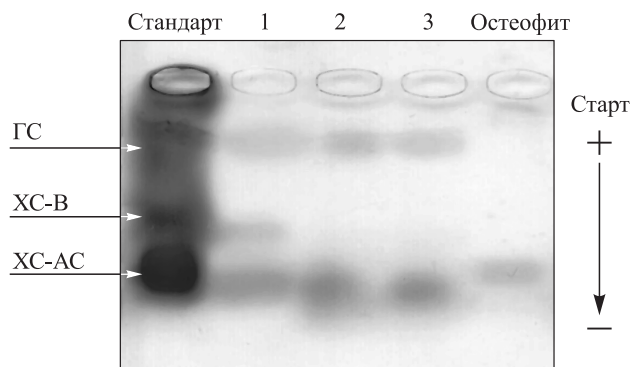


Рис. 3. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, рН 8,0) после обработки хондроитиназой АС (20 мМ трис-буфер, рН 7,5)

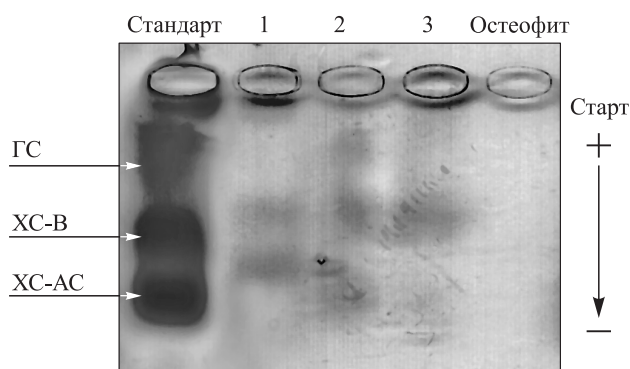


Рис. 4. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, pH 8,0) после обработки хондроитиназой АВС (20 мМ трис-буфер, pH 7,5)

зоны 1 и остеофитов. Во всех зонах сохраняются «тяжелые» ГАГ – их полосы видны возле старта, а в нативном хряще хорошо видна полоса КС. В ГАГ из хряща остеофитов обнаружен только ДС.

Дальнейшее разрушение хондроитинсульфатов хондроитиназой АВС позволяет определить присутствие КС (рис. 4). В хряще остеофитов после такой обработки ГАГ не обнаружено каких-либо полос, это свидетельствует о наличии в хряще только ХС-АС и ДС, что типично для молодого суставного хряща. Неодинаковое распределение полос ГАГ в геле агарозы (зоны 1, 2, 3) допускает двоякое толкование: либо это цепи КС разного размера, либо возможно присутствие гепарансульфата. Последующая обработка смеси ГАГ гепариназой не изменило картину распределения ГАГ, показанную на рис. 4. А после обработки кератаназой мы не обнаружили видимых следов ГАГ. Таким образом, в тканях хряща интактного, мало нагружаемого и дегенерированного мы обнаружили присутствие цепей КС, отличающихся размерами. Такое разнообразие цепей КС может быть связано с их принадлежностью разным молекулам ПГ. В мало нагружаемом и дегенерированном хряще цепи КС более гетерогенны, чем в интактном (см. рис. 4). Появление «легких» цепей можно отнести за счет разрушения кератансульфатов, но появление «тяжелых» цепей можно объяснить лишь особенностью синтетических процессов в резидентных клетках, отличных от тех, что протекают в интактном хряще. Вполне возможно, что подобная синтетическая активность связана с изменением фенотипа клеток по мере развития дегенерации [1, 8, 14, 15].

Таким образом, в едином коленном суставе пожилых людей с остеоартрозом метаболические процессы, определяющие структуру

ГАГ, зависят от зоны расположения хряща и биомеханической нагрузки в данной области. При дегенеративных изменениях происходят количественные, качественные и структурные изменения ГАГ. Существенно снижается их общее количество. Нарушаются внутриклеточные процессы формирования ГАГ, выражающиеся в укорочении длины цепей и нарушении присоединения сульфатных групп, появляются гетерогенные по размерам цепи КС. В ткани значительно возрастает количество полимеров из нейтральных гексоз. Возможно, эти изменения отражают смену фенотипа резидентных хондроцитов. Следовательно, дегенерация ткани не является экстраполяцией процессов в интактном хряще, связанных с возрастом, но обусловлена глубокой перестройкой фенотипа резидентных клеток, которые формируют иной, отличный от интактного, тип ткани.

ВЫВОДЫ

1. В коленном суставе пожилых людей с III стадией остеоартроза в разных топографических зонах суставной хрящ имеет различную структуру, соответствующую интактному, новообразованному и дегенерированному хрящу, что отражается в характеристиках гликозаминогликанов.
2. Структура ГАГ, существующая в интактном и дегенеративно измененном хряще, свидетельствует о различии метаболических процессов в резидентных клетках, отражающих смену фенотипа клетками патологической зоны.
3. Биомеханическая нагрузка провоцирует возникновение дегенеративных изменений, проявляющихся в снижении количества ГАГ, модификации их свойств и появлении гетерогенных цепей кератансульфата.
4. Возникновение остеофитов, покрытых новообразованным хрящом, в котором преобладает хондроитинсульфат АВ, свидетельствует о большом синтетическом потенциале клеток суставного хряща у пожилых людей.
5. Процессы в хряще разных топографических зон коленного сустава могут служить моделью для исследования возрастных и патологических процессов в хрящевой ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kurz B., Lemke A.K., Fay J. et al. Pathomechanisms of cartilage destruction by mechanical injury // *Ann. Anat.* 2005. 187. 473–485.
2. Katta J., Stapleton T., Ingham E. et al. The effect of glycosaminoglycan depletion on the friction and deformation of articular cartilage // *J. Engin. Med.* 2008. 2. 1–11.

3. Roughley P.J. The structure and function of cartilage proteoglycans // *Eur. Cells Mat.* 2006. 12. 92–101.
4. Glade M.J. Composition of articular cartilage and the biochemical and physiologic roles of *N*-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine // *Relief First Capsules Scientific White Paper.* 2006. 1. (1). 1–40.
5. Bayliss M.T., Osborne D., Woodhouse S., Davidson C. Sulfation of chondroitin sulfate in human articular cartilage. The effect of age, topographical position, and zone of cartilage on tissue composition // *J. Biol. Chem.* 1999. 274. 15892–15900.
6. Vogel K.G., Peters J.A. Isolation of proteoglycans from tendon // *Methods in Molecular Biology: Proteoglycan Protocols* / Ed. R.V. Iozzo. Totowa: Humana Press Inc., 2002. 171. 9–17.
7. Van de Lest Ch.H.A., Versteeg E.M.M., Veerkamp J.H., van Kuppevelt T.H. Quantification and characterization of glycosaminoglycans at the nanogram level by a combined Azure F – silver staining in agarose gels // *Anal. Biochem.* 1994. 221. 356–361.
8. Martel-Pelletier J., Kwan Tat S., Pelletier J.P. Effects of chondroitin sulfate in the pathophysiology of the osteoarthritic joint: a narrative review // *Osteoarthritis Cartilage.* 2010. 18. (Suppl. 1). 7–11.
9. Steenvoorden M.M., Huizinga T.W., Verzijl N. *et al.* Activation of receptor for advanced glycation end products in osteoarthritis leads to increased stimulation of chondrocytes and synoviocytes // *Arthritis Rheum.* 2006. 54. (1). 253–263.
10. Abramson S.B., Attur M. Developments in scientific understanding of osteoarthritis // *Arthritis Res. Ther.* 2009. 11. (3). 227–235.
11. Asanbaeva A., Masuda K., Thonar E.J. *et al.* Mechanisms of cartilage growth: modulation of balance between proteoglycan and collagen *in vitro* using chondroitinase ABC // *Arthritis Rheum.* 2007. 56. (1). 188–198.
12. Lammi M.J., Qu C.-J., Laasanen M.S. *et al.* Undersulfated chondroitin sulfate does not increase in osteoarthritic cartilage // *J. Rheumatol.* 2004. 31. (12). 2449–2453.
13. Qu C.-J. Articular cartilage proteoglycan biosynthesis and sulfation : Doctoral dissertation. Kuopio, 2007.
14. Settembre C., Arteaga-Solis E., McKee M.D. *et al.* Proteoglycan desulfation determines the efficiency of chondrocyte autophagy and the extent of FGF signaling during endochondral ossification // *Genes Dev.* 2008. 22. 2645–2650.
15. Aigner T., Söder S., Gebhard P.M. *et al.* Mechanisms of disease: role of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis-structure, chaos and senescence // *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2007. 7. 391–399.

THE STRUCTURE OF ARTICULAR CARTILAGE GLYCOSAMINOGLYCANS IN OSTEOARTHRITIS PATIENTS: INFLUENCE OF KNEE TOPOGRAPHY

Tatyana Vasil'evna RUSOVA, Vladislav Sergeevich BAITOV

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

Quantitative and qualitative variations in glycosaminoglycan (GAG) content were studied in the revealed zones of degenerated, intact, and osteophytic cartilage of a human knee in osteoarthrosis (OA) (11 patients aged 65–75 years with Grade III of OA). Total glycosaminoglycan content was reduced in degenerated zone, unchanged in intact one, and raised in osteophytic zone of the cartilage. In degenerated cartilage zone the content of keratan sulphate was high and content of chondroitin sulphate was low. The ratio of chondroitin sulphate to keratin sulphate in osteophytic cartilage was high and thus resembled immature cartilage. In degenerated cartilage the ratio of sulfated glycosaminoglycan to uronic acids was very low, which can be considered as damage in GAG chains. A large amount of neutral hexoses and keratan sulfate is accumulated in zones of cartilage with biomechanical load and degeneration. Structure and metabolism of GAG are significantly different in zones of intact and degenerated cartilage in old patients with OA knee, which may be explained by changes in the phenotype of chondrocytes. Biomechanical stress provokes the development of the degenerative process.

Key words: glycosaminoglycans, cartilage, osteoarthrosis.

*Rusova T.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory experimental department,
e-mail: galarusova@gmail.ru*

Baitov V.S. – senior researcher of department for endoprosthesis replacement, e-mail: VBaitov@1:st.ru

СОСТАВ СВОБОДНЫХ И ЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ КРОВИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Татьяна Павловна НОВГОРОДЦЕВА¹, Юлия Константиновна КАРАМАН¹,
Наталья Владимировна ЖУКОВА², Елена Григорьевна ЛОБАНОВА¹,
Марина Владимировна АНТОНЮК¹

¹ Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73-г

² Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН
690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17

Изучен состав свободных жирных кислот плазмы, липидов эритроцитов, уровень оксипинов в сыворотке крови людей с метаболическим синдромом. У пациентов с метаболическим синдромом выявлено повышение концентрации полиненасыщенных жирных кислот в плазме крови при одновременном ее снижении в эритроцитах; в сыворотке крови установлено высокое содержание лейкотриена В₄, тромбоксана А₂, 6-кето-простагландина- $F_{1\alpha}$. Установленная модификация состава свободных и эстерифицированных жирных кислот плазмы и клеток крови, нарушение синтеза вазоактивных и провоспалительных оксипинов являются важным патогенетическим звеном развития метаболического синдрома.

Ключевые слова: жирные кислоты, оксипины, метаболический синдром.

Метаболический синдром, включающий целый ряд системных клиничко-биохимических процессов (резистентность к инсулину, абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия), привлекает пристальное внимание эндокринологов, кардиологов, врачей общей практики. Это обусловлено большим распространением данного синдромокомплекса в популяции (до 20 %) и его ролью в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа [1, 2, 3]. Существует несколько гипотез развития метаболического синдрома, из которых ведущей является теория инсулинорезистентности [1, 4]. По мнению ряда авторов, формированию резистентности к инсулину предшествует дефицит в клетках эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), одной из причин которого может являться нарушение их активного рецепторного (апоВ/100) транспорта в составе липопротеидов [5, 6]. Эндогенный недостаток в клетках ПНЖК

приводит к изменению жирно-кислотного состава фосфолипидов и физико-химических свойств плазматических мембран, понижению их жидкостности, нарушению функционирования рецепторов к инсулину и транспортных систем поступления в клетку глюкозы. Закономерным следствием блокады рецепторопосредованного трансфера жирных кислот является компенсаторное увеличение пассивного поглощения клетками свободных жирных кислот [7]. Приспособление клеток к такому типу транспорта жирных кислот активизирует липолиз, усиливает секрецию инсулина, потенцируя формирование гиперинсулинемии [6]. В свою очередь гиперинсулинемия через нарушение ауторегуляции инсулиновых рецепторов еще больше усиливает периферическую инсулинорезистентность.

Другой негативной стороной истощения пула физиологически важных ПНЖК в мембране клеток является дисфункция синтеза биоло-

Новгородцева Т.П. – д.б.н., проф., зам. директора по НИР, зав. лабораторией биомедицинских исследований, e-mail: curdeal@mail.ru

Караман Ю.К. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, e-mail: karaman@inbox.ru

Жукова Н.В. – д.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории сравнительной биохимии, e-mail: nzjukova35@list.ru

Лобанова Е.Г. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, e-mail: isachenko1@yandex.ru

Антонюк М.В. – д.м.н., зав. лабораторией восстановительного лечения, e-mail: antonyukm@mail.ru

гически активных метаболитов – оксипинов (простагландины, лейкотриены, тромбоксаны), являющихся ключевыми регуляторами функций эндотелия, иммунокомпетентных клеток, тромбоцитов [8]. Доказано, что нарушение синтеза и дисбаланс эйкозаноидов в организме становятся причиной развития хронического воспаления, эндотелиальной дисфункции [9]. Цепочка последовательных нарушений, начинающихся от патологии рецепторного транспорта жирных кислот, приводит к клеточному дефициту эссенциальных ПНЖК и нарушению синтеза эйкозаноидов, создает порочный круг формирования метаболического синдрома. Однако на данный момент отсутствуют четкие доказательства, подтверждающие патогенетическую роль жирных кислот, нарушения их транспорта, а также дисфункции синтеза оксипинов в механизмах развития метаболического синдрома.

Цель исследования – установить роль модификации свободных и эстерифицированных жирных кислот, их метаболитов в формировании метаболического синдрома.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовали 46 человек (20 мужчин, 26 женщин) в возрасте от 21 до 69 лет. Для диагностики метаболического синдрома использовали критерии, разработанные комитетом экспертов Всероссийского научного общества кардиологов [2]. Критериями метаболического синдрома считали окружность талии больше 94 см у мужчин и больше 80 см у женщин; уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт. ст., триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови $\geq 1,7$ ммоль/л, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) $< 1,0$ ммоль/л у мужчин и $< 1,2$ ммоль/л у женщин; содержание глюкозы в сыворотке крови натощак $\geq 6,1$ ммоль/л; нарушение толерантности к глюкозе. Наличие трех и более перечисленных критериев считали достаточным для постановки диагноза метаболического синдрома. Все пациенты были рандомизированы на две группы: 1-ю группу (контрольная) составили 15 человек, не имеющие компонентов метаболического синдрома, 2-ю группу – 31 пациент с метаболическим синдромом.

В исследование углеводного обмена входило определение содержания в сыворотке крови глюкозы натощак и через 2 часа после пероральной нагрузки глюкозой, уровня инсулина иммуноферментным методом (наборы фирмы «DRG – diagnostics», Германия), рассчитывали

индекс НОМА (уровень инсулина натощак, мЕд/мл \times уровень глюкозы натощак, ммоль/л /22,5). Липидный спектр сыворотки крови оценивали по содержанию в сыворотке крови общего холестерина (ОХС), ТГ, ХС ЛПВП (наборы фирмы «Ольвекс», Россия). Холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле Фридвальда и выражали в ммоль/л.

Выделение липидов из плазмы и эритроцитов крови осуществляли, используя систему растворителей хлороформ – метанол в соотношении 1:2. Анализ состава жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии после их метилирования. Метилловые эфиры ЖК получали с помощью трансметилирования липидов 1%-м раствором натрия в метаноле и затем 5%-й HCl в метаноле, экстрагировали гексаном. Гексановый раствор метилловых эфиров ЖК очищали с помощью микротонкослойной хроматографии в бензоле. Зону метилловых эфиров на силикагеле определяли по стандарту или с помощью паров йода. Эфиры элюировали хлороформом, раствор упаривали в вакууме на ротаторном испарителе (Венгрия). Перерастворенные в гексане метилловые эфиры анализировали на газожидкостном хроматографе Shimadzu GC-2010 (Япония), снабженном пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой (0,25 мм \times 30 м) с привитой фазой Supelcowax 10. Температура колонки и детектора 210 °С, температура испарителя 240 °С. Газ-носитель – гелий. Расчет площади хроматографических пиков и обработку результатов проводили на станции Z-Chrom. Идентифицировали метилловые эфиры ЖК по времени удерживания с использованием стандартов и по значениям «углеродных чисел» [5]. Результаты выражали в относительных процентах от общей суммы ЖК. Уровень эйкозаноидов (тромбоксан B_2 , 6-кето-простагландин $F_{1\alpha}$, лейкотриен B_4) определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы Genzyme diagnostics (Великобритания). Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики, результаты представляли в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка среднего арифметического. Достоверность различий средних величин определяли по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У обследованных лиц с метаболическим синдромом выявлены выраженные клинико-

Таблица 1

Антропометрические и биохимические показатели лиц с метаболическим синдромом, $M \pm t$

Показатель	1-я группа (контроль, $n = 15$)	2-я группа (метаболический синдром, $n = 31$)
Индекс массы тела, $\text{кг}/\text{м}^2$	$21,97 \pm 0,65$	$31,55 \pm 1,79^{***}$
Окружность талии, см	$70,45 \pm 1,55$	$95,76 \pm 3,98^{***}$
Окружность бедер, см	$98,63 \pm 1,88$	$116,07 \pm 3,40^{***}$
Окружность талии / окружность бедер	$0,71 \pm 0,01$	$0,82 \pm 0,01^{***}$
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	105 ± 2	$142 \pm 2^{***}$
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	65 ± 2	$88 \pm 2^{***}$
Содержание глюкозы, ммоль/л (натощак)	$4,06 \pm 0,31$	$5,80 \pm 0,22^{**}$
Содержание глюкозы, ммоль/л (через 2 ч)	$4,32 \pm 0,39$	$6,52 \pm 0,65^*$
Содержание инсулина, мкЕД/мл	$8,08 \pm 1,04$	$18,50 \pm 2,19^{***}$
Индекс НОМА	$1,50 \pm 0,21$	$4,50 \pm 0,66^{***}$
Содержание ОХС, ммоль/л	$4,44 \pm 0,21$	$5,80 \pm 0,29^{**}$
Содержание ТГ, ммоль/л	$0,68 \pm 0,07$	$1,79 \pm 0,14^*$
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	$1,41 \pm 0,11$	$1,14 \pm 0,06$
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	$2,72 \pm 0,22$	$3,88 \pm 0,28^*$

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 отличие от величины соответствующего показателя лиц контрольной группы (1-я группа) статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

метаболические изменения, характерные для данного синдромокомплекса: увеличение индекса массы тела, соотношения объема талии и бедер, содержания ХС ЛПНП, повышение артериального давления (табл. 1).

Качественный состав свободных жирных кислот у обследуемых групп представлен 31 компонентом индивидуальных жирных кислот с длиной углеродной цепи от C_{12} до C_{24} как с четным, так и с нечетным числом углеродных атомов, нормального и изостроения, насыщенных, моноеновых и полиеновых. Состав основных жирных кислот плазмы и жирных кислот липидов эритроцитов крови пациентов с метаболическим синдромом представлен в табл. 2.

Анализ количественного состава свободных жирных кислот показал, что у пациентов с метаболическим синдромом по сравнению с лицами контрольной группы наблюдается снижение уровней отдельных насыщенных жирных кислот: миристиновой (14:0, $p < 0,05$), маргариновой (17:0, $p < 0,05$) (см. табл. 2). Среди кислот изостроения почти в 3 раза уменьшалось относительное содержание 16:0-*i* ($p < 0,01$). На фоне снижения относительного количества насыщенных свободных жирных кислот увеличивалось содержание полиненасыщенных жирных кислот. Доли линолевой (18:2 ω 6) и α -линоленовой (18:3 ω 3) кислот возрастали в два раза ($p < 0,01$), что отразилось на повышении сум-

марного показателя ω 6-жирных кислот – $\Sigma \omega$ 6. Интегральный показатель изменений в ряду жирных кислот – индекс ненасыщенности, рассчитанный как сумма произведений количества двойных связей в каждой жирной кислоте на ее относительное процентное содержание, возрастал ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о модификации состава свободных жирных кислот плазмы крови у лиц с метаболическим синдромом, причиной чего, предположительно, является нарушение переноса в крови и поглощение клетками насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот.

Известно, что в крови и межклеточной жидкости липопротеиды сочетанно, но отдельно, переносят насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты [6]. Если клетки не поглощают липопротеины, переносящие полиненасыщенные жирные кислоты, – это проявляется не только клеточным дефицитом ПНЖК, но и гиперхолестеринемией. Гипертриглицеридемия может возникать при неспособности клеток поглощать липопротеиды, ответственные за перенос насыщенных жирных кислот. Выявленная в исследовании гиперхолестеринемия и преобладание ПНЖК в плазме в сочетании с дефицитом насыщенных жирных кислот у пациентов с метаболическим синдромом являются доказательством рецепторной блокады липопротеидов, транспортирующих ПНЖК. Следствием

Таблица 2

Состав свободных жирных кислот плазмы и жирных кислот липидов эритроцитов крови лиц с метаболическим синдромом, $M \pm t$

Содержание жирной кислоты, %	1-я группа (n = 15)		2-я группа (n = 31)	
	Плазма крови	Эритроциты	Плазма крови	Эритроциты
12:0	0,65 ± 0,10	0,40 ± 0,01	0,65 ± 0,07	0,2 ± 0,07*
14:0	2,96 ± 0,21	0,65 ± 0,04	2,91 ± 0,17*	0,76 ± 0,02*
15:0	0,88 ± 0,11	0,28 ± 0,02	0,78 ± 0,13	0,29 ± 0,01
16:0	33,76 ± 1,25	23,37 ± 0,32	30,79 ± 1,25	24,03 ± 0,37
16:0-i	1,62 ± 0,35	0,40 ± 0,01	0,41 ± 0,07**	0,50 ± 0,01
16:1ω7	2,01 ± 0,27	0,8 ± 0,03	2,17 ± 0,32	0,64 ± 0,03**
17:0	1,25 ± 0,19	0,45 ± 0,04	0,92 ± 0,03	0,43 ± 0,03
17:1	0,3 ± 0,01	0,37 ± 0,025	0,35 ± 0,08	0,16 ± 0,02***
18:0	31,32 ± 5,07	17,23 ± 0,29	29,15 ± 4,85	22,8 ± 0,9***
18:0-i	0,25 ± 0,08	0,80 ± 0,01	Следы	0,57 ± 0,07**
18:2ω6	7,53 ± 1,68	13,74 ± 0,53	11,13 ± 2,21*	11,98 ± 0,34*
18:3ω6	0,13 ± 0,03	0,20 ± 0,01	Следы	0,21 ± 0,02
18:3ω3	0,51 ± 0,11	0,20 ± 0,01	0,82 ± 0,17*	Следы
20:0	0,89 ± 0,09	0,18 ± 0,02	0,74 ± 0,11	0,3 ± 0,03**
20:3ω9	0,60 ± 0,21	0,56 ± 0,24	0,36 ± 0,06**	0,88 ± 0,18*
20:4ω6	0,36 ± 0,06	12,13 ± 0,24	0,41 ± 0,06	10,14 ± 0,35***
20:5ω3	0,66 ± 0,11	1,08 ± 0,11	0,45 ± 0,07	1,58 ± 0,11**
22:1	Следы	0,25 ± 0,02	Следы	0,67 ± 0,10***
22:4ω6	1,74 ± 0,12	2,15 ± 0,11	1,94 ± 0,11	1,58 ± 0,09**
Σ ω6	7,77 ± 1,71	30,1 ± 0,6	*11,42 ± 2,27	25,7 ± 0,67***
Σ ω3	1,01 ± 0,18	9,98 ± 0,78	1,21 ± 0,22	9,94 ± 0,47
Индекс ненасыщенности	38,41 ± 7,30	155,98 ± 1,33	49,08 ± 8,83	133,16 ± 6,17**

этих процессов может стать дефицит в клетках эссенциальных полиненасыщенных кислот, что приводит к изменению структурно-функциональных свойств цитоплазматических мембран, понижению их жидкости, нарушению функционирования рецепторов.

Для подтверждения вышесказанного был изучен состав жирных кислот липидов эритроцитов у пациентов с метаболическим синдромом, в нем установлено 37 индивидуальных жирных кислот насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных, нормального и изостроения с длиной цепи от C₁₂ до C₂₂ как с четным, так и нечетным числом углеродных атомов (см. табл. 2). В количественном составе жирных кислот липидов эритроцитов обследованных пациентов с метаболическим синдромом выявлены значительные изменения относительно контрольной группы. У пациентов с метаболическим синдромом в эритроцитах отмечалось повышение доли насыщенных (14:0, 18:0, 20:0),

снижение моноеновых (16:1ω7, 17:1) жирных кислот. Обнаружено увеличение относительно уровня кислоты Мида (20:3ω9), компенсаторный синтез которой происходит при дефиците полиненасыщенных кислот семейства ω6 и ω3 [5]. Действительно, в группе лиц с метаболическим синдромом выявлено уменьшение доли эссенциальной линолевой (18:2ω6) и α-линоленовой (18:3ω3) кислот, 18:4ω3, арахидоновой кислоты (20:4ω6) и ее метаболита (22:4ω6). Установлено снижение суммарного показателя – Σ ω6 ($p < 0,05$) и индекса ненасыщенности ($p < 0,01$).

Полученные результаты свидетельствуют о модификации состава свободных жирных кислот плазмы крови и жирных кислот липидов эритроцитов у лиц с метаболическим синдромом. Причиной выявленного накопления ПНЖК в плазме при одновременном их дефиците в клетках может быть нарушение рецепторного аппарата клетки, ответственного за ак-

Таблица 3

Уровень эйкозаноидов в крови лиц
с метаболическим синдромом, $M \pm m$

Содержание эйкозаноида, пг/мл	1-я группа ($n = 15$)	2-я группа ($n = 31$)
6-Кето-простагландин $F_{1\alpha}$	$20,75 \pm 1,004$	$38,24 \pm 2,94^{***}$
Лейкотриен B_4	$149,67 \pm 3,28$	$217,37 \pm 8,58^{***}$
Тромбоксан B_2	$245,73 \pm 21,12$	$301,33 \pm 9,62^*$

тивный захват жирных кислот в составе липопротеинов. Изменение состава жирных кислот в мембранах клеток, главным образом в сторону понижения количества эстерифицированных в фосфолипиды эссенциальных ПНЖК, приводит к уменьшению отрицательного заряда мембраны, увеличению ее вязкости, активации синтеза провоспалительных эйкозаноидов и повышению чувствительности гладкомышечных клеток стенок артерий к действию вазоконстрикторов [5, 6, 9]. Выявленные изменения являются основными патогенетическими факторами формирования сердечно-сосудистых заболеваний (гипертоническая болезнь, мозговой инсульт, инфаркт миокарда). Обнаруженное снижение доли арахидоновой кислоты в эритроцитах указывает на нарушения в эйкозаноидном цикле и увеличение синтеза оксипинов с выраженными вазоконстрикторными (тромбоксан A_2) и провоспалительными (лейкотриен B_4) свойствами.

Действительно, исследование уровней эйкозаноидов в сыворотке крови пациентов с метаболическим синдромом показало, что у лиц 2-й группы наблюдалось повышение концентрации 6-кето-простагландина $F_{1\alpha}$ ($p < 0,001$), лейкотриена B_4 ($p < 0,05$), тромбксана B_2 ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля (табл. 3).

Превышение уровня 6-кето-простагландина $F_{1\alpha}$, являющегося мощным вазодилататором, свидетельствует о запуске у пациентов с метаболическим синдромом компенсаторных механизмов, поддерживающих сохранение баланса между образованием про- и противовоспалительных оксипинов. Однако попытка организма самостоятельно поддерживать состояние динамического равновесия между лейкотриенами и простагландинами имеет свои ограничения, что может стать решающим этапом в запуске механизмов кардиоваскулярных заболеваний, сахарного диабета и других патологий, часто развивающихся у пациентов с метаболическим синдромом. Это подтвердилось гиперпродукцией тромбксана B_2 у лиц

с метаболическим синдромом, что указывает на подключение патогенетических механизмов его формирования, таких как вазоконстрикция, гиперкоагуляция, усиливающих нарушения функционирования сосудистой стенки, повышающих резистентность клеток к инсулину [9]. Полученные данные продемонстрировали, что в патогенезе метаболического синдрома имеет место повышенная экспрессия провоспалительных эйкозаноидов (лейкотриена B_4), детерминирующих процессы воспаления, гиперпродукция вазоконстрикторных оксипинов (тромбксана B_2), обуславливающих эндотелиальную дисфункцию, тромбообразование.

Таким образом, развитие метаболического синдрома сопровождается модификацией состава свободных и эстерифицированных жирных кислот плазмы и клеток крови, одной из причин которой может быть нарушение их активного транспорта, что приводит к изменению структуры клеточных мембран, нарушению синтеза оксипинов и дисбалансу между про- и противовоспалительными, вазоконстрикторными и вазодилатационными эйкозаноидами. Смещение динамического равновесия биосинтеза цитопротективных и цитотоксических эйкозаноидов в сторону последних инициирует патогенетические механизмы развития и прогрессирования метаболических и иммунных осложнений, становится одним из главных компонентов формирования эндотелиальной дисфункции и системного воспаления. Результаты исследования убедительно свидетельствуют о важной роли жирных кислот и их метаболитов в патогенезе метаболического синдрома. Полученные данные необходимо учитывать при разработке соответствующих профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращение или устранение выявленных нарушений в липидтранспортной, циклооксигеназной и липоксигеназной системах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров О.В., Алехина Р.М., Григорьев С.П. и др. Метаболический синдром // Рос. мед. журн. 2006. (6). 50–55.
Aleksandrov O.V., Alekhina R.M., Grigor'ev S.P. et al. Metabolic syndrome // Ros. med. zhurn. 2006. (6). 50–55.
2. Диагностика и лечение метаболического синдрома: Российские рекомендации. Разработаны Комитетом экспертов Всероссийского научно-общества кардиологов. М., 2007. 26 с.
Diagnosis and treatment of metabolic syndrome / Russia recommendation. Developed by the Expert

Committee of All-Russian Scientific Society of Cardiology. M., 2007. 26 p.

3. Balkau B. Epidemiology of the metabolic syndrome and the RISK study // Eur. Heart J. 2005. (7). 6–9.

4. Fernandez-Real J.M., Broch M., Vendrell J., Ricart W. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition // Diabetes Care. 2003. 26. 1362–1368.

5. Новгородцева Т.П., Караман Ю.К., Антоныук М.В., Жукова Н.В. Модификация состава свободных и эстерифицированных жирных кислот при формировании метаболического синдрома // Клинич. медицина. 2009. (5). 33–37.

Novgorodtseva T.P., Karaman Yu.K., Antonyuk M.V., Zhukova N.V. Modification of free and esterified fatty acids in the forming of the metabolic syndrome // Klinich. meditsina. 2009. (5). 33–37.

6. Тумов В.Н. Атеросклероз как патология полиеновых жирных кислот. Биологические основы

патогенеза, диагностики, профилактики и лечения атеросклероза. М.: Алтус, 2002. 495 с.

Titov V.N. Atherosclerosis as pathology of polyene fatty acids. Biological basis of pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment of atherosclerosis. M.: Altus, 2002. 495 p.

7. Phinney S.D. Fatty acids, inflammation, and the metabolic syndrome // Am. J. Clin. Nutr. 2005. 82. (6). 1151–1152

8. Марков Х.М. Простаноиды и атеросклероз // Патологич. физиология и эксперим. терапия. 2004. (1). 2–7.

Markov Kh.M. Prostanoids and atherosclerosis // Patologich. fiziologiya i experim. terapiya. 2004. (1). 2–7.

9. Klein-Platat C., Drai J., Oujaa M. et al. Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents // Am J. Clin. Nutr. 2005. 82. 1178–1184.

COMPOSITION OF BLOOD FREE AND ESTERIFIED FATTY ACIDS UNDER THE FORMING OF METABOLIC SYNDROME

Tatyana Pavlovna NOVGORODTSEVA¹, Yulia Konstantinovna KARAMAN¹,
Natalia Vladimirovna ZHUKOVA², Elena Grigorievna LOBANOVA¹,
Marina Vladimirovna ANTONYUK¹

¹ Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation 690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g

² Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunsky the FEB RAS 690059, Vladivostok, Palchevskogo str., 17

The composition of plasma fatty acids, erythrocytes lipids, and the level of oxylipins in the blood serum of the patients with metabolic syndrome have been investigated. The increase of the polyunsaturated fatty acids level in blood plasma was detected while their simultaneous decrease in erythrocytes; high content of the leukotriene B₄, thromboxane A₂, 6-keto-prostaglandine-F_{1α} was registered in the blood serum. The revealed modification of the composition of free and esterified fatty acids in blood plasma and cells, disorder of vasoactive and anti-inflammatory oxylipins synthesis are important pathogenetic link of metabolic syndrome development.

Key words: fatty acids, oxylipins, metabolic syndrome.

Novgorodtseva T.P. – doctor of biological sciences, professor, deputy director for scientific work, head of the laboratory of biomedical researches, e-mail: curdeal@mail.ru

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of biomedical researches, e-mail: karaman@inbox.ru

Zhukova N.V. – doctor of biological sciences, associated professor, senior researcher of the laboratory for comparative biochemistry, e-mail: nzhukova35@list.ru

Lobanova E.G. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of biomedical researches, e-mail: isachenkol@yandex.ru

Antonyuk M.V. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of the rehabilitative treatment, e-mail: antonyukm@mail.ru

ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОМОРБИДНОГО ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ХОЛЕЦИСТИТА И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Алла Валентиновна ЮРЕНКО, Марина Владимировна АНТОНЮК,
Наталья Борисовна ДЕМЬЯНЕНКО, Ольга Борисовна ЩЕДРИНА

Владивостокский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – «НИИ МКВЛ»
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73-г

Изучены иммунометаболические особенности коморбидного течения хронического холецистита и метаболического синдрома. Обследованы 127 пациентов с хроническим холециститом, из них у 77 человек диагностирован метаболический синдром. Особенностью коморбидного течения метаболического синдрома и хронического холецистита является повышение активности системного воспаления, что отражается в усилении продукции провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли- α , растворимого рецептора к нему и выраженных изменениях во всех звеньях иммунной системы.

Ключевые слова: хронический холецистит, метаболический синдром, цитокины, иммунитет.

В настоящее время отмечается рост сочетанной патологии, полиморбидность стала характерной чертой пациентов среднего, наиболее активного возраста. Актуальной является проблема коморбидного течения хронического холецистита и метаболического синдрома (МС) [1]. По данным различных авторов, больные хроническим холециститом в общей структуре заболеваемости составляют 10–20 % [2]. Известно, что хронический холецистит сопровождается воспалительно-дистрофическими процессами в соединительнотканых структурах желчного пузыря и приводит к нарушениям иммунного и метаболического статуса [3]. Ряд компонентов МС (нарушения липидного и углеводного обмена), выявляемых у пациентов с хроническим холециститом, могут быть следствием индуцированного им системного воспалительного процесса [4–7]. Иммуновоспалительные реакции при МС привлекают повышенное внимание ученых, но большинство исследований направлено на изучение нарушений иммунной системы при уже сформировавшемся метаболическом синдроме [4, 8, 9]. Несмотря на большое количество публикаций по проблеме МС и хронического холецистита, отсутствуют данные о характере иммунометаболических нарушений при их сочетанном течении.

Целью настоящего исследования явилось изучение иммунометаболических особенностей коморбидного течения хронического холецистита и МС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовали 185 человек (средний возраст – $40,2 \pm 0,6$ года; 73 мужчины, 112 женщины). Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения. Основным критерием включения в исследование служили диагностированный хронический некалькулезный холецистит и калькулезный холецистит вне обострения. Диагноз верифицировали по МКБ 10 на основании клинических, лабораторных данных, результатов УЗИ органов брюшной полости, дуоденального зондирования [3]. Диагноз МС выставляли согласно рекомендациям экспертов Всероссийского научного общества кардиологов (2009). Критериями исключения из наблюдения явилось наличие у пациентов острых и хронических инфекционно-воспалительных, аллергических и аутоиммунных заболеваний, гепатита алкогольной и вирусной этиологии, ожирения эндокринной этиологии, сахарного диабета, ишемической

Юренко А.В. – зав. терапевтическим отделением, e-mail: yurenko_alla@mail.ru

Антонюк М.В. – д.м.н., зав. лабораторией восстановительного лечения, e-mail: antonyukm@mail.ru

Демьяненко Н.Б. – врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории, e-mail: vfdnz@mail.ru

Щедрина О.Б. – врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории, e-mail: imkvl_ivanov@mail.ru

болезни сердца, хронической сердечной недостаточности, инфаркта миокарда или мозгового инсульта в анамнезе.

В соответствии с задачами исследования сформированы группы наблюдения: 1-я группа – 50 пациентов с хроническим холециститом без МС, 2-я группа – 77 пациентов с хроническим холециститом, ассоциированным с МС, 3-я группа (группа сравнения) – 25 пациентов с МС без хронического холецистита. Контрольная группа состояла из 33 здоровых лиц без установленных хронических заболеваний. Группы обследованных были сопоставимы по полу и возрасту.

Об активности хронического процесса в желчном пузыре и печени судили по клинико-анамнестическим данным, результатам биохимического анализа сыворотки крови (аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, билирубин, тимоловая проба, щелочная фосфатаза, С-реактивный белок), дуоденального зондирования, выполняемого трехфракционным методом. В сыворотке крови определяли уровень общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой плотности (наборы «Ольвекс Диагностикум», Санкт-Петербург), апопротеинов – апоА1 и апоВ (наборы «DiaSys», Германия); рассчитывали уровни холестерина липопротеинов низкой плотности и индекс атерогенности. Апопротеиновый коэффициент атерогенности вычисляли через соотношение апоВ/апоА1. Исследование углеводного обмена включало определение в сыворотке крови содержания глюкозы натощак и после приема *per os* 75 г сухой глюкозы, инсулина методом иммуноферментного анализа (наборы «DRG Diagnostic», Германия»). Для определения инсулинорезистентности использовали индекс НОМА [10]. Определяли содержание малонового диальдегида (МДА) в гемолизате эритроцитов, интегральный показатель антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови [11]. Уровень фактора некроза опухолей- α (TNF- α) и растворимого рецептора к TNF- α (sTNF- α RI) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (реактивы «BD Bioscience», США). Для исследования клеточного иммунитета проводили фенотипирование иммунокомпетентных клеток периферической крови с использованием моноклональных антител к молекулам CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, HLA-DR [12]. Иммунорегуляторный индекс вычисляли через соотношение CD4/CD8. Для определения неспецифической резистентности организма исследовали функциональные возможности клеток моноцитарно-макрофагального звена иммунной

системы. Оценивали фагоцитарную активность нейтрофилов, фагоцитарный резерв, фагоцитарное число и резерв фагоцитарного числа [13]. Для изучения кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов использовали тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), индекс активации нейтрофилов (ИАН), определяли резерв теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТР) и резерв индекса активации нейтрофилов (ИАНР) по методу Park в модификации Е.В. Шмелева [14], в качестве активатора использовали продигозан. Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (наборы «Вектор-Бест», Кольцово).

Статистическую обработку данных проводили с применением методов сравнения различных статистических совокупностей (критерий Стьюдента и χ^2). Взаимосвязь количественных признаков оценивалась непараметрическим методом Спирмена, параметрическим методом Пирсона (r), каноническим корреляционным анализом. Использовали методы многомерного статистического анализа (кластерный и регрессионный). Уровень значимости различий был принят при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ клинико-анамнестических данных показал, что для сочетанного течения хронического холецистита и МС более характерны диспепсический и астеновегетативный синдромы, длительный анамнез хронического холецистита ($8,7 \pm 0,7$ и $4,8 \pm 0,5$ года у пациентов 2-й и 1-й групп соответственно; $p < 0,001$). По данным исследования у пациентов 1-й и 2-й групп в 12 и 12,9 % случаев соответственно диагностировали жировой гепатоз, во 2-й группе в 25,9 % случаев диагностировали неалкогольный стеатогепатит с характерными для мезенхиально-воспалительного, холестатического и цитолитического синдромов изменениями. Представленные данные свидетельствуют, что коморбидное течение хронического холецистита и МС характеризуется более длительным анамнезом хронического холецистита, преобладанием диспепсического синдрома и развитием в 25,9 % случаев неалкогольного стеатогепатита.

Результаты исследования липидного обмена представлены на рисунке. У пациентов 1-й группы по сравнению с группой контроля выявлено повышение содержания в сыворотке крови апоА1 на 14,2 % ($p < 0,05$), апоВ – на 29,9 % ($p < 0,001$), атерогенного соотношения

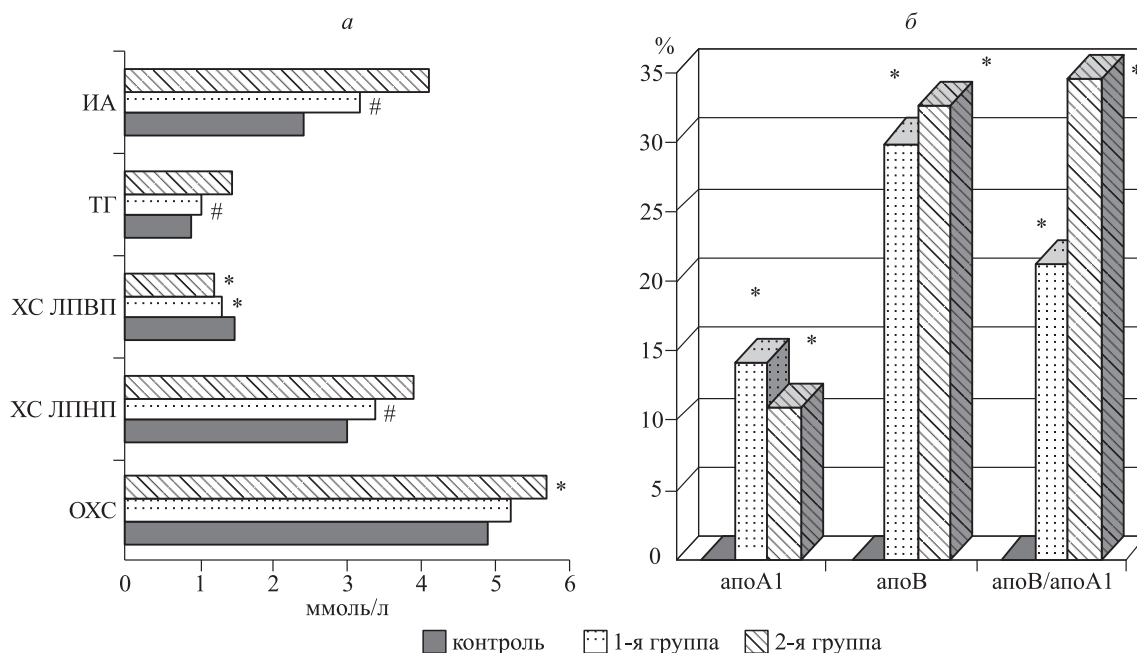


Рис. а – содержание липидов в сыворотке крови у пациентов с хроническим холециститом и метаболическим синдромом (среднее арифметическое, ммоль/л); **б** – содержание аполипопротеинов в сыворотке крови у пациентов с хроническим холециститом и метаболическим синдромом (среднее арифметическое, % отклонения от контрольных значений). Здесь и в таблицах * – отличие от величины соответствующего показателя в контроле достоверно при $p < 0,05$, # – отличие от величины соответствующего показателя пациентов 1-й группы достоверно при $p < 0,05$

apoB/apoA1 – на 21,3 % ($p < 0,05$), снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности – на 12,3 % ($p < 0,01$). У пациентов 2-й группы дислипидемия усугублялась, что проявлялось увеличением уровня холестерина липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, apoB, соотношения apoB/apoA1 и гипоальфахолестеринемией. Выявленные изменения содержания в сыворотке крови apoB/apoA1 свидетельствуют о нарушении акцепции холестерина. Гипоальфахолестеринемия при хроническом холецистите является причиной нарушения процессов эстерификации свободного холестерина, что объясняет преимущественное увеличение уровня атерогенных фракций липопротеинов у данной категории больных [5].

При оценке состояния системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты, не выявлено существенных различий. Отмечено достоверное увеличение АОА у пациентов 2-й группы по сравнению с группой контроля, коэффициент соотношения МДА/АОА составил $0,12 \pm 0,01$, что на 14 % ниже нормы. Данный факт обусловлен усилением действия антиоксидантных факторов, которое направлено на инактивацию процессов перекисного окисления ли-

пидов в условиях нарушения липидного обмена и хронического воспаления.

Результаты исследования углеводного обмена показали, что во 2-й группе обнаружены характерные для МС изменения содержания в сыворотке крови глюкозы, инсулина и значения индекса НОМА по сравнению с аналогичными показателями 1-й и контрольной групп ($p < 0,001$). При сочетанном течении хронического холецистита и МС в 36,6 % случаев выявляли гипергликемию натощак, в 20,7 % случаев – нарушение толерантности к глюкозе, в 61 % случаев – гиперинсулинемию и в 50,5 % случаев – инсулинорезистентность ($p < 0,05$). Таким образом, у каждого пятого пациента с хроническим холециститом развивается гиперинсулинемия и инсулинорезистентность, которые служат предикторами развития метаболического синдрома.

Оценка состояния провоспалительного потенциала крови у пациентов 1-й группы показала, что при хроническом холецистите в период ремиссии регистрируется системная воспалительная реакция (табл. 1). У пациентов 1-й группы содержание TNF- α было на 16,4 % выше, чем в контроле, а sTNF- α RI – на 85 %

Таблица 1

Содержание медиаторов воспаления у пациентов с хроническим холециститом и метаболическим синдромом ($M \pm t$)

Содержание медиатора	Контроль (n = 33)	1-я группа, ХХ без МС (n = 50)	2-я группа, ХХ с МС (n = 77)	3-я группа, МС без ХХ (n = 25)
СРБ, мг/л	3 ± 0,3	3,8 ± 0,3	4,8 ± 0,7*	3,6 ± 0,2 [^]
TNF-α, пг/мл	4,9 ± 0,2	5,7 ± 0,2*	6,6 ± 0,3* ^{*,#}	5,8 ± 0,2* ^{*, ^}
sTNF-α RI, пг/мл	1,039 ± 0,209	1,926 ± 0,133*	2,520 ± 0,123* ^{*,#}	2,059 ± 0,125* ^{*, ^}
Фибриноген, мг/дл	285,6 ± 15,3	301,4 ± 12,2	316,3 ± 12,1	307,4 ± 22,1

Примечание. Здесь и в табл. 2 M – среднее арифметическое значение; t – ошибка среднего; [^] – отличие от величины соответствующего показателя пациентов 2-й группы достоверно при $p < 0,05$.

Таблица 2

Состояние клеточного, моноцитарно-макрофагального и гуморального звеньев иммунитета у пациентов с хроническим холециститом и метаболическим синдромом ($M \pm t$)

Показатель	Контроль (n = 33)	1-я группа, ХХ без МС (n = 50)	2-я группа, ХХ с МС (n = 77)	3-я группа, МС без ХХ (n = 25)
CD3+, %	34,1 ± 2,2	30,2 ± 1,5	29,9 ± 1,5	29,5 ± 2,1
CD4+, %	33,3 ± 1,8	29,4 ± 1,6	27,8 ± 1,5*	29,9 ± 1,4
CD8+, %	21,4 ± 0,9	19,4 ± 0,9	23,5 ± 1,4 [#]	20,3 ± 0,6 [^]
Индекс CD4+/CD8+	1,55 ± 0,06	1,50 ± 0,06	1,24 ± 0,05* ^{*,#}	1,42 ± 0,06 [^]
CD22+, %	24,3 ± 1,9	24,2 ± 1,3	26,1 ± 1,7	23,9 ± 1,9
CD16+, %	19,7 ± 1,4	20,3 ± 1,1	19,8 ± 1,3	18,4 ± 1,2
CD25+, %	11,3 ± 0,8	18,0 ± 1,3*	18,5 ± 1,5*	13,2 ± 0,9 [^]
HLA-DR+, %	13,6 ± 0,8	18,6 ± 1,4*	16,7 ± 1,1*	13,8 ± 0,7 [^]
НСТ-тест, %	10,1 ± 0,7	12,9 ± 1,1*	16,6 ± 0,9* ^{*,#}	11,4 ± 0,9 [^]
НСТР, у. е.	1,30 ± 0,05	1,12 ± 0,03*	1,09 ± 0,03*	1,38 ± 0,09 [^]
ИАН, %	0,14 ± 0,02	0,20 ± 0,02*	0,25 ± 0,05*	0,15 ± 0,01 [^]
ИАНР, у. е.	1,32 ± 0,05	1,13 ± 0,02*	1,07 ± 0,01* ^{*,#}	1,39 ± 0,06 [^]
Ig A, мг/мл	1,63 ± 0,05	1,88 ± 0,07*	1,74 ± 0,06	1,58 ± 0,05 [^]
Ig G, мг/мл	9,7 ± 0,2	10,1 ± 0,2	10,4 ± 0,2*	10,0 ± 0,3

($p < 0,05$). Во 2-й группе по сравнению с 1-й и 3-й группами выявлено нарастание в сыворотке крови уровней С-реактивного белка на 26,3 и 25 %, TNF-α – на 15,8 и 12,2 %, растворимого рецептора к TNF-α – на 30,8 и 18,3 % соответственно. В 3-й группе установлено достоверное повышение концентрации TNF-α на 18,4 % и sTNF-α RI на 98 % по сравнению с контролем. Содержание фибриногена в сыворотке крови не превышало нормальных значений во всех группах пациентов. Провоспалительный цитокин TNF-α и его рецептор sTNF-α RI играют ключевую роль в развитии воспалительного ответа, выступая в качестве стимулятора неспецифического иммунитета. Увеличение содержания в кровотоке провоспалительного цитокина TNF-α, sTNF-α RI свидетельствует о наличии вялотекущего воспалительного процесса, развитии сис-

темной воспалительной реакции у пациентов в стадию ремиссии хронического холецистита. С другой стороны, существует точка зрения, что цитокин TNF-α является одним из адипокинов, секретируемых жировой тканью и влияющих на развитие МС [15].

Установлено изменение иммунного статуса у пациентов 1-й группы по сравнению с контролем, выражающееся в повышении количества клеток с рецепторами к CD25 на 60,7 % ($p < 0,001$) и HLA-DR на 36,4 % ($p < 0,01$) (табл. 2). Во 2-й группе нарушения в иммунной системе проявлялись снижением величины иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+ ($p < 0,001$), повышением количества цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+) по сравнению с 1-й и 3-й группами ($p < 0,05$). Уровни CD25-позитивных клеток и лимфоцитов, экспрессиру-

ющих «поздний» маркер активации HLA-DR, оставались достоверно выше, чем у пациентов 3-й группы. Учитывая данные исследований, подтверждающих, что антигены HLA II класса ассоциируются с нарушениями углеводного обмена, выявленные изменения содержания клеток HLA-DR+ у пациентов 1-й и 2-й групп могут рассматриваться как возможные механизмы развития и прогрессирования метаболического синдрома при хроническом холецистите. Повышение количества лимфоцитов с рецепторами к CD25 свидетельствует об активированном состоянии клеток иммунной системы при формировании метаболического синдрома на фоне хронического холецистита и может способствовать хронизации воспалительного процесса в организме и развитию аутоиммунных реакций на фоне Т-клеточного дефицита [7, 8, 9].

При оценке неспецифических факторов резистентности у пациентов 1-й группы выявлено снижение фагоцитарного числа и фагоцитарного резерва ($p < 0,05$), повышение метаболической активности нейтрофилов (НСТ-теста – на 27,6 %, ИАН – на 41,2 %; $p < 0,001$) на фоне снижения НСТР на 13,8 % ($p < 0,05$) и ИАНР на 14,4 % ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Аналогичные тенденции отмечены во 2-й группе. При сравнении с 1-й и 3-й группами отмечен рост показателей, отражающих активность окислительного метаболизма нейтрофилов (показатель НСТ-теста повысился на 28,6 и 31,4 %, ИАН – на 25 и 40 % соответственно) на фоне снижения их функционального резерва (НСТР и ИАНР) и фагоцитарной активности. В доступной литературе нами не обнаружено сведений об особенностях окислительного метаболизма нейтрофилов при метаболическом синдроме. По-видимому, усиление спонтанной генерации активных форм кислорода фагоцитами при хроническом холецистите и формировании метаболического синдрома имеет компенсаторный характер. Нарушения липидного обмена, прогрессирующие при метаболическом синдроме, являются дополнительной антигенной нагрузкой на организм, приводящей к истощению функциональной активности моноцитарно-макрофагального звена [4, 8].

Уровень иммуноглобулина А у пациентов 1-й группы был на 15,3 % выше, чем у здоровых людей ($p < 0,01$), что связано с воспалением в желчном пузыре (см. табл. 2). Во 2-й группе отмечали повышение содержания иммуноглобулина G по сравнению с контролем ($p < 0,05$) и иммуноглобулина А по сравнению с 3-й группой. Стимуляция гуморального иммунитета при сочетанном течении хронического холецистита

и метаболического синдрома может быть связана с гиперинсулинемией и активацией процессов перекисного окисления липидов, так как модифицированные перекиссацией и гликолизированные липопротеины являются эндогенными патогенами и способны вызывать образование иммунных комплексов [8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая представленные данные, можно заключить, что при хроническом холецистите в период ремиссии регистрируются признаки системной воспалительной реакции, которые нарастают при развитии метаболического синдрома на фоне хронического холецистита и сопровождаются повышением уровней TNF- α и sTNF- α RI. У пациентов с хроническим холециститом выявлены изменения иммунореактивности, которые проявляются пролиферацией клеток с рецепторами к CD25 и HLA-DR, гиперпродукцией IgA, усилением окислительного метаболизма нейтрофилов на фоне истощения их функционального резерва и снижения фагоцитарного числа, фагоцитарного резерва. Сочетанное течение метаболического синдрома и хронического холецистита сопровождается усилением дисбаланса в иммунной системе, связанного со снижением иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+, повышением числа цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), CD25+ и HLA-DR+, нарастанием окислительного метаболизма нейтрофилов, дальнейшим снижением их функциональных резервов и фагоцитарной активности, стимуляцией выработки IgG.

Учитывая выявленные иммунометаболические особенности, целесообразна разработка критериев прогнозирования развития метаболического синдрома при хроническом холецистите.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Корочина И.Э.* Гастроэнтерологические аспекты метаболического синдрома // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2008. (1). 26–37.
Korochina I.E. Gastroenterological aspects of metabolic syndrome (review of the literature) // Ros. zhurn. gastroenterologii, gepatologii, coloproctologii. 2008. (1). 26–37.
2. *Мараховский Ю.Х.* Желчнокаменная болезнь: современное состояние проблемы // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2003. (1). 81–92.
Marakhovskiy Yu.Kh. Cholelithiasis: state of the art of problem // Ros. zhurn. gastroenterologii, gepatologii, coloproctologii. 2003. (1). 81–92.

3. Циммерман Я.С. Хронический холецистит и его клинические маски: диагностика и дифференциальная диагностика // Клинич. медицина. 2006. (5). 4–12.

Tzimmerman Ya.S. Chronic cholecystitis and its clinical «masks»: diagnostic and differential diagnostic methods // *Klinich. meditsina.* 2006. (5). 4–12.

4. Венглинская Е.А., Парахонский А.П. Иммунологический гомеостаз у больных с гастроэнтерологической патологией // Фундаментальные исследования. 2008. (2). 31–32.

Venglinskaya Ye.A., Parachonskiy A.P. Immune system in gastroenterological pathologies patients // *Fundamental'nyye issledovaniya.* 2008. (2). 31–32.

5. Никитенко Т.М. Показатели литогенности желчи, липиды сыворотки крови и воспаление слизистой желчного пузыря у женщин с холестериновой желчнокаменной болезнью // Бюл. СО РАМН. 2006. (4). 160–163.

Nikitenko T.M. Indices of bile lithogenicity and blood serum lipids. Inflammation of gall-bladder mucous tunic in women with cholesterol cholelithiasis // *Byul. SO PAMN.* 2006. (4). 160–163.

6. Sonnenberg G.E., Krakower G.R., Kissebah A.H. Novel pathway to the manifestations of metabolic syndrome // *Obes. Res.* 2004. 12. (2). 180–186.

7. Yurenko A.V., Antonyuk M.V., Hodosova K.K., Demyunenko N.N. Immune system state in chronic cholecystitis and metabolic syndrome patients // *Eur. J. Nat. History.* 2008. (3). 48–51.

8. Гвоздь Н.Г., Пасечник А.В., Фролов В.А. и др. Патофизиологический анализ проатерогенных изменений обмена липопротеидов и углеводов, обусловленных субклиническим воспалением и оксидантным стрессом // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Серия Медицина. 2004. 25. (1). 100–102.

Gvozd' N.G., Pasechnik A.V., Frolov V.A. et al. Pathophysiological analysis of proatherogenic lipid and carbohydrate metabolism, induced subclinical inflammation and oxidative stress // *Vestn. Ros. Un-ta druzhby narodov. Seriya Meditsina.* 2004. 25. (1). 100–102.

9. Пасечник А.В., Фролов В.А., Гвоздь Н.Г. и др. Метаболическая дисрегуляция, воспаление, иммуномодуляция // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Серия Медицина. 2003. 24. (5). 113–114.

Pasechnik A.V., Frolov V.A., Gvozd' N.G. et. al. Metabolic dysregulation, inflammation and immunomodulation // *Vestn. Ros. Un-ta druzhby narodov. Seriya Meditsina.* 2003. 24. (5). 113–114.

10. Ройтберг Г.Е., Ушакова Т.И., Дорош Ж.В. Роль инсулинорезистентности в диагностике метаболического синдрома // Кардиология. 2004. (3). 94–101.

Roytberg G.Ye., Ushakova T.I., Dorosh Zh.V. Role of insulin resistance in diagnostics of metabolic syndrome // *Kardiologiya.* 2004. (3). 94–101.

11. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «перекисное окисление липидов–антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2003. 80 с.

Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yan'kova V.I. Manual methods studies parameter systems «lipid peroxidation – antioxidant protection» in biological liquid. Vladivostok: Publish. by the Far Eastern Federal University, 2003. 80 p.

12. Новиков П.Д., Новиков Д.К. Сравнительная характеристика современных методов иммунофенотипирования лимфоцитов // Иммунология, аллергология, инфектология. 2000. (1). 62–66.

Novikov P.D., Novikov D.K. The comparative characteristic of modern methods the immune phenotype of lymphocytes // *Immunologiya, allergologiya, infectologiya.* 2000. (1). 62–66.

13. Маянский Д.Н., Щербаков В.И., Макарова О.П. Комплексная оценка функции фагоцитов при воспалительных заболеваниях: методич. рекомендации. Новосибирск, 1988. 24 с.

Mayanskij D.N., Cherbakov V.I., Makarova O.P. Complex an estimation of function of phagocytes at inflammatory diseases: methodical recommendations. Novosibirsk, 1988. 24 p.

14. Шмелев Е.В., Бумагина Г.К., Митеров П.П. Модификация метода Park // Лаб. дело. 1979. (9). 13–15.

Shmelev E.V., Bumagin G.K., Miterov P.P. Modification of the method Park // *Lab. delo.* 1979. (9). 13–15.

15. Finegood D.T. Obesity, inflammation and type II diabetes // *Int. J. Obesity Relat. Metab. Disord.* 2003. (27). 4–5.

IMMUNOMETABOLIC PECULIARITIES OF THE COMORBID COURSE OF THE CHRONIC CHOLECYSTITIS AND METABOLIC SYNDROME

**Alla Valentinovna YURENKO, Marina Vladimirovna ANTONYUK,
Natal'ya Borisovna DEM'YANENKO, Olga Borisovna SHCHEDRINA**

*Vladivostok Affiliation of the Far Eastern Research Center of Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation
690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g*

Present research is aimed at study of the immunometabolic peculiarities of the comorbid chronic cholecystitis and metabolic syndrome. Totally 127 patients with chronic cholecystitis were examined, 77 patients had metabolic syndrome. The peculiarity of the comorbid metabolic syndrome and chronic cholecystitis is a hyperactivity of the systemic inflammation, which is reflected in increase of the production of TNF- α proinflammatory cytokine, TNF- α soluble receptor and evident changes in all components of the immune system.

Key words: chronic cholecystitis, metabolic syndrome, cytokines, immunity.

Yurenko A.V. – head of the therapeutic department, e-mail: yurenko_alla@mail.ru

Antonyuk M.V. – doctor of medical sciences, head of the laboratory for rehabilitative treatment, e-mail: antonyukm@mail.ru

Dem'yanenko N.B. – doctor-laboratory assistant of the clinical-diagnostic laboratory, e-mail: vfdnz@mail.ru

Shchedrina O.B. – doctor-laboratory assistant of the clinical-diagnostic laboratory, e-mail: vfdnz@mail.ru

ЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕПТИНУ И АДИПОНЕКТИНУ В КОЖЕ И МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ПИТАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ХОБЛ

Екатерина Викторовна БУРЦЕВА, Вера Афанасьевна НЕВЗОРОВА,
Июсса Валерьевна ДЮЙЗЕН, Евгений Анатольевич КОЦЮРБИЙ

ГБОУ ВПО Владивостокский государственный медицинский университет Минздрава России РФ
690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

Исследована иммуноцитохимическая локализация рецепторов к лептину и адипонектину в тканях, полученных путем чрескожной тонкоигольной биопсии бедра, у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) с проявлениями питательной недостаточности. Обследовано 60 пациентов с I, II, III стадиями ХОБЛ и 20 здоровых добровольцев. Выявлено, что у здоровых людей рецепторы к адипокинам присутствуют в клетках кожи, подкожно-жировой клетчатке, сосудов, поперечнополосатой мускулатуры. Напротив, при ХОБЛ сигналы к адипокинам исчезают в мышечной ткани, рецепторная активность к лептину становится достоверно ниже, а к адипонектину – достоверно выше в прочих тканях бедра ($p < 0,05$). Дисбаланс в локализации рецепторов к адипокинам может свидетельствовать об их участии в развитии питательной недостаточности при ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, питательная недостаточность, рецепторы к лептину и адипонектину, мышечная ткань, кожа.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире. В связи с изменяющейся экологией, большим количеством курящих людей и старением населения прогнозируется рост смертности от данного заболевания [7]. Помимо диагностического важного критерия постановки диагноза ХОБЛ в виде прогрессирующего и частично необратимого ограничения воздушного потока для заболевания характерны системные проявления в виде аномальной композиции тела, дисфункции скелетных мышц (гипотрофии и атрофии скелетных мышц), нарушений сердечно-сосудистой и нервной систем, остеопороза и анемии [1, 2, 4, 6]. Особое место среди системных проявлений ХОБЛ занимает питательная недостаточность, фенотипическим проявлением которой является потеря мышечной массы. В ряду причин ее развития выделяют хроническое системное воспаление, увеличение работы дыхательной мускулатуры, повышение расхода энергии покоя в сочетании с недостаточным потреблением питательных веществ из-за тяжести основного заболевания и прогрессирования депрессии [2,

3, 5, 6]. Активно обсуждается роль процессов обмена адипокинов, лептина и адипонектина в патогенезе питательной недостаточности [3].

Механизм действия лептина связан с контролем процесса насыщения, получения удовлетворения от приема пищи. Гормон подает сигнал в гипоталамус через активацию специфических лептиновых рецепторов, локализованных в периферических тканях [3, 5, 8]. Курение, которое сопровождается развитием гиперadrenergического состояния, может способствовать снижению уровня лептина [3]. В отличие от лептина, адипонектин вовлечен в процессы глюконеогенеза, апоптоза, катаболизма жиров, развития эндотелиальной дисфункции, инсулинорезистентности и повышения массы тела. Установлены его противовоспалительные, антиатерогенные и антиоксидантные свойства [3, 8]. Адипонектин реализует свои эффекты через специфические рецепторы – Adipo1 и AdipoR2, первый из которых преимущественно локализован в тканях кожи, подкожной жировой клетчатке и поперечнополосатой мускулатуре и доступен для исследования [8].

В литературе присутствуют единичные данные о локализации рецепторов адипокинов в

Бурцева Е.В. – аспирант, e-mail:katriness@list.ru

Невзорова В.А. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии

Дюйзен И.В. – д.м.н., руководитель ЦНИЛ

Коцюрбий Е.А. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии

коже и мышечной ткани, что определяет актуальность проведенного исследования.

Цель исследования – определить локализацию рецепторов к лептину и адипонектину в клетках кожи и мышечной ткани при проявлениях питательной недостаточности у пациентов с ХОБЛ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 60 пациентов с фенотипическими проявлениями европейской расы, проживающие на территории Приморского края более 15 лет, в возрасте $63 \pm 2,1$ года, находившиеся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении Городской клинической больницы № 1 и аллергореспираторном центре г. Владивостока в течение 2009–2010 гг. с диагнозом ХОБЛ (общая группа). Все больные были проинформированы о проведении исследования в полном объеме и дали информированное согласие на участие в нем. Контрольную группу составили 10 здоровых некурящих добровольцев, 8 мужчин и 2 женщины в возрасте $59 \pm 1,75$ года, не являющиеся родственниками лиц основной группы. Критериями исключения были бронхиальная астма, инфаркт миокарда, инсульт и другие тяжелые заболевания, злоупотребление алкоголем и наркотическими препаратами, старческий возраст, неспособность понять цели и задачи исследования, отказ от участия в исследовании. Для диагностики стадии ХОБЛ использовались рекомендации международной классификации GOLD 2008 г. [1]. Все обследованные пациенты на основании показателей постбронходилатационного теста ОФВ1 были разделены на 3 группы: I группа – 20 пациентов с ХОБЛ I стадии (ОФВ1 = $85 \pm 1,3$), II группа – 20 человек с ХОБЛ II стадии (ОФВ1 = $65 \pm 1,8$), III группа – 20 человек с ХОБЛ III стадии (ОФВ1 = $40 \pm 1,5$).

Для оценки питательной недостаточности были использованы методы анкетирования, антропометрических измерений и вычислений индекса массы тела (ИМТ), тощей массы тела

(ТМТ), окружности плеча, окружности мышц плеча, толщины кожно-жировой складки над трицепсом с помощью каллиперометрии.

Забор материала для гистологического и иммунофлуоресцентного исследования осуществляли посредством чрескожной тонкоигольной биопсии с использованием автоматической тонкоигольной биопсийной системы MAGNUM («Burd», Германия) и одноразовых стерильных игл с глубиной проникновения 22 мм. Забор биоптата проводился в анатомической проекции четырехглавой мышцы бедра. Материал фиксировался в течение 4 часов в 4%-м растворе забуферного параформальдегида. Для первичной регистрации и визуализации препарата использовалась стандартная окраска гематоксилином и эозином. В полученной биопсии были выявлены: кожа, подкожная соединительная ткань, включая подкожно-жировую клетчатку, мышечная ткань (поперечнополосатая мускулатура).

Для проведения иммунофлуоресцентной диагностики рецепторов лептина и адипонектина в клетках полученных биоптатов использовались первичные поликлональные кроличьи антитела: к рецептору адипонектина типа I (sc-99183, Santa Cruz Biotechnology, США), к рецептору лептина (1:100, ab60042, Abcam, Великобритания), и вторичные антитела Goat Anti-Rabbit IgG (H&L), DyLight 488 Conjugated (1:200, № 35552, Thermo Scientific, США). Иммунофлуоресцентное окрашивание выполнялось по общепринятой методике в соответствии с инструкциями фирм-изготовителей реактивов. Докраску ядер проводили DAPI (16:8000) в течение 1 мин. Окрашенные образцы исследовали на микроскопе Zeiss Axio Scope A1 с системой освещения Colibri, оснащенном цифровой камерой AxioCam MRc (Германия). В работе применялся набор фильтров с длиной волны 350 нм (для DAPI) и 488 нм (для FITC). Полученное изображение обрабатывалось в программе AxioVision LE V4.8.1.0. Для интерпретации полученных результатов использовали руководство по подсчету сигналов, предложенное компани-

Таблица

Соотношение ИМТ и ТМТ у пациентов с ХОБЛ

Показатель нутритивного статуса	Группа обследованных лиц				
	Группа контроля	Общая группа	ХОБЛ I стадии	ХОБЛ II стадии	ХОБЛ III стадии
ИМТ	$23,2 \pm 0,4$	$20,35 \pm 0,8$	$22,25 \pm 1,2$	$19,85 \pm 0,7$	$18,6 \pm 1,4$
ТМТ	$82,0 \pm 1,9$	$72,2 \pm 1,3^*$	$75,5 \pm 1,1^*$	$70,1 \pm 0,9^{* \#}$	$63,6 \pm 1,3^{* \# \&}$

Примечание. Статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от величины соответствующего показателя: * – группы контроля, # – пациентов с I стадией ХОБЛ, & – пациентов со II стадией ХОБЛ.

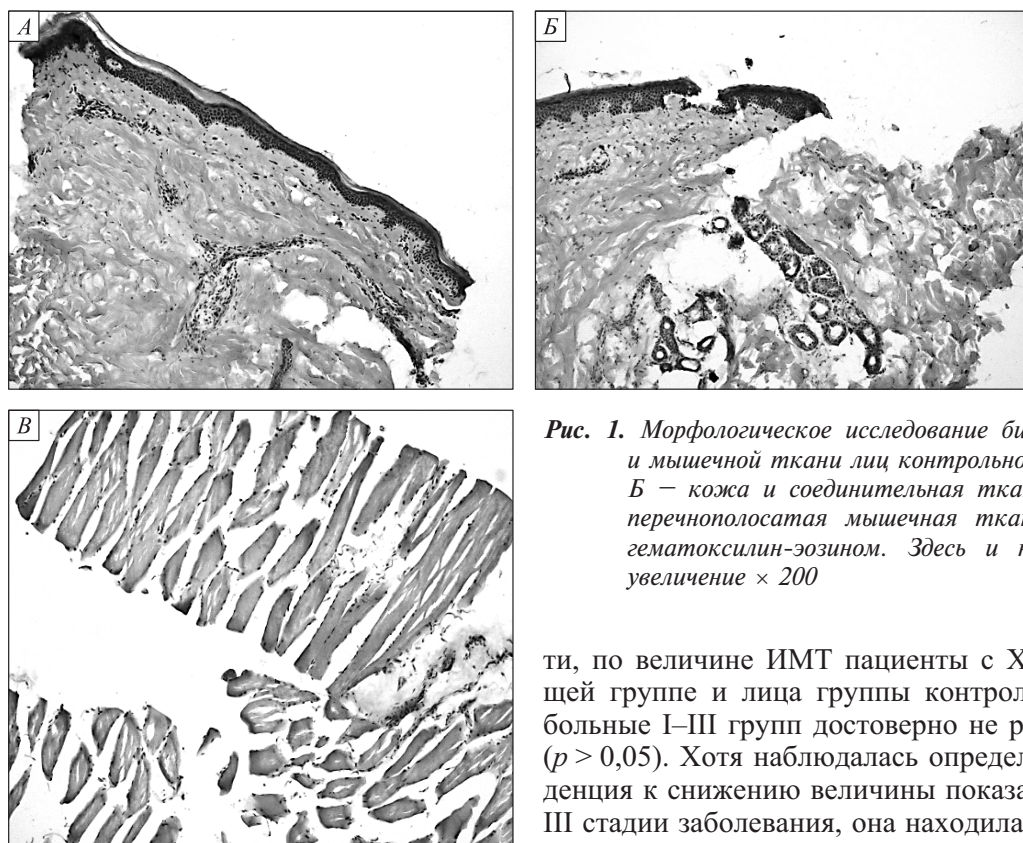


Рис. 1. Морфологическое исследование биопсии кожи и мышечной ткани лиц контрольной группы: А, Б – кожа и соединительная ткань; В – поперечнополосатая мышечная ткань. Окраска гематоксилин-эозином. Здесь и на рис. 2–5 увеличение $\times 200$

ей Dako (Дания), – DakoCytomation. Учитывая объем материала, подсчет меченых структур проводился в трех полях зрения. Положительная экспрессия метки наблюдалась в цитоплазме и на мембране клеток.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m) и представляя в виде $M \pm m$. Различия между двумя независимыми группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни, достоверными считались результаты при $p < 0,05$. Анализ взаимосвязей проводился непараметрическим методом корреляционного анализа Спирмена с вычислением ошибки коэффициента корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов общей группы были установлены следующие антропометрические данные: средний рост $165 \pm 1,2$ см, средний вес $59 \pm 2,5$ кг. Индекс курящего человека (количество выкуренных в день сигарет \times число месяцев в году, которые человек курил) составил $33 \pm 2,3$, стаж курения – $30 \pm 3,3$ года, что свидетельствует о высокой степени никотин-ассоциированного риска.

Согласно представленным в таблице результатам оценки питательной недостаточнос-

ти, по величине ИМТ пациенты с ХОБЛ в общей группе и лица группы контроля, а также больные I–III групп достоверно не различались ($p > 0,05$). Хотя наблюдалась определенная тенденция к снижению величины показателя от I к III стадии заболевания, она находилась в пределах референсных значений для здоровых людей (ИМТ $> 18,5$).

Напротив, ТМТ у всех пациентов ХОБЛ в общей группе была меньше, чем в группе контроля ($p < 0,005$). Результаты анализа значений ТМТ в зависимости от стадии ХОБЛ продемонстрировали, что потеря ТМТ происходит уже при I стадии ХОБЛ, становясь достоверно ниже, чем в контроле ($p < 0,05$). При II и III стадиях ХОБЛ величина ТМТ уменьшается еще значительно, достигая минимальных результа-



Рис. 2. Рецепторы к лептину в коже и мышечной ткани группы контроля (здесь и на рис. 3–5 иммунофлуоресцентное исследование; а – положительная экспрессия метки)

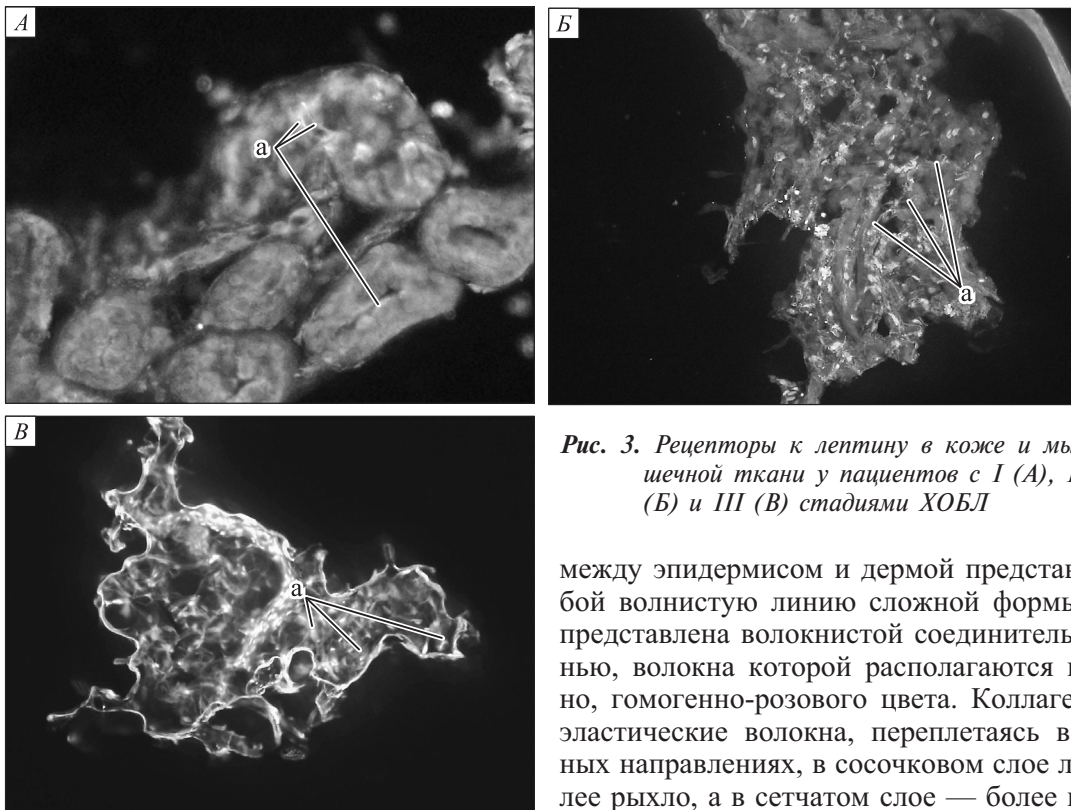


Рис. 3. Рецепторы к лептину в коже и мышечной ткани у пациентов с I (А), II (Б) и III (В) стадиями ХОБЛ

тов при III стадии заболевания ($p < 0,05$) и становясь ниже, чем у пациентов с I и II стадией ХОБЛ ($p < 0,05$). При этом, в отличие от ИМТ, находящегося в пределах референсного интервала для здоровых лиц ($18,5\text{--}25 \text{ кг/м}^2$) при всех стадиях ХОБЛ, ТМТ при III стадии заболевания не достигает порога рекомендованных значений и становится ниже 70 %.

Таким образом, более значимым показателем оценки питательной недостаточности при ХОБЛ является изменение ТМТ.

Согласно проведенному корреляционному анализу установлена прямая умеренная связь между ТМТ и ОФВ1, основным спирометрическим показателем стадии ХОБЛ ($r = 0,40; p < 0,001$). Так как с уменьшением величины ОФВ1 стадия ХОБЛ увеличивается, можно сделать вывод, что прогрессирование заболевания влияет на показатель ТМТ, который, соответственно, снижается. Для уточнения степени питательной недостаточности и исследования локализации рецепторов к адипокинам проведена оценка полученного биологического материала (рис. 1).

Во всех исследованных образцах тканей кожи, подкожной жировой клетчатки и поперечнополосатой мускулатуры признаков патологических изменений не обнаружено. В эпидермисе хорошо различимы пять слоев клеток, в каждом из которых кератиноциты находятся в различной стадии дифференцировки. Граница

между эпидермисом и дермой представляет собой волнистую линию сложной формы. Дерма представлена волокнистой соединительной тканью, волокна которой располагаются компактно, гомогенно-розового цвета. Коллагеновые и эластические волокна, переплетаясь в различных направлениях, в сосочковом слое лежат более рыхло, а в сетчатом слое — более компактными пучками, толще и грубее. Среди соединительнотканых волокон сетчатого слоя сосуды в форме «штрихов» в массе своей без содержания. Вокруг капилляров сосудов то более тонкие, то более толстые соединительнотканые волокна образуют непосредственно около эндотелия окаймляющую капилляр муфту. Сальные железы единичные, обычного гистологического строения — в секреторных отделах сальных желез железистые клетки расположены в несколько слоев. Мышечные волокна в виде разрозненно лежащих волокон с гомогенной розовой цитоплазмой и эксцентрично расположенными ядрами.

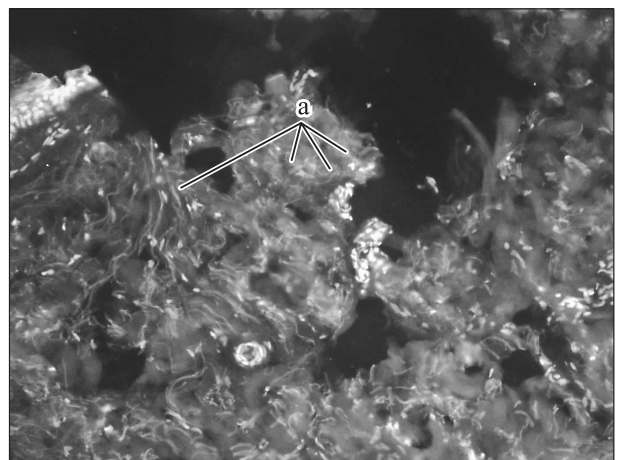


Рис. 4. Рецепторы к адипонектину типа I в коже и мышечной ткани группы контроля

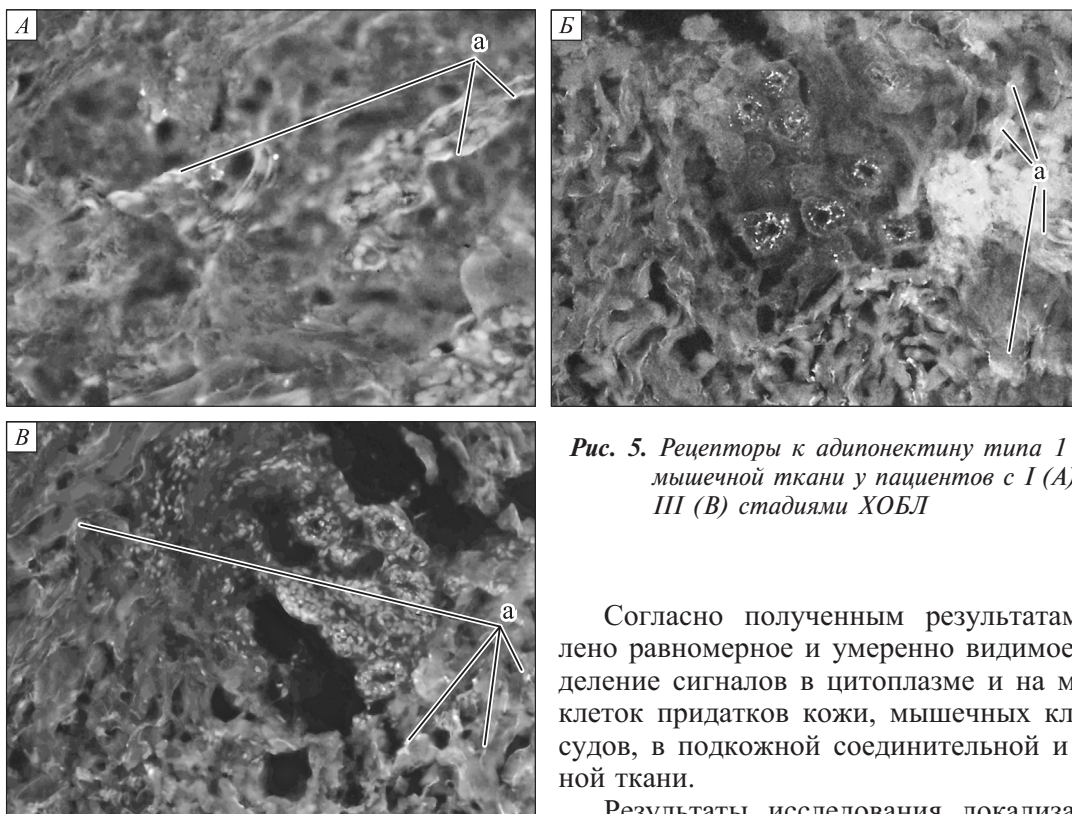


Рис. 5. Рецепторы к адипонектину типа 1 в коже и мышечной ткани у пациентов с I (А), II (Б) и III (В) стадиями ХОБЛ

Результаты иммуноцитохимического исследования локализации рецепторов в коже, соединительной и мышечной ткани к лептину здоровых людей представлены на рис. 2.

В тканях пациентов контрольной группы положительная иммуноцитохимическая реакция обнаруживается в цитоплазме и на мембране клеток сальных и потовых желез, соединительной и мышечной ткани. У здоровых людей получено большое количество сигналов, что свидетельствует о высоком уровне экспрессии гормона лептина.

Результаты исследования рецепторной активности клеток к лептину в коже и мышечной ткани у пациентов с I, II и III стадиями ХОБЛ представлены на рис. 3.

В биоптатах наблюдается положительная экспрессия антител к лептину в клетках кожи и соединительной ткани. Для клеток мышечной ткани, вне зависимости от стадии заболевания, характерно исчезновение иммунопозитивной окраски. В структурах кожи и подкожной соединительной ткани отмечено уменьшение количества сигналов по мере увеличения стадии ХОБЛ, что свидетельствует о снижении экспрессии гормона. У здоровых пациентов рецепторы к адипонектину регистрируются в мышечной ткани, коже и соединительной ткани (рис. 4).

Согласно полученным результатам, выявлено равномерное и умеренно видимое распределение сигналов в цитоплазме и на мембране клеток придатков кожи, мышечных клеток сосудов, в подкожной соединительной и мышечной ткани.

Результаты исследования локализации рецепторов к адипонектину типа 1 в коже и мышечной ткани у пациентов с I, II и III стадиями ХОБЛ представлены на рис. 5.

В отличие от рецепторной активности клеток к лептину, количество сигналов к рецепторам к адипонектину увеличивается по мере возрастания стадии ХОБЛ. Очевидно, что при ХОБЛ повышается экспрессия гормона в коже и в мышечной ткани.

ВЫВОДЫ

1. Для ХОБЛ характерно развитие питательной недостаточности, фенотипическим проявлением которой является потеря мышечной массы тела даже при нормальном индексе массы тела. Потеря тощей массы тела, мышечного компонента организма, наблюдается при I стадии ХОБЛ и нарастает к III стадии заболевания.

2. У здоровых лиц присутствуют сигналы к адипокинам в коже, подкожно-жировой клетчатке и поперечнополосатой мускулатуре.

3. Для ХОБЛ характерен дисбаланс в локализации рецепторов к лептину в виде уменьшения сигналов в коже, подкожной жировой клетчатке и их исчезновения в мышечной ткани, зависящий от стадии заболевания и наиболее выраженный при III стадии ХОБЛ.

4. Для ХОБЛ характерно повышение рецепторной активности клеток к адипокину в коже и поперечнополосатой мускулатуре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких как системное заболевание // Пульмонология. 2007. (2). 27–30.
Avdeev S.N. Chronic obstructive pulmonary disease as the systemic disease // Pulmologiya. 2007. (2). 27–30.
2. Невзорова В.А., Бархатова Д.А. Системное воспаление и состояние скелетной мускулатуры больных ХОБЛ // Тер. архив. 2008. (80). 85–90.
Nevezorova V.A., Barkhatova D.A. Systemic inflammation and state of the skeleton musculature of patients under chronic obstructive pulmonary disease // Ter. arkhiv. 2008. (80). 85–90.
3. Невзорова В.А., Бархатова Д.А. Содержание адипокинов (лептина и адипонектина) в сыворотке крови при различном состоянии питательного статуса пациентов ХОБЛ // Сб. тр. XVIII Нац. конгр. по болезням органов дыхания. Екатеринбург, 2008. 284–286.
Nevezorova V.A., Barkhatova D.A. Content of adipokines (leptin and adiponectin) in blood serum in different state of nutrient status of patients under chronic obstructive pulmonary disease // Collected papers of XVIII National congress concerning respiratory apparatus diseases. Ekaterinburg, 2008. 284–286.
4. Невзорова В.А., Бархатова Д.А., Пестрикова Т.Л. и др. Особенности течения обострения ХОБЛ в зависимости от характера возбудителя и активности системного воспаления // Бюл. физиологии и патологии дыхания. 2006. (23). 25–30.
Nevezorova V.A., Barkhatova D.A., Pestrikova T.L. et al. The course of COPD exacerbations, depending on the nature of the pathogen and the activity of systemic inflammation // Byul. fiziologii i patologii dykhaniya. 2006. (23). 25–30.
5. Рудмен Д. Оценка состояния питания // Внутренние болезни. М.: Медицина, 1993. 2. 377–385.
Rudmen D. The assessment of nutrition // Internal diseases. M.: Meditsina, 1993. 2. 377–385.
6. Bernard S., LeBlanc P., Whittom F. et al. Peripheral muscle weakness in patients with chronic obstructive pulmonary disease // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 1998. 158. 629–634.
7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Last updated 2008. www.goldcopd.org/.
8. Zhang J., Holt H., Wang C. et al. Expression of AdipoR1 *in vivo* in skeletal muscle is independently associated with measures of truncal obesity in middle-aged Caucasian men // Diabetes Care. 2005. 28. 2058–2060.

LOCALIZATION OF THE RECEPTORS TO LEPTIN AND ADIPONECTIN IN SKIN AND MUSCULAR TISSUE UNDER NUTRIENT DEFICIENCY OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

**Yekaterina Viktorovna BURTSEVA, Vera Afanasievna NEVZOROVA,
Inessa Valerievna DYUIZEN, Evgeniy Anatolievich KOTSYURBIY**

*Vladivostok State Medical University
690002, Vladivostok, Ostryakov st., 2*

The immunocytochemical localization of leptin and adiponectin receptors in cells of skin, subcutaneous fat and muscular tissue, obtained through percutaneous thin needle biopsy of thigh of patients with chronic obstructive pulmonary disease with presentation of nutrient deficiency has been investigated. The 60 patients with chronic obstructive pulmonary disease of I, II, III stages and 20 healthy volunteers have been examined. It has been revealed that the receptors to adiponectin and leptin are presented in cells of skin, subcutaneous fat, vessels and cross-striated muscles of healthy volunteers. Contrariwise, the signals to adiponectin disappear in muscular tissue under chronic obstructive pulmonary disease, contrary to healthy target group; receptor activity to leptin significantly increases, and to adiponectin significantly decreases in other thigh tissues ($p < 0.005$). The imbalance in localization of receptors to adiponectins can be the indication of their participation in the development of nutrient deficiency under chronic obstructive pulmonary disease.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, nutrient deficiency, receptors to leptin and adiponectin, muscular tissue, skin.

Burtseva Ye.V. – postgraduate student, e-mail:katriness@list.ru

Nevezorova V.A. – doctor of medical sciences, professor, head of therapy department

Dyuzhen I.V. – doctor of medical sciences, head of Central research laboratory

Kotsyurbiy E.A. – candidate of medical sciences, assistant professor of pathologic anatomy department

ВЛИЯНИЕ НУТРИТИВНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ НА КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВО У ПАЦИЕНТОВ С ПРИОБРЕТЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

**Анна Игоревна СУББОТОВСКАЯ, Любовь Георгиевна КНЯЗЬКОВА,
Анна Николаевна ШИЛОВА, Владимир Владимирович ЛОМИВОРОТОВ,
Антон Павлович СУББОТОВСКИЙ, Давид Сергеевич СЕРГЕЕВИЧЕВ,
Сергей Михайлович ЕФРЕМОВ**

*ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения
имени академика Е.Н. Мешалкина» Росмедтехнологий
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15*

Цель исследования: изучить влияние нутритивной недостаточности на индуцированную кардиохирургическим вмешательством гормональную реакцию у пациентов с приобретенными пороками сердца. Материал и методы: 123 пациента, оперированные в условиях искусственного кровообращения в связи с коррекцией приобретенного порока сердца. На трех исследуемых этапах (исходно, в конце операции, 1-е сутки после операции) определяли сывороточную концентрацию альбумина, абсолютное количество лимфоцитов, содержание кортизола, инсулина. Результаты и обсуждение: У пациентов с приобретенными пороками сердца с исходной концентрацией сывороточного альбумина менее 40 г/л не обнаружено классической реакции на кардиохирургическое вмешательство в виде увеличения уровня кортизола к концу операции и кортизола и инсулина в 1-е сутки послеоперационного периода, что свидетельствует об истощении компенсаторных механизмов.

Ключевые слова: приобретенные пороки сердца, нутритивная недостаточность, кортизол, инсулин.

По данным ВОЗ в России в 2008 г. от патологии сердечно-сосудистой системы умерло 226 300 человек, из них 124 300 – от ишемической болезни сердца и 13 300 – от ревматических и воспалительных заболеваний сердца. Увеличение хирургических вмешательств вызывает необходимость разработки новых протоколов по ведению пациентов. Было отмечено, что риск развития послеоперационных осложнений выше у пациентов, имеющих признаки нутритивной недостаточности до оперативного вмешательства [3, 4, 12]. Общепринятыми мар-

керами нутритивного статуса являются сывороточный уровень альбумина, абсолютное количество лимфоцитов и индекс массы тела [8, 10].

Отмечено, что при хронической сердечной недостаточности происходит дисбаланс процессов анаболизма и катаболизма со смещением равновесия в сторону увеличения интенсивности процессов распада [14, 16]. Таким образом, актуально изучение влияния нутритивной недостаточности на индуцированную кардиохирургическим вмешательством гормональную

Субботовская А.И. – младший научный сотрудник группы клинической иммунологии лаборатории клинико-биохимических исследований, e-mail: rubanova_ai@mail.ru

Князькова Л.Г. – к.б.н., ведущий научный сотрудник биохимической группы лаборатории клинико-биохимических исследований, e-mail: klg5151@mail.ru

*Шилова А.Н. – д.м.н., зав. лабораторией клинико-биохимических исследований,
e-mail: shilovaanna77@mail.ru*

*Ломиворотов В.В. – д.м.н., проф., зав. лабораторией анестезиологии и реаниматологии,
e-mail: vvlom@mail.ru*

*Субботовский А.П. – ординатор лаборатории анестезиологии и реаниматологии,
e-mail: subbotovsky_ap@mail.ru*

*Сергеевичев Д.С. – к.б.н., зав. лабораторией экспериментальной хирургии и морфологии,
e-mail: d_sergeevichev@nricr.ru*

*Ефремов С.М. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории анестезиологии и реаниматологии,
e-mail: sergefremov@mail.ru*

реакцию у пациентов с приобретенными пороками сердца.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 123 пациента, которым проводились плановые операции по хирургической коррекции приобретенного порока сердца (ППС) в условиях искусственного кровообращения. Хирургическая тактика и анестезиологическое обеспечение были выбраны в соответствии с клинической картиной заболевания в каждом случае. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. Для исследования у пациентов забиралась кровь на трех этапах: исходно при поступлении в стационар, в момент окончания кардиохирургического вмешательства, на 1-е сутки послеоперационного периода.

Наиболее частой причиной формирования приобретенного порока сердца в исследуемой группе являлась хроническая ревматическая болезнь сердца (71,6 % (88) случаев). Поражение клапанов сердца наблюдалось в результате дегенеративных изменений у 20 пациентов (16,3 %), синдрома дисплазии соединительной ткани – у 9 (7,3 %), после предшествующей коррекции врожденного порока – у 3 (2,4 %), в ходе прогрессирования ишемической болезни сердца – у 3 (2,4 %).

Поражение митрального клапана наблюдалось у 85 (69,1 %) обследованных пациентов, причем изолированная патология составила 29,4 % (25 случаев), в сочетании с поражением трикуспидального клапана – 55,3 % (47 случаев), аортального клапана – 15,3 % (13 случаев). У 46 пациентов (35,8 %) выявлено поражение аортального клапана, причем преобладала изолированная патология (30 случаев, 68,2 %), у 9 пациентов (15,9 %) зарегистрирована сочетанная аортально-митральная патология, у 3 (6,8 %) – аортально-трикуспидальная, у 4 (9,1 %) – 3-клапанное поражение. Изолированная коррекция приобретенного порока трикуспидального клапана потребовалась в двух случаях, что составило 1,6 % от общего числа хирургических вмешательств. В 43,9 % (54) случаев поражение трикуспидального клапана сочеталось с преобладающим поражением митрального и/или аортального клапана.

В исследуемой группе сердечная недостаточность I функционального класса по NYHA регистрировалась у 12 пациентов (9,8 %), IIА – у 94 пациентов (76,4 %), IIБ – у 16 больных (13,0 %).

Длительность госпитализации до кардиохирургического вмешательства составила от 1 до 3 дней. Продолжительность искусственного кровообращения составила 98,0 мин (75,5:133,5) (здесь и далее представлены медиана и межквартильный диапазон). Перфузия длительностью более 2 ч имела место у 38 (30,8 %) пациентов. Время окклюзии аорты составило 75,0 мин (53,0:102,0). Искусственная вентиляция легких после операции продолжалась в течение 8,0 ч (5,0:11,5). Время пребывания в послеоперационной палате составило в среднем от 2 до 3 суток; время госпитализации после операции – 20,0 суток (17,0:27,0).

Для оценки нутритивного статуса использовали концентрацию альбумина в сыворотке и абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови. Сывороточную концентрацию альбумина определяли методом с бромкрезоловым зеленым согласно инструкции к тест-системе «Альбумин-Ново» (Вектор-Бест, Россия) на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 60 Prime (ThermoFisher Scientific, Финляндия). Абсолютное количество лимфоцитов исследовали на гематологическом анализаторе Sysmex XT-1800i (Япония).

Нами были исследовано содержание основных катаболического (кортизола) и анаболического (инсулина) гормонов в группах пациентов с признаками нутритивной недостаточности и без нее, оцениваемой по двум лабораторным признакам: сывороточному уровню альбумина (группа Ia < 40 г/л, группа IIa ≥ 40 г/л) и абсолютному количеству лимфоцитов в периферической крови (группа Ib < 1,5 × 10⁹/л, группа IIb ≥ 1,5 × 10⁹/л). Сывороточную концентрацию кортизола и инсулина определяли с использованием коммерческих тест-систем для автоматического иммунохемилюминесцентного анализатора Architect i2000SR (Abbott, США).

Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения по критерию Шапиро–Вилка. Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали критерии Манна–Уитни для независимых выборок и Вилкоксона для зависимых. Взаимосвязь между показателями определяли с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что исходный уровень кортизола в группах с при-

Таблица 1

Динамика уровня кортизола (нмоль/л) в сыворотке крови больных до и после хирургической коррекции ППС, Ме (Q_{25} : Q_{75})

Группа обследованных	Исходно	Конец операции	1-е сутки после операции	<i>p</i>
Пациенты с лабораторными признаками нутритивной недостаточности:				
группа Ia	415,50 (285,25:546,42)	711,41 (344,30:1646,92)	741,00 (365,00:1700,03)	> 0,05
группа Ib	457,92 (358,00:608,18)	887,23** (681,81:1617,38)	1080,00* (439,48:1393,66)	0,005
Пациенты без лабораторных признаков нутритивной недостаточности:				
группа IIa	471,50 (342,75:667,73)	1023,75*** (703,50:1646,85)	1009,84*** (565,75:1596,47)	< 0,001
группа IIб	466,19 (318,75:667,73)	1036,77*** (691,02:1665,28)	935,12*** (532,31:1640,85)	< 0,001

Примечание: Здесь и в табл. 2 Ме – медиана, Q_{25} – нижний квартиль, Q_{75} – верхний квартиль; *p* – достоверность различий между группами по критерию Фридмана; отличие от исходной величины соответствующего показателя достоверно по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

знаками нутритивной недостаточности и без нее достоверно не различался (табл. 1), но следует отметить, что у пациентов с сывороточным уровнем альбумина менее 40 г/л не было зафиксировано классической реакции на кардиохирургическое вмешательство в виде 1,5–2-кратного увеличения концентрации кортизола в циркулирующем кровотоке, которая является стресс-нормой у кардиохирургических пациентов [1, 2, 6, 7, 9, 13]. При этом при делении пациентов с приобретенными пороками сердца на группы в зависимости от абсолютного количества лимфоцитов в периферической крови отмечалось 1,5-кратное повышение содержания кортизола к концу оперативного вмешательства как в группе IIa, так и в группе IIб (см. табл. 1).

Хирургическое вмешательство в условиях искусственного кровообращения оказывает мощное стрессорное воздействие, так как наряду с нарушением целостности покровов организма использование методики искусственного кровообращения является независимым фактором агрессии. Согласно теории стресса Г. Селье [15], после действия повреждающего фактора наступает фаза тревоги, характеризующаяся активацией надпочечников и быстрым выбросом в циркулирующий кровоток катехоламинов. Пролонгированное воздействие стрессорного фактора характеризуется увеличением содержания в крови глюкокортикоидов и формированием стадии резистентности, в которой организм максимально мобилизует компенсаторно-приспособительные механизмы. При не-

возможности устранения действия раздражающего фактора происходит срыв компенсаторных механизмов и наступление фазы истощения, в которой организм не способен адекватно отвечать на стимулирующее воздействие [14].

Таким образом, сохранение глюкокортикоидной реакции свидетельствует о функционировании компенсаторно-приспособительных механизмов, что, безусловно, является благоприятным фактором для течения послеоперационного периода. Так, в ходе нашего исследования было выявлено, что при снижении абсолютного количества лимфоцитов менее $1,5 \times 10^9$ /л глюкокортикоидная реакция сохранена, что означает функционирование у таких пациентов компенсаторно-приспособительных механизмов. В то же время у пациентов с сывороточным уровнем альбумина менее 40 г/л не наблюдалось повышения концентрации кортизола после кардиохирургического вмешательства, что свидетельствует в пользу того, что эти пациенты находятся в фазе истощения, не способны адекватно реагировать на стрессорное воздействие хирургической травмы и имеют повышенный риск развития послеоперационных осложнений.

Противоположностью кортизолу, который считается основным катаболическим гормоном, является инсулин, обладающий выраженным анаболическим эффектом. Основная функция инсулина в организме – регуляция сывороточного уровня глюкозы в крови, в основе этого лежит необходимость в первоочередном обес-

Динамика уровня инсулина (мкЕД/л) в сыворотке крови больных до и после хирургической коррекции ППС, Ме (Q_{25} : Q_{75})

Группа обследованных	Исходно	Конец операции	1-е сутки после операции	<i>p</i>
Пациенты с лабораторными признаками нутритивной недостаточности:				
группа Ia	5,40 (3,97: 9,78)	3,57 (1,70: 10,30)	11,48 (5,30: 54,45)	> 0,05
группа Ib	6,87 (4,50: 11,42)	5,15 (2,64: 9,00)	22,31* (6,42: 43,50)	< 0,05
Пациенты без лабораторных признаков нутритивной недостаточности:				
группа IIa	8,10 (4,81:11,14)	6,12*** (3,64:10,33)	15,55### (8,93:29,65)	< 0,001
группа IIb	8,03 (4,78:11,14)	6,03*** (3,59:10,37)	15,08### (8,93:28,33)	< 0,001

Примечание: ### – отличие от величины соответствующего показателя в конце операции достоверно по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони при $p < 0,001$.

печени глюкозой так называемых инсулиннезависимых органов, в частности мозга. Кроме влияния на углеводный обмен, для инсулина описан выраженный стимулирующий эффект на процессы синтеза специфичных для данного организма белковых молекул. Исходя из гипотезы о дисбалансе анаболизма и катаболизма при сердечно-сосудистой патологии, нами была предпринята попытка изучения концентрации инсулина в сыворотке пациентов с признаками нутритивной недостаточности и без нее.

В нашем исследовании статистически значимых различий в исходном содержании инсулина в сыворотке пациентов с признаками нутритивной недостаточности и без нее обнаружено не было (табл. 2). В ряде исследований показано, что при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения к концу оперативного вмешательства происходит снижение концентрации инсулина, что связывают с выраженным контринсулярным действием катехоламинов [5, 17], а также со снижением содержания ионов кальция в результате искусственного кровообращения [6, 11, 18]. К первым суткам послеоперационного периода отмечается увеличение содержания инсулина, что было подтверждено и в нашем исследовании.

Следует отметить, что при оценке нутритивной недостаточности по абсолютному количеству лимфоцитов независимо от исходного их содержания было выявлено достоверное снижение содержания инсулина к концу оперативного вмешательства с последующим увеличением на утро первых суток послеоперационного

периода (см. табл. 2). Напротив, у пациентов с сывороточным уровнем альбумина менее 40 г/л гиперинсулярной реакции на хирургическую агрессию не наблюдалось, что, с учетом отсутствия глюкокортикоидной реакции в этой группе, свидетельствует о своеобразной анергии эндокринной системы на хирургическое вмешательство.

Также была обнаружена корреляция сывороточной концентрации инсулина с содержанием альбумина ($r = 0,363$, $p < 0,001$), что логично объясняется анаболическим эффектом гормона на белковый обмен. В то же время отмечена менее выраженная корреляционная связь уровня инсулина с абсолютным количеством лимфоцитов ($r = 0,263$, $p = 0,012$), что можно объяснить протективным действием инсулина в отношении иммунодепрессивного влияния кортизола, которое в первую очередь выражается в угнетении пролиферации лимфоидного ростка кроветворения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о дисбалансе интенсивности ката- и анаболических процессов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией с признаками нарушений нутритивного статуса. У пациентов с признаками нутритивной недостаточности отмечена сниженная глюкокортикоидная реакция на стрессорное воздействие, о чем свидетельствует отсутствие различий в концентрации кортизола между до- и послеоперационными этапами в группе па-

циентов с сывороточным уровнем альбумина менее 40 г/л. Кроме того, в этой группе пациентов не наблюдалось характерное для остальных больных увеличение содержания инсулина на утро первых суток после хирургической коррекции приобретенного порока сердца.

Следует отметить, что снижение сывороточного уровня альбумина в большей степени характеризует дисбаланс процессов анаболизма и катаболизма, нежели абсолютное количество лимфоцитов, и может свидетельствовать об истощении функциональных резервов эндокринной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бойцова И.В.* Состояние гипофизарно-надпочечниковой системы при операциях на открытом сердце в условиях углубленной (26–24 °С) гипотермии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1991.

Boytsova I.V. Condition of the pituitary-adrenal system during open heart surgery in-depth (26–24 °C) hypothermia: abstract of thesis...candidate of medical sciences. Novosibirsk, 1991.

2. *Углова Е.В.* Гормональный ответ при коррекции врожденных пороков сердца в условиях бесперфузионной и перфузионной гипотермии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1998.

Uglova E.V. Hormonal response to the correction of congenital heart defects in hypothermia with fad without perfusion: abstract of thesis...candidate of medical sciences. Novosibirsk, 1998.

3. *Bridgewater B., Grayson A.D., Jackson M. et al.* Surgeon specific mortality in adult cardiac surgery: comparison between crude and risk stratified data // *BMJ*. 2003. 327. 13–17.

4. *Das S.K., Cassidy J.T., Petty R.E.* Antibodies against heart muscle and nuclear constituents in cardiomyopathy // *Am. Heart. J.* 1972. 83. 159–166.

5. *Deibert D.C., De Fronzo R.A.* Epinephrine-induced insulin resistance in man // *J. Clin. Invest.* 1980. 65. 717–721.

6. *Fuchs C., Brasche M., Spieckermann P., Kirchhoff G. et al.* Divalent ions and myocardial function during cardiopulmonary bypass (CPB). Changes

of total calcium, ionized calcium, and magnesium in plasma // *J. Cardiovasc. Surg.* 1975. 16. (5). 476–483.

7. *Goldthorpe F.C., Dougherty T.F.* Effect of cortisone treatment on shock induced by thermal burns // *Am. J. Physiol.* 1951. 167. 787–788.

8. *Holzinger C., Schllammer A., Imhof M. et al.* Phenotypic patterns of mononuclear cells in dilated cardiomyopathy // *Circulation*. 1995. 92. 2876–2885.

9. *Jefferies W.M.* Cortisol and immunity // *Med. Hypotheses*. 1991. 34. 198–208.

10. *Kapadia S.R.* Cytokines and heart failure// *Cardiol Rev.* 1999. 7. (4). 196–206.

11. *Komatsu R., Nakagawa M., Harada M., Tanaka Y.* Changes in plasma and urinary calcium levels during cardiopulmonary bypass // *Masui*. 1993. 42. (12). 1788–1792.

12. *Lomivorotov V.V., Efremov S.M., Boboshko V.A. et al.* Preoperative total lymphocyte count in peripheral blood as a predictor of poor outcome in adult cardiac surgery// *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011. 25. (6). 975–980.

13. *Munck A., Guyre P.M.* Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress // *Adv. Exp. Med. Biol.* 1986. 196. 81–96.

14. *Remme W.J., Swedberg K.* Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure// *Eur. Heart. J.* 2001. 22. 1527–1560.

15. *Selye H., Dozne C., Bassett L., Whittaker J.* On the therapeutic value of adrenal cortical hormones in traumatic shock and allied conditions // *Can. Med. Assoc. J.* 1940. 43. 1–8.

16. *Von Haehling S., Doehner W., Anker S.D.* Nutrition, metabolism, and the complex pathophysiology of cachexia in chronic heart failure// *Cardiovasc. Res.* 2007. 73. 298–309.

17. *Waldhaus W.K., Gasic S., Bratusch-Marrain P. et al.* Effect of stress hormones on splanchnic substrate and insulin, disposal after glucose ingestion in healthy humans // *Diabetes*. 1987. 36. 127–135.

18. *Won J.G., Tseng H.S., Yang A.H. et al.* Intra-arterial calcium stimulation test for detection of insulinomas: detection rate, responses of pancreatic peptides, and its relationship to differentiation of tumor cells // *Metabolism*. 2003. 52. (1). 1320–1329.

INFLUENCE OF MALNUTRITION ON HORMONAL RESPONSE TO CARDIOSURGERY IN PATIENTS WITH ACQUIRED HEART DISEASE

**Anna Igorevna SUBBOTOVSKAYA, Lyubov Georgievna KNYAZ'KOVA,
Anna Nikolaevna SHILOVA, Vladimir Vladimirovich LOMIVOROTOV,
Anton Pavlovich SUBBOTOVSKIY, David Sergeevich SERGEEVICHEV,
Sergei Mikhailovich EFREMOV**

*Novosibirsk State Research Institute of Circulation Pathology named
after Academician E.N. Meshalkin of Rusmedtechnology
630055 Novosibirsk, Rechnunovskaya str., 15*

Goal was to study the effects of malnutrition on hormone response to cardiosurgery in patients with acquired heart disease. Material and methods: 123 patients with acquired heart disease operated on cardiopulmonary bypass were examined. Serum albumin level, total lymphocyte count, cortisol and insulin were measured at three study phases (baseline, the end of operation, and 1st day after surgery). Results and discussion: Classic hormonal response on cardiosurgery, with characterized in increased cortisol at the end of operation and at the 1st day after operation, and increased level of insulin at the 1st day after operation was not found in patients with acquired heart disease with baseline serum albumin level below 40 g/L. It testifies to compensatory mechanisms exhaustion.

Key words: acquired heart disease, malnutrition, cortisol, insulin.

*Subbotovskaya A.I. – junior researcher of the group of clinical immunology of clinic-biochemical laboratory,
e-mail: rubanova_ai@mail.ru*

Knyaz'kova L.G. – candidate of biological sciences, leading researcher of biochemical group of clinic-biochemical laboratory, e-mail: klg5151@mail.ru

Shilova A.N. – doctor of medical sciences, head of clinic-biochemical laboratory, e-mail: shilovaanna77@mail.ru

*Lomivorotov V.V. – doctor of medical sciences, head of laboratory of anesthesiology and intensive care unit,
e-mail: vvlom@mail.ru*

*Subbotovskiy A.P. – resident of laboratory of anesthesiology and intensive care unit,
e-mail: subbotovsky_ap@mail.ru*

*Sergeevichev D.S. – candidate of biological sciences, head of laboratory of experimental surgery and morphology,
e-mail: d_sergeevichev@nricp.ru*

Efremov S.M. – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory of anesthesiology and intensive care unit, e-mail: sergefremov@mail.ru

УДК 613.62-084:656.21(577.1)

ОПТИМИЗАЦИЯ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНИКОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ, РАБОТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО РИСКА (ПОПУЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ – 15-ЛЕТНИЙ ТРЕНД)**Нина Алексеевна КУДЕЛЬКИНА¹, Марина Леонидовна ФОМИЧЕВА²,
Александр Николаевич ЩЕТИНИН²**¹ФГБУ НИИ терапии СО РАМН

630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

²НУЗ Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск Западно-Сибирской железной дороги ОАО «РЖД»

630003 г. Новосибирск, Владимирский спуск, 2а

Представлены результаты разработки и внедрения организационно-структурной и функциональной модели системы первичной профилактики неинфекционных заболеваний в поликлиническом звене здравоохранения на железнодорожном транспорте в виде оздоровительного центра. На базе оздоровительного центра ст. Новосибирск (1999–2002 гг.) реализована система «оздоровительных технологий». Дана оценка медико-социальной и экономической эффективности применения этой системы непосредственно на производстве среди локомотивных бригад с оценкой качества жизни. Полученные результаты показали достоверное улучшение здоровья и качества жизни профессий железнодорожников.

Ключевые слова: работники железнодорожного транспорта, профилактика неинфекционных заболеваний, оздоровительный центр, «оздоровительные технологии», качество жизни.

Ухудшение общественного здоровья в России [2, 15], особенно в Сибирском регионе [13, 15], создало угрозу здоровью нации, находящейся почти на грани популяционной катастрофы [1]. Одной из причин устойчивой депопуляции в России является сверхсмертность людей трудоспособного возраста (Концепция Президентской программы «Здоровье работающего населения России на 2004–2015 гг.») [6], особенно работающих в производственных отраслях с условиями повышенного риска, в частности, на железнодорожном транспорте [3, 7]. Среди представителей ведущих профессий железнодорожников, работников локомотивных бригад, одной из причин преждевременной смертности является острая сердечно-сосудистая недостаточность (инфаркт миокарда) и артериальная гипертония при среднем возрасте умерших в 45,8 года [3]. В связи с этим увеличение про-

должительности здоровой (активной) жизни работающего контингента, где определяющую роль играет стратегия первичной профилактики «здоровья здоровых», сохранения и укрепления профессионального здоровья и повышения их качества жизни, – важнейшая социально-значимая стратегическая задача практического здравоохранения на современном этапе ее реформирования и медицинской науки [2, 11].

В связи со значительным сокращением численности работающего населения вследствие потери профессиональной трудоспособности по состоянию здоровья (в частности, только на железнодорожном транспорте России из состава ведущих водительских профессий в связи с утратой профессиональной пригодности по заболеваемости ежегодно выбывает более 5500 человек [3, 16]), принципиальное значение в развитии и реформировании здравоохранения

Куделькина Н.А. – д.м.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории психологических и социологических проблем внутренних заболеваний, e-mail: kudelkinana@mail.ru

Фомичева М.Л. – к.м.н., главный специалист по медицинской профилактике Главного управления здравоохранения мэрии г. Новосибирска, e-mail: MFomicheva@admnsk.ru

Щетинин А.Н. – д.м.н., проф., кафедры «Безопасность жизнедеятельности» Сибирского государственного университета путей сообщения (СГУПС), e-mail: MedvedevVI@stu.ru

приобретает проблема охраны здоровья трудовой популяции населения [8, 9]. Особо значимо вопрос обновления методологии первичной профилактики встает перед прикладной медициной, обеспечивающей здоровье работников в производственных отраслях с требованиями повышенной надежности и безопасности, в частности, на железнодорожном транспорте.

Нарастающие негативные тенденции в состоянии здоровья работников железнодорожного транспорта [7, 9, 10] определяют необходимость поиска и разработки новых методических подходов к повышению качества медицинской помощи и профилактики производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний для решения новых социальных задач железнодорожной медицины: поддержания оптимального уровня здоровья железнодорожников, профилактики снижения психофизиологических резервов здоровья, своеобразного «износа организма» [3, 9, 10, 17] и повышения их качества жизни для сохранения и укрепления профессионального здоровья и профессионального долголетия.

В нашем исследовании такими методами профилактического вмешательства (воздействия) по сохранению и укреплению «здоровья здоровых» железнодорожников, впервые представленными, являются «оздоровительные технологии» (на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск) как составляющие разработанной системы первичной профилактики производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний среди трудящихся ведущих профессий железнодорожного транспорта (локомотивных бригад). Данной проблеме посвящена представленная работа с дальнейшей оценкой эффективности внедрения «системы оздоровительных технологий» на производстве по основным показателям здоровья исследуемого контингента и, впервые, по качеству жизни.

Цель исследования – разработка и внедрение постоянно действующей системы «оздоровительных технологий» первичной профилактики производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний среди ведущих профессий железнодорожного транспорта, машинистов и помощников машинистов локомотивов, в условиях производства и оценка ее эффективности по качеству жизни.

Цель исследования предусматривала выполнение следующих четырех задач:

Первая (I) – разработка новой функциональной организационно-структурной модели амбулаторно-поликлинической службы Западно-Сибирской железной дороги с целью оптимизации

ее профилактической направленности по сохранению и укреплению профессионального здоровья железнодорожников и формирования профилактических «оздоровительных технологий» на рабочем месте среди ведущих профессий железнодорожного транспорта – работников локомотивных бригад (на примере локомотивного депо ст. Новосибирск).

Вторая (II) – внедрение системы профилактических «оздоровительных технологий» на базе нового структурного подразделения амбулаторно-поликлинического звена медицинской службы – «оздоровительного центра» локомотивного депо ст. Новосибирск.

Третья (III) – оценка эффективности внедрения «оздоровительных технологий» как новой формы первичной профилактики производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний среди локомотивных бригад, осуществляемых на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск Западно-Сибирской железной дороги (ЗСЖД) (1999–2002 гг.).

Четвертая (IV) – оценка эффективности разработанной нами системы «оздоровительных технологий» первичной профилактики профессионально-обусловленных и неинфекционных заболеваний на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск по качеству жизни (2003–2004 гг.).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись мужчины ведущих профессий железнодорожного транспорта – локомотивных бригад (машинисты и помощники машинистов) локомотивного депо ст. Новосибирск ЗСЖД в количестве 836 человек, прошедшие предварительный и периодический медицинский осмотр согласно приказу № 15/ЦЗ Министерства путей сообщения (МПС) от 15.11.99 и допущенные к профессиональной деятельности с диагнозом «практически здоров». Средний возраст обследованных составил ($M \pm m$) $34,8 \pm 2,1$ года.

Базовым материалом для создания организационно-функциональной модели оптимизации первичной профилактики неинфекционных заболеваний на производстве послужили результаты проведенного одномоментного выборочного эпидемиологического исследования распространенности хронических неинфекционных заболеваний и их факторов риска согласно стандартным критериям ВОЗ (1996, 1999). Исследован большой (10677 чел.) массив организованной популяции железнодорожников Западно-Сибир-

ской железной дороги [7, 9] ведущих профессий железнодорожного транспорта в возрасте 20–64 лет, явившиеся необходимым условием для разработки и внедрения системы оздоровительных технологий первичной профилактики неинфекционных заболеваний среди локомотивных бригад на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск ЗСЖД.

Разработка и формирование «оздоровительных технологий» осуществлялась с учетом оценки уровня индивидуального здоровья (метод рискометрии) [17] и прогноза его развития, распространенности хронических неинфекционных заболеваний и их факторов риска в данной производственно-профессиональной группе работающих, комплекса неблагоприятных факторов риска конкретной производственной деятельности, способствующих нарушению профессионально значимых функций [3, 4, 9, 17].

Объектом внедрения системы «оздоровительных технологий» являлись те же работники локомотивных бригад (машинисты и помощники машинистов) локомотивного депо ст. Новосибирск со среднегодовой численностью работающих 836 мужчин.

Эффективность внедрения «оздоровительных технологий» среди локомотивных бригад (III задача исследования) оценивалась нами по следующим показателям индикаторов здоровья: заболеваемость с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) в случаях и днях на 100 работающих; частота первичного выхода на инвалидность на 1000 работающих; показатели профессиональной непригодности по состоянию здоровья на 1000 осмотренных (до внедрения и после внедрения); определение удельного веса групп здоровья в динамике по классификации В.А. Кудрина [10].

В оценке качества жизни использовали стандартный опросник общего типа MOS SF-36 (Medical Outcomes Study, США, 1992), который чаще используется в популяционных исследованиях. Он состоит из 36 стандартных вопросов и включает 8 шкал, характеризующих физические и психологические компоненты: физическое функционирование, ролевое физическое функционирование, телесная боль, общее здоровье (эти 4 шкалы характеризуют физический компонент здоровья), витальность (жизнеспособность), социальное функционирование, ролевое эмоциональное функционирование, психическое здоровье (эти 4 шкалы характеризуют психологический компонент здоровья)

Количественная оценка каждой шкалы выражается в баллах от 0 до 100, при этом более

высокому качеству жизни соответствует большее количество баллов [13, 14, 18].

Популяционное исследование качества жизни проводилось на группе из 200 «практически здоровых» машинистов и помощников машинистов локомотивного депо ст. Новосибирск (25%-я случайная выборка из 836 машинистов и их помощников, прошедших полную программу регулярных профилактических оздоровительных технологий в межсменный период на базе оздоровительного центра локомотивного депо). Средний возраст исследуемых составил $34,8 \pm 2,1$ года, стаж работы – не менее 5 лет.

Данное исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., и выполнено с информированного согласия респондента (пациента) на участие в исследовании.

При анализе полученных результатов использовали стандартные методы вариационной статистики: вычисление средних арифметических (M), стандартных отклонений, стандартных ошибок (m). Различия средних показателей оценивали в модели ANOVA по критерию Фишера, достоверность различий частот – с помощью критерия χ^2 Пирсона. Критерием статистической достоверности считали уровень $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из поставленных цели и задач нашего исследования в данном разделе статьи изложены в виде конкретно выполненных целевых задач под номером I, II, III, IV.

I. Новая впервые разработанная нами функциональная структура обеспечения первичной профилактики неинфекционных заболеваний в амбулаторно-поликлиническом звене системы здравоохранения железнодорожного транспорта на Западно-Сибирской железной дороге включает:

- оздоровительный центр локомотивного депо ст. Новосибирск;
- инженерно-врачебные бригады локомотивного депо;
- отделение профилактики поликлиники № 2 Дорожной клинической больницы (ДКБ);
- лабораторную и функциональную службу ДКБ;
- цеховую медицинскую службу, включающую цехового врача и здравпункт;
- вычислительный (информационно-компьютерный) центр ДКБ;

загородный санаторий-профилакторий Новосибирского отделения ЗСЖД.

Функциональная перестройка работы перенесенных подразделений была направлена на приоритетное развитие «оздоровительно-профилактической» деятельности при осуществлении постоянного взаимодействия на всех этапах профилактического процесса и преемственности в работе структурных элементов «модели», достижение положительного конечного результата укрепления здоровья трудовых коллективов железнодорожников [16, 17]. Разработан алгоритм деятельности модели первичной профилактики – нового звена амбулаторно-поликлинической службы (на примере ЗСЖД), состоящий из ряда этапов: интегральная оценка уровня здоровья железнодорожников [17], составление индивидуального «профессионально-профилактического маршрута», реализация профилактической программы на основе оздоровительных технологий первичной профилактики в «оздоровительном центре» локомотивного депо ст. Новосибирск, оценка эффективности профилактической работы по программе «Компьютерная система интегральной оценки уровня здоровья человека для индивидуального прогностического обследования» на основе периодического социально-гигиенического мониторинга, представление конечного результата оздоровления на врачебно-экспертную комиссию в качестве дополнительной информации о состоянии здоровья работника [16, 17].

В основе разработанной модели лежит предложенный авторами новый инструмент «упреждающего» регулярного профилактического воздействия оздоровительных технологий для восстановления психофизиологических резервов здоровья здорового работника, снижающихся в процессе трудовой деятельности [7, 8, 16].

II. Внедрение системы профилактических оздоровительных технологий осуществлялось на базе «профилактического комплекса – оздоровительного центра» локомотивного депо ст. Новосибирск среди локомотивных бригад (машинистов и помощников машинистов) – практически здоровых железнодорожников в возрасте 20–59 лет в период 1999–2002 гг.

Система оздоровительных технологий формировалась таким образом, чтобы в результате ее воздействия целенаправленно снижался риск профессионального здоровья работающих со стороны неблагоприятных производственных факторов. Механизм профилактического воздействия «оздоровительных технологий» был направлен на восстановление конкретных, снижающихся в процессе трудовой деятельности,

функциональных резервов здоровья практически здорового работника. Так, восстановление функциональных резервов бронхолегочной системы для профилактики пульмонологических заболеваний основано на использовании отрицательной гидроаэроионизации (искусственной «соляной пещеры»); повышение функциональных резервов нервной системы, снятие «рабочего стресса» в межсменный период осуществлялось применением многоцелевой психологической капсулы «Сан-Спектр» (антистрессовая терапия, стимуляция иммунитета), антистрессовой системы для слухового, зрительного анализатора и вибромассажа («ВибросOUND Сенсориум»); для восстановления функциональных резервов мышечной системы для профилактики гиподинамии и избыточной массы тела использовали велоэргометрию и гидротерапию (бассейн, сауна, души) и т. д., имеющиеся в оздоровительном комплексе при локомотивном депо ст. Новосибирск (на рабочем месте).

Эффективность внедрения системы профилактических «оздоровительных технологий» на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск оценивалась нами, в первую очередь, по состоянию здоровья коллектива (показатели индикаторов здоровья, перечисленных в разделе «Материал и методы»).

III. Показатели оценки основных индикаторов здоровья машинистов и помощников машинистов (локомотивных бригад) после внедрения оздоровительных технологий на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск.

Отмечено снижение заболеваемости с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) среди машинистов и помощников машинистов локомотивных бригад в 2002 г. по сравнению с базисным 1999 г. по количеству случаев на 25,7 % и дней нетрудоспособности на 16,8 % на 100 работающих ($p < 0,05$). Экономия средств по фонду заработной платы в 2002 г. за счет сокращения случаев и дней нетрудоспособности на данном предприятии составила 3,8 млн рублей.

Представленные в таблице данные свидетельствуют о сокращении почти в 1,5 раза частоты случаев первичного выхода на инвалидность (на 1000 работников) и снижении показателя утраты профессиональной пригодности по состоянию здоровья среди локомотивных бригад (на 1000 осмотренных) после внедрения оздоровительных технологий первичной профилактики (1999–2002 гг.), о достоверном возрастании удельного веса I и II групп здоровья (здоровые и «практически здоровые») и уменьше-

Таблица

Показатели оценки основных индикаторов здоровья работников локомотивных бригад до и после внедрения «оздоровительных технологий» первичной профилактики на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск

Показатель здоровья	1998 г.	1999–2003 гг.
Первичный выход на инвалидность на 1000 работающих по всем классам болезней МКБ 10	7,9	5,7*
Показатели профессиональной непригодности среди работников локомотивных бригад на 1000 осмотренных	10,7	9,0**
Профессиональная непригодность среди старослужащих локомотивных бригад на 10000 осмотренных	1,7	1,3*
Диспансерная группа I (здоровые), %	51,0	56,0**
Диспансерная группа II (практически здоровые), %	9,7	11,3**
Диспансерная группа III (стадия компенсации заболевания), %	34,5	29,9**
Состоящие на диспансерном учете машинисты и помощники машинистов с АГ получали гипотензивную терапию, %	29,0	59,3**

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя в 1998 г. статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

нии удельного веса III группы здоровья, что, на наш взгляд, является следствием эффективности внедрения разработанной системы оздоровительных технологий первичной профилактики основных неинфекционных и производственно обусловленных заболеваний в коллективе локомотивного депо ст. Новосибирск.

IV. Оценка качества жизни по MOS SF-36 (США, 1992) до и после внедрения оздоровительных технологий.

Популяционное исследование качества жизни, как упоминалось выше, проводилось на группе из 200 «практически здоровых» машинистов и помощников машинистов локомотивного депо ст. Новосибирск в 2 этапа:

1-й этап – добровольное (предварительное) стандартное анкетирование по опроснику качества жизни MOS SF-36 до внедрения системы «оздоровительных технологий» в оздоровительном центре локомотивного депо ст. Новосибирск (на начало календарного года – январь 2004 г.);

2-й этап – добровольное (заключительное) стандартное анкетирование по опроснику качества жизни MOS SF-36 после внедрения системы «оздоровительных технологий» в оздоровительном центре локомотивного депо ст. Новосибирск на начало календарного года (январь 2005 г. (т. е. за календарный год).

Результаты анкетирования по качеству жизни представлены на рисунке.

Проведенные исследования выявили достоверное улучшение качества жизни по всем 8 шкалам у исследуемой группы «практически здоровых» железнодорожников, основанного на личном анонимном мнении в отношении изме-

нения их физического и психологического здоровья после года участия в оздоровительной работе на базе оздоровительного центра локомотивного депо ст. Новосибирск ЗСЖД. Так, в 2,4 раза достоверно ($p < 0,01$) улучшились показатели ролевого физического функционирования; более чем в 2 раза ($p < 0,01$) увеличились баллы ролевого эмоционального функционирования; почти в 2 раза возросли показатели социального функционирования и боли – резко снизилось

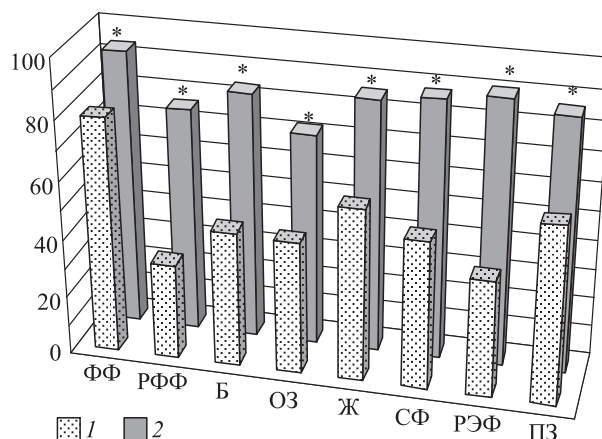


Рис. Эффективность первичной профилактики по показателям качества жизни у работников локомотивных бригад локомотивного депо ст. Новосибирск (среднее арифметическое, баллы). ФФ – физическое функционирование; РФФ – ролевое физическое функционирование; Б – боль, ОЗ – общее здоровье; Ж – жизнеспособность; СФ – социальное функционирование; РЭФ – ролевое эмоциональное функционирование; ПЗ – психическое здоровье; * – отличие от величины соответствующего показателя в 2004 г. статистически значимо при $p < 0,01$. 1 – январь 2004 г.; 2 – январь 2005 г.

ее влияние на способность заниматься повседневной деятельностью. Достоверно в 1,5 и 1,7 раза увеличилось количество баллов по шкалам соответственно психического здоровья и жизнеспособности – энергичность, общего здоровья – в 1,6 раза при $p < 0,01$.

ВЫВОДЫ

1. Впервые разработана новая организационно-структурная модель амбулаторно-поликлинической службы в системе здравоохранения железнодорожного транспорта, где эффективной функциональной формой первичной профилактики и улучшения показателей профессионального здоровья железнодорожников является профилактический комплекс – «оздоровительный центр», приближенный к рабочему месту (локомотивное депо).

2. Разработанная и внедренная система «оздоровительных технологий» в трудовом коллективе (локомотивном депо ст. Новосибирск) представителей ведущих профессий железнодорожного транспорта, работающих в условиях высокого профессионального риска, связанного с обеспечением безопасности и надежности эксплуатации локомотивов, превращает первичную профилактику производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний в постоянный процесс эффективного «предупредительного» профилактического воздействия для сохранения и укрепления профессионального здоровья железнодорожников непосредственно на производстве (рабочем месте).

3. Результаты внедрения системы «оздоровительных технологий» в трудовом коллективе показали значительное улучшение состояния здоровья трудящихся локомотивных бригад за исследуемые годы: снижение ЗВУТ в случаях на 25,7 % нетрудоспособности и на 16,8 % дней нетрудоспособности на 100 работающих ($p < 0,05$); в 1,5 раза сократилась частота случаев первичного выхода на инвалидность (на 1000 работников); снизились показатели утраты профессиональной пригодности по состоянию здоровья среди локомотивных бригад (на 1000 осмотренных), что является важнейшим показателем сохранения их профессионального здоровья и, следовательно, повышения их качества жизни. Отмечено достоверное возрастание удельного веса I и II групп здоровья (здоровые и практически здоровые) при диспансеризации.

4. Полученные результаты исследования качества жизни машинистов и помощников машинистов локомотивного депо ст. Новосибирск до и после внедрения «оздоровительных техно-

логий» непосредственно на производстве наглядно продемонстрировали социально-медицинскую и экономическую эффективность внедрения системы «оздоровительных технологий» на базе оздоровительного центра как метода первичной профилактики производственно-обусловленных и неинфекционных заболеваний, сохранения и укрепления их профессионального здоровья и улучшения качества жизни, которое в конечном итоге продляет их профессиональное долголетие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Венедиктов В.В. Теоретические и прикладные проблемы современного здравоохранения и медицинской науки. М., 2001. 107–117.

Venediktov V.V. Theoretical and applied problems of contemporary healthcare system and medical science. M., 2001. 107–117.

2. Вялков А.И. Политика и стратегия профилактики заболеваний и укрепления здоровья в современном обществе // Общественное здоровье и профилактика заболеваний. 2003. (1). 3–7.

Vyal'kov A.I. Policy and strategy of disease prevention and health improvement in contemporary society // Obshchestvennoe zdorovie i profilaktika zabollevanii. 2003. (1). 3–7.

3. Капцов В.А., Мезенцев А.П., Панкова В.Б. Производственно-профессиональный риск железнодорожников. М., 2002. 206–207.

Kaptsov V.A., Mezentsev A.P., Pankova V.B. Professional risk of the railway employees. M., 2002. 206–207.

4. Комаров Ю.М. Маркет в современном здравоохранении: действительность и возможность // Здравоохранение на железнодорожном транспорте государств-участников СНГ на современном этапе: теория и практика. М., 2004. 1. 54–71.

Komarov Yu.M. Market in contemporary healthcare: realities and possibilities // Modern state of healthcare in the railway transport of CIS countries: theory and practice. M., 2004. 1. 54–71.

5. Константинов В.В., Жуковский Г.С., Тимофеева Т.Н. и др. Распространенность артериальной гипертонии и ее связь со смертностью и факторами риска среди мужского населения в городах разных регионов // Кардиология. 2001. (4). 39–44.

Konstantinov V.V., Zhukovskiy G.S., Timofeeva T.N. et al. The prevalence of arterial hypertension and its relationship with mortality and risk factors among male population in cities of different regions // Kardiologiya. 2001. (4). 39–44.

6. Концепция Президентской программы «Здоровье работающего населения России на 2004–2015 гг.» М., 2003.

Conception of Presidential Program «Health of employed population in Russia 2004–2015». М., 2003.

7. Куделькина Н.А. Хронические неинфекционные заболевания у железнодорожников: их распространенность и выявление на основе мобильного многопрофильного диагностического центра (поезда): автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 1997.

Kudelkina N.A. Chronic non-communicable diseases among railway employees: prevalence and revealing on the basis of mobile multidisciplinary diagnostic center (train): abstract of thesis ... doctor of medical sciences. Novosibirsk, 1997.

8. Куделькина Н.А., Щетинин А.Н., Фомичева М.Л. Профилактика в реформировании системы здравоохранения железнодорожного транспорта // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2004. (1). 33–35.

Kudelkina N.A., Schetinin A.N., Fomicheva M.L. Prevention in public health reform in the railway // Problemy socialnoi gigieny, zdravookhraneniya i istorii mediciny. 2004. (1). 33–35.

9. Куделькина Н.А., Щетинин А.Н., Фомичева М.Л. Стратегия профилактики в реформируемой системе здравоохранения железнодорожного транспорта – ключевой фактор сохранения профессионального здоровья железнодорожников. Новосибирск: Сибирский хронограф, 2003. 414 с.

Kudelkina N.A., Schetinin A.N., Fomicheva M.L. Prevention strategy in public health reform in the railway – key factor of railway employees professional health. Novosibirsk: Sibirskii khronograf, 2003. 414 p.

10. Кудрин В.А. Гигиена и эпидемиология на железнодорожном транспорте / Ред. проф. В.А. Капцова. М., 1999. 105–142.

Kudrin V.A. Hygiene and epidemiology in the railway / Ed. prof. V.A. Kaptsov. M., 1999. 105–142.

11. Кучеренко В.З., Сырцова Л.Е. Проблемы профилактики в условиях реформ здравоохранения // Здравоохранение РФ. 1996. (1). 42–46.

Kucherenko V.Z., Syrsova L.E. Problems of prevention during healthcare reforms // Zdravookhranenie RF. 1996. (1). 42–46.

12. Никитин Ю.П., Татарина О.В., Черных Н.И. Долгожительство в Сибири и на Даль-

нем Востоке: демографические и клинические аспекты. Новосибирск, 1999. 164 с.

Nikitin Yu.P., Tatarinova O.V., Chernykh N.I. Longevity in Siberia and the Far East: demographic and clinical aspects. Novosibirsk, 1999. 164 p.

13. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. М., 2002. 320 с.

Novik A.A., Ionova T.I. Guidelines for quality of life assessment in medicine. M., 2002. 320 p.

14. Новик А.А., Матвеев С.А., Ионова Т.И. Оценка качества жизни больного в медицине // Клинич. медицина. 2000. (2). 10–13.

Novik A.A., Matveev S.A., Ionova T.I. Quality of life assessment of patient in medicine // Klinich. meditsina. 2000. (2). 10–13.

15. Оганов Р.Г., Масленников Г.Я., Шальнова С.А. и др. Значение сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний для здоровья населения России // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2002. (2). 3–7.

Oganov R.G., Maslennikov G.Ya., Shalnova S.A. et al. Significance of cardiovascular and other non-communicable diseases for health state of Russian population // Profilaktika zabolevanii i ukreplenie zdorovia. 2002. (2). 3–7.

16. Фомичева М.Л. Профилактическая роль амбулаторно-поликлинической помощи в обеспечении профессионального здоровья железнодорожников в новых экономических условиях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2004.

Fomicheva M.L. Preventive role of ambulatory help in providing professional health of railway employees in new economical conditions: abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Novosibirsk, 2004.

17. Пат. 2119768 РФ. Способ интегральной оценки здоровья человека / А.Н. Щетинин; опубл. 10.10.1998.

Patent 2119768 RF. Method of integrated assessment of human health / A.N. Schetinin; published 10.10.1998.

18. Wahlqvist H., Carrison J., Wiklund I., Ctahlhammer N.O. Measuring lost productivity in patients with gastro-oesophageal reflux disease using a productivity questionnaire (WPAL-GORD) // Medical Decision Making. 1999. 19. 532–536.

OPTIMIZATION OF PRIMARY PREVENTION OF NON-COMMUNICABLE DISEASES AMONG RAILWAY EMPLOYEES OF WEST SIBERIA, WORKING UNDER CONDITIONS OF HIGH PROFESSIONAL RISK (POPULATIONAL STUDY – 15 YEARS TREND)

Nina Alekseevna KUDELKINA¹, Marina Leonidovna FOMICHEVA², Aleksandr Nikolaevich SHCHETININ²

¹ *Institute of Internal Medicine SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

² *Novosibirsk Railway Clinical Hospital of West Siberian Railway
63000, Novosibirsk, Vladimirovsky spusk, 2a*

The results of development and implementation of organizational structural and functional model of primary prevention of non-communicable diseases in out-patient clinic level of health service in the railway transport, as a health center example, are presented. System of «health-improving technologies» was implemented on the basis of health center «Novosibirsk» station (1999–2002). Medico-social and economical effectiveness of this system implementation was estimated directly at work place among locomotive staff using the life quality evaluation. Received results showed significant improvement in health and quality of life of railway employees.

Key words: railway employees, prevention of non-communicable diseases, health center, health-improving technologies, quality of life.

Kudelkina N.A. – doctor of medical sciences, professor, chief researcher of the laboratory for psychological and sociological problems of internal diseases, e-mail: kudelkinana@mail.ru

Fomicheva M.L. – candidate of medical sciences, chief specialist on medical prevention of Head Healthcare Department of Novosibirsk Administration, e-mail: MFomicheva@admnsk.ru

Shchetinin A.N. – doctor of medical sciences, professor of the chair «Life safety» of Siberian Transport University, e-mail: MedvedevVI@stu.ru

АКТИГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАСЫПАНИЯ ЧЕЛОВЕКА-ОПЕРАТОРА**Олег Витальевич ГРИШИН¹, Виктор Григорьевич ГРИШИН²,
Сергей Валерьевич СМИРНОВ³**¹ *ФГБУ НИИ физиологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4*² *Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Науки, 6*³ *ГБОУ ВПО Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2*

В физиологии труда одной из нерешенных проблем остается своевременная диагностика утомления человека-оператора. В связи с этим целью настоящей работы было установить возможность диагностики засыпания или наступления поверхностной (1-й) фазы сна с помощью актиграфии предплечья под контролем полисомнографии. В исследовании принимали участие 7 здоровых мужчин в возрасте от 19 до 27 лет. Исследования проводили ночью с 22 до 03 часов и преследовали цель смоделировать ситуацию ночного дежурства оператора: бодрствование в положении «стоя», «сидя на стуле», а также сон в положении «сидя на стуле». Проводили полисомнографию и мониторинг движения руки (Mh) с помощью 3D-акселерометра Унискан. В положении «стоя» двигательная активность правого запястья составила 1100 ± 910 , в положении «сидя» – 870 ± 570 , а в состоянии поверхностного сна уже через 2 минуты – 102 ± 51 условных единиц движения ($p < 0,01$). Таким образом, с помощью актиграфии предплечья можно регистрировать наступление поверхностной фазы сна в первые 2 минуты.

Ключевые слова: актиграфия сна, полисомнография, диагностика засыпания.

Актиграфия – метод контроля или оценки физической активности человека с помощью акселерометров (актиграфов или инклинометров) – датчиков, измеряющих проекцию суммы всех сил, приложенных к его корпусу (исключая силу тяжести) [1]. В сомнологии акселерометры обычно используются в комплексе полисомнографии (ПСГ) для записи актограммы [2]. В последние 10 лет актиграфы широко используются для оценки продолжительности и характера сна в качестве относительно простого и удобного метода [3]. Актиграфия сна позволяет проводить многосуточный мониторинг поведения человека во сне, что отличает ее от полисомнографии, предназначенной для диагностики патологических и функциональных нарушений в условиях специализированного стационара. В исследованиях последних лет показано высокое соответствие динамики актограмм и динамики основных мониторируемых параметров ПСГ, таких как окулограмма

и миограмма лицевых мышц [4, 5]. Поэтому актиграфия стала широко использоваться для физиологического мониторинга сна, причем в основном у здоровых лиц, как для оценки функциональных отклонений, так и для определения оптимального периода для пробуждения [5]. Из-за высокой зависимости функционального состояния человека от продолжительности сна этот метод нашел практическое применение в физиологии труда для мониторинга работоспособности и бдительности (alertness) лиц потенциально опасных профессий, работа которых требует длительного психоэмоционального напряжения [6]. Разработаны и уже используются системы мониторинга для прогнозирования и профилактики утомления [7]. При этом одной из нерешенных проблем остается своевременная диагностика момента засыпания человека-оператора – одной из самых опасных причин различных инцидентов на транспорте и производстве из-за «отсутствия субъективного

Гришин О.В. – д.м.н., руководитель лаборатории физиологии дыхания, e-mail: ovg@physiol.ru

Гришин В.Г. – старший научный сотрудник

Смирнов С.В. – к.ф.-м.н., старший научный сотрудник

восприятия оператором своего дремотного состояния» [8]. В связи с этим целью настоящей работы было установить возможность диагностики засыпания или наступления 1-й фазы сна с помощью актиграфии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 7 здоровых мужчин в возрасте от 19 до 27 лет. Исследование проводили в условиях полисомнографического кабинета Клиники НИИ физиологии СО РАМН в период с 22 до 03 часов и преследовали цель смоделировать ситуацию ночного дежурства оператора. После укрепления датчиков ПСГ и 3D-акселерометра (процедура продолжалась 45 минут) и начала мониторинга испытуемым предлагалось стоять в свободном положении в условиях темной, изолированной от звука комнаты. Допускались незначительные (по необходимости) движения тела и рук, при этом запрещалось перемещение по кабинету (положение «стоя» на одном месте). Этот период (1-й этап) соответствовал функциональному состоянию «положение стоя». Продолжительность такого положения испытуемые определяли произвольно до появления желания заснуть. Следующий 2-й этап соответствовал функциональному состоянию «физическая активность». Он представлял переход из положения «стоя» в положение «сидя», при этом испытуемый находил удобное положение для сна «сидя на стуле». Голову испытуемый «укладывал» на подушку, закрепленную на спинке стула. После «обустройства» следовал 3-й этап, который соответствовал функциональному состоянию покоя в положении «сидя на стуле» без сна. На этом этапе испытуемым предлагали заснуть в таком положении. Последний 4-й этап соответствовал функциональному состоянию сна в том же положении «сидя на стуле». Момент наступления сна и его глубина (фаза сна) определялись врачом-сомнологом после обработки данных. ПСГ проводили с помощью сомнографического компьютеризированного комплекса с автоматизированной обработкой данных («Grass Technologies», США). Методика включала мониторинг ЭЭГ, ЭКГ, миографию подъязычной мышцы, пульсоксиметрию с использованием датчика фирмы Nelcor (США), окулографию глазных яблок с обеих сторон. Параллельно проводился мониторинг движения руки (правое запястье) 3D-акселерометром («Унискан», Россия), программное обеспечение которого позволяло определять подвижность датчика с частотой 5 то-

чек в секунду и преобразовывать полученные данные в условные единицы движения (Уд).

Исследование проведено без риска для здоровья людей с соблюдением всех принципов гуманности и этических норм (Хельсинкская декларация, 2000 г., Директивы Европейского сообщества 86/609) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ физиологии СО РАМН.

При статистическом анализе динамики количественных показателей использовали парный *t*-критерий Стьюдента. Достоверность результатов оценивали по уровню значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По каждому случаю был составлен визуальный протокол наблюдений, в котором были совмещены по времени данные 3D-акселерометра и основные показатели ПСГ с определением фаз сна (рис. 1). Продолжительность 1-го этапа, которая испытуемыми определялась индивидуально до наступления утомления, составляла от 3,5 до 24 минут (в среднем – 13,6 минуты). Продолжительность 3-го этапа, который длился от того момента, когда молодые люди находили удобное для них положение на стуле, до начала 1-й фазы сна (определялась по ПСГ), составляла от 2 до 20 минут. В 5 случаях сон был поверхностным и продолжался от 2 до 9 минут. В двух случаях сон достигал 2-й фазы, которая у одного испытуемого составила 15 минут. Максимальная общая продолжительность сна составила 22 минуты. Обращает внимание, насколько непродолжительно время, в течение которого молодые здоровые люди начинают ощущать утомление в ночное время, а также тот факт, что даже в положении «сидя» заснули все обследованные.

Из представленных данных следует, что в ночное время утомление и желание заснуть у молодых здоровых мужчин может наступить уже в первые 5 минут. При этом в свободном положении «стоя» у всех испытуемых отмечается физиологическая тахикардия (см. таблицу), частота сердечных сокращений (ЧСС) находилась в пределах от 95 до 115 ударов в минуту. Переход в положение «сидя» (от 1-го этапа к 3-му) характеризовался достоверным и значимым снижением ЧСС на 20–25 %.

Наступление фазы сна проявлялось дальнейшим достоверным снижением ЧСС – еще на 10–15 %. Таким образом, различие ЧСС в активном положении «стоя» и в фазе сна составляло 30–35 %. Такая динамика ЧСС впол-

Показатели 3D-акселерометра совмещены с полисомнографией. Время: 1 мин – 600 точек

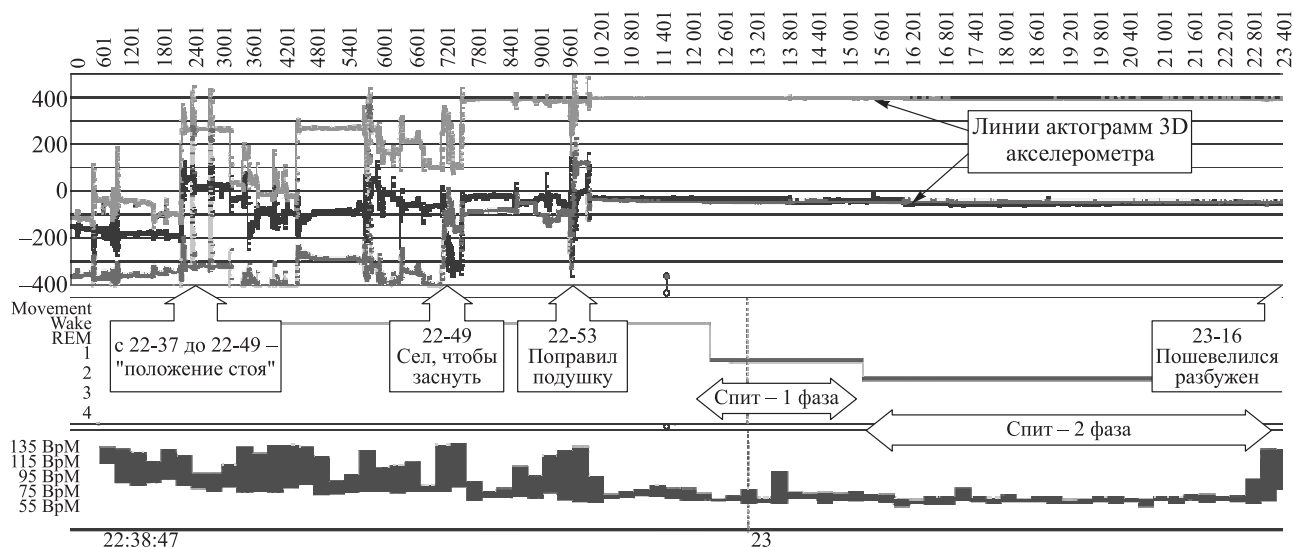


Рис. 1. Графическое совмещение 3-мерной актограммы 3D-акселерометра с графиком ПСГ (нижняя гистограмма отображает динамику ЧСС)

не согласуется с известными данными ПСГ [9]. Любой групповой анализ даст подтверждение этому факту. Однако в условиях, когда человек находится в относительно удобном положении, ЧСС в качестве индивидуального информативного параметра для определения наступления фазы сна явно не подходит. Падение ЧСС на 10–12 ударов в минуту может вполне укладываться в границы функциональной вариабельности сердечного ритма [10]. Золотым стандартом в определении наступления сна является ПСГ, в которой самым важным методом в этом плане остается ЭЭГ [11, 12]. Очевидно, что для функционального мониторинга засыпания такие методы не целесообразны, так как мешают выполнению основных обязанностей человека-оператора.

Статистический анализ показал существенную динамику показателей 3D-акселерометра на разных этапах наблюдения (рис. 2). Если в положении «стоя» двигательная активность в области правого запястья составила 1100 ± 910 Уд, то в удобном положении «сидя» – 870 ± 570 Уд. Из-за высокой индивидуальной вариабельнос-

ти различие между средними значениями было недостоверным. В то же время в фазу поверхностного сна (1-я фаза) этот показатель составил 102 ± 51 Уд (в 8–10 раз меньше), при этом индивидуальная вариабельность значений существенно снизилась. У всех обследованных в период сна показатель актиграфии варьировал в пределах от 59 до 200 Уд. Это было даже в тех случаях, когда в результате постепенного снижения мышечного тонуса руки, на которой находился датчик 3D-акселерометра, наблюдалось постепенное смещение координат. В ряде случаев уровень (максимум – минимум) 200 Уд был отмечен на 3-м этапе, который предшествовал сну. Значение 200 Уд для актиграфа «Унискан» было определено нами как максимально возможный уровень, отражающий расслабление мышц предплечья, соответствующее началу поверхностной фазы сна. Очевидно, что в актограмме имеют место временные отрезки (эпизоды), когда степень подвижности может быть ниже 200 Уд в период бодрствования. Такая низкая активность у всех обследованных была зарегистрирована только на 3-м этапе, а

Таблица

Средние значения ЧСС в разные этапы исследования ($M \pm SD$) и уровень значимости отличия этих значений

Этап	Положение испытуемого	ЧСС	Отличие от этапа 1	Отличие от этапа 2	Отличие от этапа 4
1	Стоит	102 ± 9	$p > 0,05$	$p = 0,85$	$p < 0,01$
2	Садится на стул	101 ± 12	$p = 0,85$	$p > 0,05$	$p < 0,01$
3	Сидит на стуле, не спит	80 ± 10	$p < 0,01$	$p = 0,01$	$p < 0,02$
4	Сидит на стуле, спит	68 ± 4	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p > 0,05$

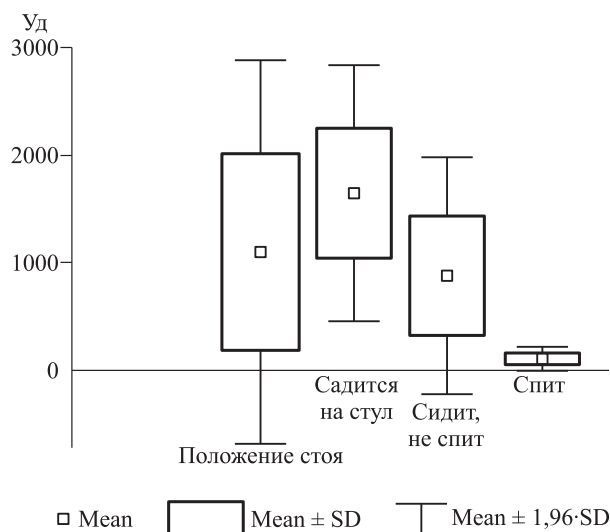


Рис. 2. Графическое сравнение средних значений показателей 3D-акселерометра на различных этапах обследования

ее максимальная продолжительность в отсутствие сна по ПСГ варьировала от 1 до 4 минут (в среднем 140 секунд). Это означает, что если показатели актиграфии ниже указанного уровня продолжают около 1 минуты, то, скорее всего, человек засыпает, а время более 4 минут означает поверхностный сон.

Таким образом, у здорового человека в ночное время суток достаточно быстро развивается чувство утомления и желание заснуть. При этом поверхностный сон может наступить уже через 2 минуты после перехода из положения «стоя» в относительно удобное положение «сидя». Это означает, что любой человек-оператор подвергается подобному испытанию в течение всего ночного или позднего вечернего дежурства. Вместе с этим из представленных данных следует, что показатели актиграфии в стадии поверхностного сна фактически на порядок ниже, чем в период бодрствования. Это позволяет использовать актиграфию в качестве метода определения наступления сна в первые 4 минуты, что может быть полезным в разработке устройств биомониторинга человека-оператора, чья деятельность требует длительного и напряженного внимания, особенно в ночное время суток.

ВЫВОДЫ

1. В ночной период времени в положении «стоя» у здоровых людей субъективное чувство утомления и желание заснуть наступает в течение 5–20 минут.

2. В ночной период времени поверхностный сон у здорового человека в положении «сидя» наступает в течение первых 20 минут.

3. С помощью актиграфии предплечья возможно регистрировать переходное состояние из бодрствования в сон в течение 1–4 минут.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом 13.G25.31.0071 (Н-01/08-10) Министерства образования и науки РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mathie M.J., Celler B.G., Lovell N.H., Coster A.C.F. Classification of basic daily movements using a triaxial accelerometer // *Med. Biol. Eng. Comput.* 2004. 42. 679–687.
2. Kushida C.A., Littner M.R., Morgenthaler T. et al. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005 // *Sleep.* 2005. 28. (4). 499–521.
3. Jean-Louis G., Kripke D.F., Cole R.J. et al. Sleep detection with an accelerometer actigraph: comparisons with polysomnography // *Physiol. Behav.* 2001. 72. (1–2). 21–28.
4. Ancoli-Israel S., Cole R., Alessi C. et al. The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms // *Sleep.* 2003. 26. (3). 342–392.
5. McCall C., McCall W.V. Comparison of actigraphy with polysomnography and sleep logs in depressed insomniacs // *J. Sleep Res.* 2011. 29. 1365–2869.
6. Sadeh A. The role and validity of actigraphy in sleep medicine: an update // *Sleep Med. Rev.* 2011. 15. (4). 259–267.
7. Dinges D.F., Mallis M.M. Managing fatigue by drowsiness detection: can technological promises be realized? // *Managing Fatigue in Transportation.* Ed. I.R. Hartley. Oxford: Pergamon, 1998. 209–229.
8. Balkin T.J., McBride S. Managing sleep and alertness to sustain performance in the operational environment // *Strategies to Maintain Combat Readiness during Extended Deployments – A Human Systems Approach* (pp. 29–1 – 29–10). Meeting Proceedings RTO-MP-HFM-124, Paper 29. Neuilly-sur-Seine, France: 2005. (<http://www.rto.nato.int/abstracts.asp>)
9. Дорохов В.Б., Деметтиенко В.В., Коренева Л.Г. и др. Электродермальные показатели субъективного восприятия ошибок в деятельности при дремотных изменениях сознания // *Журн. высш. нервн. деят.* 2000. (2). 206–218.
10. Dorokhov V.B., Dementienko V.V., Koreneva L.G. et al. Electrodermal indicators of subjective perception of performance errors during drowsiness // *Zhurn. vysh. nervn. deyat.* 2000. (2). 206–218.

10. Вейн А.М., Кхеит К. Сон человека // Физиология и патология. М., 1989. 270 с. reflex changes of autonomic activity // Am. J. Physiol. 1990. 258. (3, Pt. 2). H713–H721.
11. Saul J.P., Rea R.F., Eckberg D.L. et al. Heart rate and muscle sympathetic nerve variability during 12. Campbell I.G. EEG recording and analysis for sleep research // Curr. Protoc. Neurosci. 2009. 10. Unit 10.2.

ACTIGRAPHY IN DIAGNOSTICS OF SUBJECT-OPERATOR FALLING ASLEEP

Oleg Vital'evich GRISHIN¹, Viktor Grigor'evich GRISHIN², Sergey Valer'evich SMIRNOV³

¹ *Institute of Physiology SB RAMS*
630117, Novosibirsk, Timakov str., 6

² *Design-Engineering Institute for Computing Techniques SB RAS,*
630117 Novosibirsk, Nayka av., 6

³ *Novosibirsk State University*
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2

The forehanded diagnostics of subject-operator's tiredness remains the one of unsolved problems in the work physiology. So the target of current work was to determine the possibility of sleep diagnostics or diagnostics of surface (1st) sleep phase by means of forearm actigraphy under the control of polysomnography (PSG). Seven healthy males aged from 19 to 27 took part in the research. The examination has been carried out in the night from 10 p.m. to 3 a.m. The research target was to model the situation of operator's night duty in the standing position, while was sitting on a chair and as well as sleep in the sitting position. PSG and arm movement monitoring were executed by the Uniscan 3D accelerometer (Russia). Movement activity of right wrist in the standing position was 1100 ± 910 standard movement units (Sm), in the sitting position was 870 ± 570 Sm and 102 ± 51 Sm (difference is reliably, $p < 0.01$) in the state of surface sleep in 2 minutes already. Thereby the forearm actigraphy can register the occurrence of surface sleep phase in the first 2 minutes.

Key words: actigraphy, polysomnography, sleep diagnostics.

Grishin O.V. – doctor of medical sciences, head of the laboratory for respiratory physiology,
e-mail ovg@physiol.ru

Grishin V.G. – senior researcher

Smirnov S.V. – candidate of physical-mathematical sciences, senior researcher

РАННИЕ ПРИЗНАКИ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА ПО ДАННЫМ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ КАРДИОРИТМА МАТЕРИ

Сергей Александрович КЛЕЩЕНОГОВ

*НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний СО РАМН
654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23*

Исследованы показатели variability ритма сердца (ВРС) у женщин в сроках около 20 недели беременности в покое и при предъявлении умственной (счет в уме) и дыхательной (углубленное дыхание с произвольной частотой) нагрузочных проб. Сравнивались ответы ВРС на указанные пробы в группах женщин с нормально протекающей беременностью (НБ, $n = 92$) и с синдромом задержки развития плода (СЗРП, $n = 41$). Показаны значительные различия между группами НБ и СЗРП в динамике вагосимпатического индекса (ВСИ: отношение спектральных компонентов HF/VLF) и параметра детрентного флуктуационного анализа (DFA) ритма сердца матери при дыхательной пробе в подгруппах с исходно высокой барорефлекторной активностью (СЗРП: прирост ВСИ на 33 %; НБ: снижение ВСИ на 10 %, $p < 0,01$; СЗРП: снижение DFA на 25 %; НБ: прирост DFA на 8 %, $p < 0,001$) и преобладающей симпатической активностью (СЗРП: прирост ВСИ на 55 %; НБ: прирост ВСИ на 5 %, $p < 0,05$; СЗРП: снижение DFA на 3 %; НБ: прирост DFA на 13 %, $p < 0,10$). Сделан вывод о том, что variability ритма сердца матери при респираторной нагрузочной пробе является ценным критерием прогнозирования синдрома задержки развития плода на доклинической стадии развития данной патологии.

Ключевые слова: беременность, синдром задержки развития плода, variability ритма сердца.

Синдром задержки развития плода (СЗРП) остается актуальной медико-социальной проблемой в связи с распространенностью и широким спектром неблагоприятных последствий в постнатальном периоде при данном осложнении беременности [1]. СЗРП отражает патологию со стороны самого плода, а также результат влияния на его развитие повреждающих факторов. Среди них мало изученными остаются нейровегетативные факторы материнского организма, хотя их влияние на исходы беременности признается весьма существенным [2]. В последнее время вегетативный дисбаланс матери в качестве причины гестационных осложнений является одним из наиболее обсуждаемых. Примером может служить вопрос о «симпатической гиперактивности при беременности». Данный термин (pregnancy induced sympathetic overactivity, PISO) довольно прочно закрепился в англоязычной литературе [3]. Имеет ли место PISO-зависимое происхождение осложнений беременности, в частности, СЗРП? Однозначного ответа на этот вопрос пока нет. Кроме того, вегетативный дисбаланс может проявляться и в других формах. Причины маточно-плацентарных гемодинамических нарушений как патогенетической основы СЗРП часто связаны также

с устойчивым преобладанием активности парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, что ведет к неадекватному повышению контрактильности миометрия. На современном этапе можно полагать, что не только медиаторы нервной системы, но и гормоны являются конечным звеном рефлексов-регуляторов функций и процессов, непосредственно влияющих на течение беременности [4, 5, 6, 7]. К основным из них относятся сосудистый тонус и объем циркулирующей крови [4, 5], иммунные и воспалительные реакции [6], сократительная деятельность матки [7]. Новая парадигма в физиологии состоит в признании ведущей роли нервной системы в процессах, которые недавно считались почти целиком гормонально-зависимыми, что относится и к беременности.

В данной работе ставилось целью оценить возможную патогенетическую роль нарушенного баланса нейровегетативной регуляции матери в развитии синдрома задержки развития плода. Использовались неинвазивные методы оценки variability ритма сердца (ВРС) беременных, показатели которой отражают состояние вегетативной нервной системы. Изучали характер динамики ВРС на внешние стимулы симпатической и парасимпатической направ-

Клещеногов С.А. – старший научный сотрудник лаборатории физиологии, e-mail: serg_kle29@mail.ru

ленности при функциональных нагрузочных пробах [8].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Контингент. Исследования осуществлялись с информированного согласия испытуемых, после проведения экспертизы биоэтическим комитетом НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний СО РАМН. Всего было обследовано 133 беременных. Основная группа включала 41 женщину (средний возраст $25,1 \pm 5,4$ года) с синдромом задержки развития плода по данным ретроспективного анализа стандартных медицинских документов. Здесь и далее средние групповые величины учитывались как $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Заключение о СЗРП проводилось на основании оценки массоростового показателя (МРП) детей при рождении. Данный показатель используется как индекс упитанности новорожденного и отражает темпы, степень и форму задержки роста плода во внутриутробном периоде. МРП вычисляется как отношение массы (г) к длине тела (см). Для нормотрофичного доношенного ребенка этот показатель составляет 60 единиц и более [9]. В основной группе гипотрофия наиболее легкой I степени с МРП от 55 до 60 ед. была зафиксирована у 27 (65,8 % от числа обследованных в группе), II степени с МРП от 50 до 55 ед. – у 12 (29,3 %), III степени с МРП менее 50 ед. – у 2 (4,9 %) плодов. Следовательно, пропорция подгрупп по возрастанию степени гипотрофии плодов составила 13/6/1. В 83 % случаев зарегистрирована асимметричная форма СЗРП, которая характеризовалась отставанием массы при нормальной длине тела плода. В 17 % случаев наблюдалась симметричная форма СЗРП с пропорциональным отставанием массы и длины плода.

Контрольная группа включала 92 здоровых женщины (средний возраст $24,8 \pm 4,5$ года, $p > 0,05$ по сравнению с основной группой) с нормальным течением беременности и родов, у которых МРП плодов был выше 60 ед. Известно, что значительная доля случаев малой массы плода при рождении связана с конституциональными особенностями, прежде всего массоростовыми показателями матери [1]. В связи с этим из основной группы исключили женщин с индексом Кетле (ИК) менее 16 единиц, что отражает выраженный дефицит массы тела. Также критерием отсеивания являлись врожденные аномалии развития матки и установленная патология пуповины.

Из общей группы 92 женщины (69 %) являлись первородящими. Средний срок беременности на момент обследования составил 20,7 (от 9 до 34) недели. В I триместре (до 13 нед.) обследовано 8 (6 %), во II триместре (до 25 нед.) – 118 (89 %) и в III триместре (более 25 нед.) – 7 (5 %) женщин. Следовательно, подавляющее большинство женщин было обследовано в ранних сроках, приблизительно в середине беременности.

Отягощающие факторы в основной группе были установлены во всех случаях. Наблюдались роды незрелым плодом (17 % от числа обследованных в группе), многоплодная беременность (2 %), угроза невынашивания и аномалии родового периода (24 %), субкомпенсированная фетоплацентарная недостаточность, внутриутробная гипоксия плода (7 %) и др. Соматические осложнения со стороны матери встречались в 51 % случаев, в том числе синдром вегетативной дистонии, артериальная гипертензия, гипоталамический синдром, хронический пиелонефрит, дисфункция щитовидной железы и др. Избыточная масса тела (ИК 25–30 ед.) наблюдалась в 7 %, ожирение III степени (ИК более 40 ед.) – в 5 % случаев. В одном случае зафиксирована антенатальная смерть плода на фоне декомпенсированной фетоплацентарной недостаточности.

Процедура. Все исследования проводились в утренние часы, в положении женщин сидя. Объектом изучения являлась изменчивость во времени междударного (между соседними систолами) интервала сердца, фактически между зубцами R электрокардиограммы (интервал RR). Сигнал ЭКГ регистрировался в течение 256 последовательных сокращений сердца. Анализ сигнала после преобразования в цифровую форму производился на ПЭВМ по соответствующим программам. Запись ЭКГ производили последовательно: 1) в спокойном состоянии (фон), 2) при предъявлении умственного нагрузочного теста (последовательное вычитание в уме из 500 по 7, seven-test), 3) в периоде восстановления после умственной нагрузки, 4) при дыхательной нагрузочной пробе и 5) в периоде восстановления после дыхательной пробы. На 4-м этапе процедуры испытуемым предлагалось углубить дыхание, соблюдая, по возможности, одинаковые временные промежутки между экскурсиями легких. В результате достигались умеренные, близкие к физиологическим, воздействия симпатической (умственный «стресс») и парасимпатической (углубленное дыхание с произвольной частотой) направленности [8].

Показатели. Спектрально-частотные показатели variability ритма сердца оценивали с помощью компьютерного варианта преобразования Фурье. Соблюдали международные стандарты частотных диапазонов основных компонентов спектра ВРС [10]. В расчет принимали максимальную амплитуду спектрального пика в соответствующем частотном диапазоне ($\text{мс}^2/\text{Гц}$). Отношение величин высокочастотного спектрального компонента (HF) к очень низкочастотному компоненту (VLF) использовали как оценку вегетативного (вагосимпатического) баланса [8]. Для выделения групп беременных по типу нейровегетативной регуляции применяли классификацию спектральных видов ВРС, учитывающую соотношение основных частотных компонентов и общую энергетику колебаний кардиоритма [11]. Нелинейные колебательные характеристики ритма сердца оценивали по параметру детрентного флуктуационного анализа (DFA) и показателю аппроксимированной энтропии (ApEn) [12, 13].

Сравнение количественных показателей осуществляли по критерию *t* Стьюдента, качественных – по критерию ϕ Р. Фишера [14]. Применяли дисперсионный анализ с вычислением *F*-критерия Р. Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение основной и контрольной групп беременных выявило различия по средним показателям индекса массы тела ($22,1 \pm 5,9$ и

$20,8 \pm 2,6$ ед. соответственно, $p < 0,10$), частоты сердечных сокращений ($85,9 \pm 9,7$ и $90,0 \pm 10,6$ уд/мин, $p < 0,05$), межсистолического интервала сердца (705 ± 79 и 675 ± 76 мс, $p < 0,05$) и вариационного размаха кардиоинтервала (191 ± 104 и 165 ± 66 мс, $p < 0,10$). Не было значительных различий между сравниваемыми группами по показателям возраста, срока беременности на момент обследования и родоразрешения, а также паритета. Следовательно, основная группа отличалась от контрольной группы относительной брадикардией, повышенной вариативностью кардиоинтервала и более высокой массой тела женщин.

Анализ динамики показателей ВРС при функциональных пробах показал, что наиболее постоянным эффектом было снижение их уровня при умственном «стрессе» (табл. 1). Исключением являлся параметр DFA, который, напротив, возрастал на фоне умственной нагрузочной пробы. Известно, что противоположно направленная динамика DFA относительно спектральных показателей является обычной в силу природы данного показателя [12].

При дыхательной пробе наблюдалось значительное увеличение ВСИ и спектрального компонента LF, что соответствует представлению о возрастании парасимпатической активности на фоне гипервентиляции. Величина DFA закономерно снижалась. Указанные нагрузочные изменения, согласно представленным в табл. 1 данным, имели однотипный характер в обеих сравниваемых группах беременных и, по всей

Таблица 1

Нагрузочная динамика показателей частоты и variability ритма сердца у женщин с физиологическим течением беременности и при синдроме задержки развития плода ($M \pm SD$)

Показатель	Группа беременных					
	Контрольная ($n = 92$)			СЗРП ($n = 41$)		
	Фон	Ум	Г/в	Фон	Ум	Г/в
ЧСС, уд/мин	$90,0 \pm 10,6$	$95,4 \pm 11,9^{***}$	$91,5 \pm 10,7$	$85,9 \pm 9,6$	$94,3 \pm 8,9^{\nabla}$	$90,5 \pm 8,6$
RR, мс	675 ± 76	$636 \pm 75^{***}$	662 ± 74	705 ± 79	$645 \pm 66^{\nabla}$	669 ± 68
Var, мс	165 ± 66	148 ± 54	170 ± 62	191 ± 104	163 ± 65	189 ± 87
DFA	$0,81 \pm 0,16$	$0,86 \pm 0,19^*$	$0,74 \pm 0,24^*$	$0,85 \pm 0,19$	$0,86 \pm 0,16$	$0,74 \pm 0,20$
ApEn	$2,01 \pm 0,59$	$1,80 \pm 0,55^*$	$2,16 \pm 0,60$	$2,15 \pm 0,71$	$1,80 \pm 0,60$	$2,21 \pm 0,67$
HF	$1,00 \pm 0,55$	$0,78 \pm 0,50^{**}$	$1,11 \pm 0,58$	$0,98 \pm 0,59$	$0,75 \pm 0,49$	$1,14 \pm 0,54$
LF	$1,00 \pm 0,41$	$0,80 \pm 0,36^{***}$	$1,21 \pm 0,58^{**}$	$1,06 \pm 0,42$	$0,88 \pm 0,39$	$1,20 \pm 0,56$
VLF	$1,54 \pm 0,42$	$1,46 \pm 0,43$	$1,51 \pm 0,37$	$1,66 \pm 0,46$	$1,42 \pm 0,38$	$1,48 \pm 0,34$
ВСИ	$0,71 \pm 0,24$	$0,61 \pm 0,26^{**}$	$0,80 \pm 0,32^*$	$0,67 \pm 0,25$	$0,59 \pm 0,23$	$0,84 \pm 0,30^{\nabla}$

Примечание. Фон – исходное состояние покоя; Ум – умственная нагрузочная проба (счет в уме); Г/в – гипервентиляция; Var – вариационный размах кардиоинтервала (разница между максимальным и минимальным значениями RR в вариационном ряду); показатели ВРС даны в десятичных логарифмах спектральной плотности мощности ($\text{мс}^2/\text{Гц}$); уровень достоверности отличий от фоновой величины показателя (критерий *t* Стьюдента): ∇ – $p \leq 0,10$, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Дисперсионный анализ влияния нагрузочных проб на вагосимпатическое соотношение у беременных контрольной и основной групп

Источник варьирования (фактор)	Критерий <i>F</i> Фишера		Уровень достоверности	
	Ум	Г/в	Ум	Г/в
Норма беременности / СЗРП	0,9	4,2	> 0,05	< 0,05
Спектральный вид ВРС	1,8	3,1	> 0,05	< 0,05
Взаимодействие факторов	1,2	4,8	> 0,05	< 0,01

вероятности, были связаны с динамикой частоты сердечных сокращений (ЧСС) и среднего кардиоинтервала. Увеличение ЧСС при счете в уме вызывало стабилизацию интервала RR с соответствующим снижением его вариабельности. Данный механизм ответа показателей ВРС на стрессорные воздействия представляется естественным и, по нашим данным, сопоставимым у женщин с нормальной и осложненной СЗРП беременностью. Тот факт, что в контрольной группе изменения показателей оказались более значимыми, по всей вероятности, связан с вдвое большим числом наблюдений.

Динамика ЧСС и величины интервала RR на умеренную гипервентиляцию была незначительной. Тем не менее сдвиги ВСИ, LF и DFA в контрольной группе при данной пробе, как уже говорилось, были значимыми. Следовательно, при гипервентиляции наблюдалась определенная диссоциация ЧСС и вариабельности ритма сердца. Однако приходится констатировать, что и в этом случае нельзя было отметить существенных различий в динамике показателей между контрольной и основной группами.

Двухфакторный дисперсионный анализ с результирующим признаком вагосимпатического индекса (ВСИ) по факторам «норма/патология» беременности и «спектральный вид ВРС» показал следующие результаты (табл. 2).

Умственная нагрузочная проба не оказывала существенного влияния на дисперсию вагосимпатического соотношения, тогда как умеренная гипервентиляция вызывала значительный эффект по обоим анализируемым факторам и особенно выраженный – по их взаимодействию. Это означало, что внутри контрольной и основной групп имеется неоднородность по спектральному виду вариабельности ритма сердца, причем эта неоднородность является источником различий в динамике ВСИ между группами. При более детальном анализе оказалось, что в основной группе на фоне гипервентиляции наблюдался выраженный прирост ВСИ в подгруппах бароактивного вида ВРС и депрессивного вида I типа (на 33 и 55 %, $p < 0,01$

и $p < 0,05$ соответственно в сравнении с группой контроля). Отметим, что бароактивный вид ВРС по принятой классификации [8] соответствует повышенной барорефлекторной активности, а депрессивный вид ВРС I типа – симпатической гиперактивности в исходном состоянии обследуемых. Доля беременных с указанными особенностями вегетативной регуляции составила 40 % в общей группе. Следовательно, по этим данным значительная часть женщин имела повышенный риск развития СЗРП на более поздних сроках беременности при исходно высокой барорефлекторной и/или симпатической активности.

Далее представляло интерес рассмотреть влияние нагрузочных проб на результирующий признак нелинейной динамики ритма сердца (НД_{РС}) беременных, так как показатели НД_{РС}, по данным ряда авторов, отражают важные стороны функционирования организма в целом, степень антистрессорной устойчивости и способность к адаптации к неблагоприятным факторам [15, 16]. Анализ аппроксимированной энтропии ВРС в качестве оценки НД_{РС} не выявил значимых различий в динамике данного показателя при умственной и дыхательной нагрузочных пробах. Напротив, параметр детрентного флуктуационного анализа оказался в высокой степени информативным при указанных пробах (табл. 3).

Динамика DFA при гипервентиляции, согласно этим данным, различалась в подгруппах спектрального вида ВРС, а также при взаимодействии факторов «норма беременности/ЗРП» и «спектральный вид ВРС». Эти различия были выявлены в нескольких подгруппах ВРС: оптимального (Опт), ваготонического (Ваг), бароактивного (Бар) и депрессивного I типа (ДИ). При исходно оптимальной и ваготонической регуляции у беременных контрольной группы наблюдалось снижение значений DFA в среднем на 15 % от исходного на фоне дыхательной пробы. Данный эффект отсутствовал в основной группе женщин с различиями на уровне $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля. Напротив, в

Дисперсионный анализ влияния нагрузочных проб на параметр DFA у беременных контрольной и основной групп

Источник варьирования (фактор)	Критерий <i>F</i> Фишера		Уровень достоверности	
	Ум	Г/в	Ум	Г/в
Норма беременности / СЗРП	0,3	0,1	> 0,05	> 0,05
Спектральный вид ВРС	0,4	4,1	> 0,05	< 0,01
Взаимодействие факторов	2,0	6,2	> 0,05	< 0,01

подгруппе Бар снижение DFA было выраженным при дыхательной пробе в основной группе (на 25 %, $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой). В подгруппе ДІ динамика DFA оказалась положительной в контрольной группе (на 13 %) и практически отсутствовала в основной группе беременных ($p < 0,10$ в сравнении между группами).

Следовательно, наиболее выраженные различия между нормой и патологией беременности по нагрузочным изменениям нелинейной variability ритма сердца матери имелись при исходно повышенной барорефлекторной активности у женщин. В этих условиях динамика DFA при гипервентиляции отсутствовала при нормальной беременности, тогда как при патологических процессах, приводящих к задержке развития плода, наблюдалось значительное снижение величины данного показателя в середине гестационного срока.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новым и наиболее значительным результатом данного исследования мы считаем установление прогностического критерия синдрома задержки развития плода на ранних этапах (около 20 недели) развития беременности по данным variability ритма сердца матери. Показано, что умеренная гипервентиляционная нагрузка в виде углубленного дыхания с произвольной частотой вызывает существенный сдвиг вагосимпатического соотношения и параметра детрентного флуктуационного анализа у женщин, манифестировавших в более поздних сроках беременности СЗРП. Данный эффект отсутствовал при нормальной беременности. Указанные нагрузочные изменения ВСИ и DFA возникают не у всех беременных основной группы, а лишь в подгруппах женщин, имеющих в состоянии покоя высокую барорефлекторную и симпатическую активность. Подобных наблюдений в анализируемой выборке было 40 %.

Таким образом, по результатам данного исследования установлены физиологические основания включения значительной части беремен-

ных в группу риска по синдрому задержки развития плода. Представляется важным, что факторы риска определяются бескровным методом и при отсутствии клинических признаков СЗРП на ранних сроках беременности. Это позволяет с достаточной эффективностью формировать и осуществлять необходимые меры профилактики одного из наиболее тяжелых гестационных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хурасева А.Б. Современный взгляд на проблему синдрома задержки внутриутробного развития плода (обзор литературы) // Гинекология. 2007. (5). 40–45.
2. Khuraseva A.B. Contemporary view on the problem of the intrauterine growth restriction syndrome (Review) // Ginekologia. 2007. (5). 40–45.
3. Fu Q., Levine B. Autonomic circulatory control during pregnancy in humans // Semin. Reprod. Med. 2009. 27. 330–337.
4. Williams K., Galerneau F., Small M. Pregnancy induced sympathetic overactivity: A comparison of different hypertensive states // Am. J. Obstet. Gynecol. 2006. 195. S144.
5. Brooks V., Osborn J. Hormonal-sympathetic interactions in long-term regulation of arterial pressure: an hypothesis // Am. J. Physiol. 1995. 268. R1343–R1358.
6. Lohmeier T., Hildebrandt D., Warren S. et al. Recent insights into the interactions between the baroreflex and the kidneys in hypertension // Am. J. Physiol. 2005. 288. R828–R836.
7. Pavlov V., Tracey K. Controlling inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway // Biochem. Soc. Trans. 2006. 34. 1037–1040.
8. Wray S. Uterine contraction and physiological mechanisms of modulation // Am. J. Physiol. 1993. 264. C1–C18.
9. Клещеногов С.А., Флейшман А.Н. Спектральный компьютерный анализ кардиоритма беременных: оценка течения и прогнозирование осложнений беременности: Метод. пособие для практик. врачей. Новокузнецк, 2003.
10. Kleshchenov S.A., Fleishman A.N. Computer spectral analysis of the heart rate variability in

pregnant women: assessment of gestation course and prediction complications: Method. manual for practitioners. Novokuznetsk, 2003.

9. Сергеева К.М. Педиатрия. СПб.: Питер, 2007.

Sergeeva K.M. Peditria. SPb.: Piter, 2007.

10. Camm A., Malik M., Bigger J. et al. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use / Task Force of European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Circulation*. 1996. 93. 1043–1065.

11. Флейшман А.Н. Медленные колебания гемодинамики. Теория, практическое применение в клинической медицине и профилактике. Новосибирск: Наука, 1999.

Fleishman A.N. Slow hemodynamic oscillation. The theory, practical use and prevention. Novosibirsk: Nauka, 1999.

12. Peng C., Havlin S., Stanley A. et al. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series // *Chaos*. 1995. 5. 82–87.

13. Pincus S. Approximate entropy as a measure of system complexity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. 88. 2297–2301.

14. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978.

Gubler E.V. Calculating methods for analyzing and recognition of the pathological conditions. L.: Medicina, 1978.

15. Goldberger A.L. Non-linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside // *Lancet*. 1996. 347. 312–314.

16. Glass L. Chaos and heart rate variability // *J. Cardiovasc. Electrophysiol*. 1999. 10. 1358–1360.

THE EARLY SIGNS OF INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION ON THE DATA OF MATERNAL HEART RATE VARIABILITY

Sergey Aleksandrovich Kleshchenogov

*Institute for Integrated Problems of Hygiene and Occupational Diseases SB RAMS
654041, Novokuznetsk, Kutuzov str., 23*

The measures of heart rate variability (HRV) were analyzed in women at terms of approximately 20 gestational weeks at rest and under mental (calculation in mind) and respiratory (deep breathing with a voluntary periodicity) loading tests. Responses of HRV to above mentioned tests were compared between groups of women with normally proceeding pregnancy (NP, $n = 92$) and intrauterine growth restriction syndrome (IGR, $n = 41$). Significant differences between NP and IGR groups were shown in dynamics of vago-sympathetic index (VSI: ratio of the spectral components HF/VLF) and parameter of Detrended Fluctuation Analysis (DFA) of maternal cardiac rhythm against respiratory probe in subgroups of women with initially high baroreflex activity (IGR: increase of VSI +33 %; NP: decrease of VSI -10 %, $p < 0.01$; IGR: decrease of DFA -25 %; NP: increase of DFA +8 %, $p < 0.001$) and predominant sympathetic activity (IGR: increase of VSI +55 %; NP: increase of VSI +5 %, $p < 0.05$; IGR: decrease of DFA -3 %; NP: increase of DFA +13 %, $p < 0.10$). It has been concluded that HRV dynamical measures under condition of respiratory loading test are the valuable criteria for prediction of fetal growth restriction syndrome at pre-clinical stage of its development.

Key words: pregnancy, intrauterine growth restriction syndrome, heart rate variability.

Kleshchenogov S.A. – senior researcher of laboratory of physiology, e-mail: serg_kle29@mail.ru

НЕЙРОВЕГЕТАТИВНЫЕ КОРРЕЛЯТЫ УГРОЖАЮЩИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ ПО ДАННЫМ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА МАТЕРИ

Сергей Александрович КЛЕЩЕНОГОВ

*НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний СО РАМН
654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23*

Изучены рефлекторные ответы вегетативной нервной системы (ВНС) на функциональные нагрузочные пробы умеренной интенсивности (счет в уме, углубленное дыхание) у беременных с клиническими признаками угрозы преждевременных родов (ПР, $n = 52$) и у здоровых женщин с нормальным течением беременности (НБ, $n = 97$). Средний возраст и гестационный срок в общей группе составили соответственно $24,9 \pm 4,4$ года и $20,9 \pm 5,6$ недели. В качестве оценок симпатической (S) и парасимпатической (PS) подсистем ВНС, а также активности барорефлекса (Bar) использовали показатели вариабельности ритма сердца (BPC) матери. Показаны дифференцированные изменения вагосимпатического индекса (отношение HF/VLF спектральных компонентов BPC) при дыхательной пробе в подгруппах женщин, имеющих в состоянии покоя высокую активность S (НБ – снижение на 3 %, ПР – прирост на 62 %, $p < 0,05$) и Bar (НБ – снижение на 10 %, ПР – прирост на 26 %, $p < 0,01$). Качественно однотипные реактивные изменения при гипервентиляции найдены в отношении параметра детрентного флуктуационного анализа (DFA). Сделан вывод о том, что сдвиги вагосимпатического соотношения и нелинейной динамики кардиоритма матери на фоне гипервентиляции могут использоваться как критерий прогноза ПР в ранних сроках беременности.

Ключевые слова: беременность, нейровегетативная реактивность, вариабельность ритма сердца.

Преждевременные роды (ПР) и ассоциированные с ними осложнения остаются одной из актуальнейших проблем. Около 85 % перинатальной смертности обусловлены ПР, частота которых составляет в развитых странах 10–12 % всех беременностей [1]. В настоящее время не существует эффективной терапии данной патологии. Признается, что ключевым подходом к лечению и профилактике ПР является ранняя диагностика, в основе которой должны лежать сведения о патофизиологических механизмах превращения матки из органа вынашивания в орган изгнания плода [2–4]. Среди последних достаточно подробно изучены клеточные и субклеточные механизмы сокращения миомерия, составляющие сущность процесса родовой деятельности [1]. В то же время практически отсутствуют фундаментальные разработки нервно-рефлекторных механизмов ПР, хотя ряд данных свидетельствует об их связи с реактивностью иммунной системы и процессами воспаления [4, 5]. В совокупности с гемодинамическими факторами указанные процессы и реакции рассматриваются как основа патогенеза ПР, а также как часть взаимозависимых событий, происходящих под сложным регуляторным влиянием вегетативной нервной системы

[5, 6]. В связи с этим представляется важным выяснение роли ВНС в гестационном процессе и возможности раннего прогноза ПР с использованием физиологических факторов риска.

В данной работе ставилось целью изучить показатели вариабельности кардиоритма (BPC) у беременных женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов. Показано, что BPC является интегральным маркером парасимпатической и симпатической подсистем ВНС, их динамического соотношения, а также вклада в активность барорефлекса как важнейшего регулятора гемодинамических функций [7]. Учитывались статистические, частотные и нелинейные характеристики BPC. Использовался динамический подход с применением функциональных нагрузочных проб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Контингент. Обследовано 149 беременных, находившихся под наблюдением в женских консультациях. Все беременности были одноплодными. Исследования проводились с информированного согласия испытуемых, после проведения экспертизы биоэтическим комитетом НИИ комплексных проблем гигиены и профес-

сиональных заболеваний СО РАМН. Средний возраст женщин в общей группе составил $24,9 \pm 4,4$ года (здесь и далее: среднее арифметическое значение $M \pm$ стандартное отклонение SD), гестационный срок на момент обследования $20,9 \pm 5,6$ недели (от 9 до 34 недель). В I, II и III триместрах беременности было обследовано соответственно 17, 105 и 27 женщин (в процентах от общего числа: 11,4, 70,5 и 18,1 %).

Из общего числа 68,4 % женщин были первородящими. В возрасте 16–17 лет было всего 6 человек, все первородящие. Старше 30 лет обследовано 25 женщин, из них лишь одна первородящая. Дефицит массы тела (индекс Кетле $< 18,5$ кг/м²) был зафиксирован у 26 беременных. С ожирением I степени (индекс Кетле 30–35 кг/м²) было 4 женщины.

Клиническая характеристика течения и исходов беременностей производилась ретроспективно на основании анализа стандартных медицинских документов (истории беременности и родов). Из группы обследования исключались лица, имеющие хронические заболевания в стадии обострения, аномалии развития тазовых органов, клинически манифестированные инфекционно-воспалительные заболевания. Также критерием исключения являлся прием лекарственных средств, способных повлиять на вегетативный статус обследуемых. В основную группу вошли 52 беременные с клиническими признаками угрозы преждевременных родов, в контрольную – 97 женщин, у которых отсутствовали значительные осложнения беременности и родов. Основная группа отличалась от контрольной повышенной частотой аномалий родовой деятельности (55,8 и 17,5 % соответственно), отеков беременных (30,8 и 4,1 %), дисфункциональных и структурных нарушений плаценты (13,4 и 0 %), угрозы внутриутробной инфекции (7,7 и 1 %), гидрамниона (34,6 и 3,1 %), хронической фетоплацентарной недостаточности (11,5 и 0 %), гестационного пиелонефрита (25,0 и 6,2 %), умеренно выраженной железодефицитной анемии (36,5 и 18,5 %), кесарева сечения по экстренным показаниям (13,4 и 2 %). По распространенности хронических заболеваний мочеполовой сферы (11,5 и 6,2 %), дисфункции щитовидной железы (11,5 и 10,3 %), артериальной гипотонии (11,5 и 12,4 %) и плановых кесаревых сечений (9,6 и 11,3 %) значительных различий между группами не отмечалось.

Процедура. Обследования производились в положении женщин сидя после адаптации к обстановке. Регистрировались серии из 256 последовательных кардиоинтервалов (RR электрокардиограммы), исключая аномальные и эк-

топические сигналы. Регистрация, аналогово-цифровое преобразование сигнала ЭКГ и компьютерная обработка данных производились в 5 состояниях женщин: 1) исходное состояние покоя; 2) умственная нагрузочная проба в виде вычитания из 500 по 7 (seven-test); 3) период восстановления после умственной пробы; 4) умеренная гипервентиляция – углубленное дыхание с произвольной частотой и 5) период восстановления после дыхательной пробы. В результате данной процедуры имелась возможность оценить состояние и баланс нейровегетативной регуляции, а также активность барорефлекса как в базовом состоянии покоя, так и при умеренных внешних воздействиях симпатической (умственный «стресс») и парасимпатической (дыхательная проба) направленности [8].

Показатели. Использовали показатели вариабельности ритма сердца (BPC) беременных в соответствии с международными стандартами [7]. Общая вариативность кардиоритма оценивалась по показателю вариационного размаха (Var), который представляет собой разность между максимальной и минимальной длительностью кардиоинтервала в серии. Спектральные компоненты BPC учитывались по максимальной амплитуде пика в соответствующем частотном диапазоне (мс²/Гц) после их преобразования в десятичные логарифмы для приведения к нормальному статистическому закону распределения. Высокочастотный компонент спектра BPC (HF) соответствует синусовой дыхательной аритмии сердца, непосредственно связанной с активностью парасимпатической регуляции. Низкочастотный пик (LF) отражает активность барорефлекса, а очень низкочастотный (VLF) – надсегментарную регуляцию преимущественно эрготропной направленности [7, 9]. Соотношение HF/VLF в условных единицах использовали как оценку вагосимпатического баланса [8]. В качестве показателей нелинейной динамики кардиоритма применяли параметр детрентного флуктуационного анализа (DFA) и аппроксимированную энтропию (ApEn) [10, 11].

Сравнение количественных показателей осуществляли по критерию t Стьюдента, качественных – по критерию ϕ Р. Фишера [12]. Применяли дисперсионный анализ с вычислением F -критерия Р. Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным (табл. 1), основная и контрольная группы беременных не различались существенно по средним по-

Таблица 1

Средние показатели в группах женщин с нормальной и осложненной беременностью ($M \pm SD$)

Показатель	Группа беременных						p
	Контрольная, n = 97			Угроза преждевременных родов, n = 52			
	Фон	Ум	Г/в	Фон	Ум	Г/в	
Возраст, лет	24,9 ± 4,6			24,8 ± 4,2			> 0,05
Гестационный срок, недель	20,9 ± 5,5			20,8 ± 6,1			> 0,05
Индекс массы тела, кг/м ²	20,9 ± 2,7			22,1 ± 3,7			< 0,05
Срок родов, недель	39,1 ± 0,6			39,1 ± 0,5			> 0,05
Масса тела плода, г	3539 ± 348			3575 ± 320			> 0,05
ЧСС, уд/мин	90,1 ± 10,5	95,4 ± 11,6**	91,5 ± 10,4	93,8 ± 10,3	98,5 ± 10,9*	94,3 ± 10,2	< 0,05
RR, мс	673 ± 82	636 ± 73***	662 ± 72	646 ± 70	616 ± 70*	643 ± 71	< 0,05
Var, мс	164 ± 65	148 ± 53▼	170 ± 61	156 ± 67	137 ± 59	183 ± 75*	> 0,05
DFA	0,81 ± 0,16	0,86 ± 0,19*	0,74 ± 0,24*	0,91 ± 0,22	0,95 ± 0,21	0,80 ± 0,21*	< 0,01
ApEn	2,00 ± 0,58	1,80 ± 0,53**	2,16 ± 0,58*	1,82 ± 0,63	1,63 ± 0,68	2,15 ± 0,64**	> 0,05
HF	1,00 ± 0,61	0,78 ± 0,53***	1,12 ± 0,65	0,70 ± 0,50	0,57 ± 0,54	0,92 ± 0,50*	< 0,001
LF	1,00 ± 0,46	0,80 ± 0,35***	1,21 ± 0,57**	0,89 ± 0,35	0,79 ± 0,41	1,14 ± 0,56**	> 0,05
VLF	1,53 ± 0,47	1,46 ± 0,41	1,51 ± 0,42	1,50 ± 0,44	1,33 ± 0,47▼	1,64 ± 0,38	> 0,05
ВСИ	0,72 ± 0,25	0,61 ± 0,29**	0,80 ± 0,39*	0,57 ± 0,14	0,54 ± 0,19	0,67 ± 0,18*	< 0,001

Примечание. p – уровень достоверности различий между группами по фоновым значениям показателей; здесь и в табл. 2, 3 Фон – исходное состояние покоя; Ум – умственная нагрузочная проба (счет в уме); Г/в – гипервентиляция; спектральные показатели ВРС даны в десятичных логарифмах плотности мощности ($mc^2/Гц$); уровень достоверности отличий от фоновой величины показателя (критерий t Стьюдента): ▼ – $p \leq 0,10$, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

казателям возраста, срока родов, гестационного срока и массы тела плода. Нормированный показатель массы тела женщин (индекс Кетле) в основной группе оказался достоверно выше, чем в контрольной.

В основной группе беременных были значительно выше, чем в контрольной, частота сердечных сокращений и, соответственно, меньше средняя длительность кардиоинтервала. Более низкие величины HF и вагосимпатического индекса (ВСИ, отношение HF/VLF), а также более высокие значения DFA в основной группе по сравнению с контрольной могли быть частично обусловлены межгрупповыми различиями по частоте сердечных сокращений (ЧСС). По медленноволновым параметрам спектра ВРС (LF, VLF), вариационному размаху кардиоинтервала (Var) и аппроксимированной энтропии (ApEn) различий между группами не наблюдалось. Отсюда можно сделать вывод, что наиболее зависимыми от частоты сердечных сокращений являются высокочастотные компоненты ВРС и фрактальные свойства ритма сердца (DFA). Можно предположить также, что показатель Var отражает скорее низкочастотные характе-

ристики кардиоритма, чем нервно-рефлекторные влияния на сердце, обусловленные дыханием.

При анализе нагрузочных изменений показателей отмечалась однотипная реакция ЧСС на умственный «стресс» в виде увеличения данного показателя в обеих сравниваемых группах. Средняя длительность кардиоинтервала, соответственно этому, значительно снижалась. Изменения показателей ВРС при умственной нагрузочной пробе оказались более выраженными в контрольной группе беременных. В целом эти изменения были обусловлены увеличением ЧСС: происходило снижение Var, ApEn, HF, LF и ВРС, а также прирост DFA. Аналогичные изменения в основной группе оказались статистически недостоверными. Однако обращает внимание, что динамика очень низкочастотного компонента спектра ВРС (VLF), напротив, была несколько более выраженной в основной группе ($p < 0,10$ по сравнению с фоновым уровнем показателя).

При умеренной гипервентиляции наблюдалось увеличение вагосимпатического индекса в обеих группах, что соответствует представле-

Таблица 2

Дисперсионный анализ влияния нагрузочных проб на вагосимпатический индекс у беременных

Источник варьирования (фактор)	Критерий F Фишера			Уровень достоверности		
	Фон	Ум	Г/в	Фон	Ум	Г/в
НБ/ПБ	32,6	4,1	5,9	< 0,01	< 0,05	< 0,05
ВРС	81,2	13,3	2,8	< 0,01	< 0,01	< 0,05
Взаимодействие факторов	0,0	1,6	4,1	–	> 0,05	< 0,01

нию о парасимпатической активации при данной пробе. Вместе с тем следует отметить тот факт, что реактивность на дыхательную пробу в основной группе беременных оказалась гораздо более выраженной, чем ответ на умственную пробу, в то время как в контрольной группе наблюдались обратные отношения – более значительные сдвиги на фоне умственной нагрузки, чем при гипервентиляции. Данный дифференциальный признак, отличающий группу женщин с осложненной беременностью от контрольной группы, имеет, по всей вероятности, физиологическую основу, связанную со спецификой взаимодействия центров дыхания и кровообращения на уровне продолговатого мозга [9].

Учитывая то обстоятельство, что исходные типы нейровегетативной регуляции могут в значительной мере определять характер рефлекторных реакций, мы использовали для их оценки двухфакторный дисперсионный анализ. В качестве одного из факторов учитывали спектральный вид variability ритма сердца (фактор «ВРС»), который отражает доминирующий тип нейровегетативной регуляции [13], вторым, согласно цели исследования, являлся фактор «норма/патология беременности» («НБ/ПБ»). Полученные результаты по результирующему признаку вагосимпатического индекса (табл. 2) свидетельствовали о выраженных различиях как между группами, так и по типам нейровегетативной регуляции. Различия наблюдались во всех учтенных условиях – вне нагрузочных проб, при умственной и дыхательной пробах. Однако, что наиболее важно, взаимодействие факторов «ВРС» и «НБ/ПБ» было статистически значимым лишь при дыхательной пробе ($p < 0,01$). Это означало, что именно на фоне гипервентиляции доминирующий тип регуляции у беременных обуславливал дифференцированный характер ответа на данную пробу при гестационной норме и патологии.

Далее следовало выяснить, при каких вариантах ВРС и, следовательно, типах нейровегетативной регуляции наблюдается дифференциация рефлекторных ответов на дыхательную

пробу. Соответствующий анализ показал, что реципрокные сдвиги вагосимпатического индекса на фоне гипервентиляции выявлялись при 3 видах ВРС: оптимальном, бароактивном и депрессивном I типа. Ранее указывалось [8, 13], что оптимальный вид спектра ВРС (Опт) отличается средней амплитудой колебаний и сбалансированным профилем по основным компонентам. Данный вид ВРС чаще наблюдается у здоровых лиц. Бароактивный вариант (Бар) отражает повышенную барорефлекторную активность, что фиксируется по доминирующему пику LF в спектре ВРС. Депрессивный вид ВРС I типа (ДI) связан с выраженным снижением дыхательной синусовой аритмии сердца (HF-компонент в спектре ВРС), что, как правило, свидетельствует о повышенной симпатической активности.

Найдены следующие изменения вагосимпатического индекса при дыхательной пробе в контрольной (Кон) и основной (Осн) группах беременных. Опт: Кон – прирост на 44 %, Осн – снижение на 6 %, $p < 0,05$ в сравнении между группами; Бар: Кон – снижение на 10 %, Осн – прирост на 26 %, $p < 0,01$; ДI: Кон – снижение на 3 %, Осн – прирост на 62 %, $p < 0,05$. Следовательно, реципрокные реакции вагосимпатического соотношения состояли в более выраженном приросте ВСИ на фоне гипервентиляции в основной группе беременных при исходно повышенной симпатической и/или барорефлекторной активности. Что касается оптимального вида ВРС, то данный вариант регуляции имелся лишь в 4 наблюдениях основной группы (в контрольной группе – в 24 случаях), что не позволяло считать соответствующие результаты сравнения достоверными.

При аналогичном анализе динамики показателей HF и VLF, определяющих величину вагосимпатического индекса, оказалось, что изложенные выше закономерности были обусловлены изменениями высокочастотного компонента ВРС (HF) и, следовательно, связаны с парасимпатическим (вагальным) механизмом регуляции.

Дисперсионный анализ влияния нагрузочных проб на параметр детрентного флукуационного анализа у беременных

Источник варьирования (фактор)	Критерий F Фишера			Уровень достоверности		
	Фон	Ум	Г/в	Фон	Ум	Г/в
НБ/ПБ	10,3	0,0	0,3	< 0,01	> 0,05	> 0,05
ВРС	39,0	0,9	5,6	< 0,01	> 0,05	< 0,01
Взаимодействие факторов	0,0	3,9	10,6	–	< 0,01	< 0,01

Дисперсионный анализ по результирующему признаку аппроксимированной энтропии не выявил значимых закономерностей в виде отличительных тенденций между сравниваемыми группами беременных. В то же время двухфакторный дисперсионный анализ по признаку детрентного флукуационного анализа (табл. 3) показал значимое влияние факторов «ВРС» и «НБ/ПБ» в фоновом состоянии покоя и изолированное влияние фактора «ВРС» – при гипервентиляции. Интересно, что взаимодействие указанных факторов оказывало выраженное влияние на дисперсию DFA как при умственной, так и при дыхательной пробах. Можно полагать, что параметр детрентного флукуационного анализа в данной выборке беременных является более чувствительным индикатором патологии, чем вагосимпатический индекс.

При детальной оценке выяснилось, что динамика DFA была значимой при умственной нагрузочной пробе лишь на фоне бароактивного вида ВРС в контрольной группе беременных (прирост показателя на 12 %, $p < 0,05$ по сравнению с основной группой). При дыхательной пробе наблюдались более отчетливые нагрузочные сдвиги DFA, аналогичные рассмотренным выше в случае вагосимпатического индекса (Опт: Кон – снижение на 17 %, Осн – прирост на 4 %, $p < 0,05$ в сравнении между группами; Бар: Кон – прирост на 8 %, Осн – снижение на 21 %, $p < 0,01$; ДИ: Кон – прирост на 13 %, Осн – снижение на 16 %, $p < 0,001$). Из приведенных данных видно, что изменения DFA на фоне гипервентиляции происходили реципрокно сдвигам вагосимпатического индекса, и, очевидно, эти изменения отражают одни и те же процессы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе получены новые результаты, указывающие на высокую прогностическую ценность показателей variability ритма сердца матери в отношении осложнений беременности в форме невынашивания. Установлены дифференциальные признаки ВРС в

виде разнонаправленных ответов вагосимпатического соотношения и параметра детрентного флукуационного анализа на умственную и дыхательную нагрузочные пробы у беременных основной и контрольной групп. Определены подгруппы беременных с характерными индивидуальными особенностями нейровегетативной регуляции, при которых имеется высокий риск невынашивания. Указанные дифференциальные признаки, независимо от их природы, следует рассматривать в качестве физиологических факторов риска, существенно дополняющих те критерии прогноза, которые используются в настоящее время в акушерской клинике.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на выяснение механизмов найденных в настоящем исследовании закономерностей в динамике ВРС. В основном это касается процессов взаимодействия в структуре ассоциированных нервно-рефлекторных реакций дыхательного и сосудодвигательного центров на стволовом уровне у беременных при умеренной гипервентиляции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Garfield R., Maner W. Physiology and electrical activity of uterine contractions. Review // Sem. Cell Develop. Biol. 2007. 18. 289–295.
2. Blanks A., Shmygol A., Thornton S. Myometrial function in prematurity // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2007. 21. 807–819.
3. Holst D., Garnier Y. Preterm birth and inflammation – The role of genetic polymorphisms // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2008. 141. 3–9.
4. Goldenberg R., Culhane J., Iams J., Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth // Lancet. 2008. 371. 75–84.
5. Mastorci F., Vicentini M., Viltart O. et al. Long-term effects of prenatal stress: Changes in adult cardiovascular regulation and sensitivity to stress // Neurosc. Biobehav. Rev. 2009. 33. 191–203.
6. Holzman C., Senagore P., Tian Y. et al. Maternal catecholamine levels in midpregnancy and risk

of preterm delivery // *Am. J. Epidemiol.* 2009. 170. 1014–1024.

7. *Camm A., Malic M., Bigger J. et al.* Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use / Task Force of European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Circulation.* 1996. 93. 1043–1065.

8. Клещеногов С.А., Флейшман А.Н. Спектральный компьютерный анализ кардиоритма беременных: оценка течения и прогнозирование осложнений беременности: Метод. пособие для практик. врачей. Новокузнецк, 2003.

Kleshchenogov S.A., Fleishman A.N. Computer spectral analysis of the heart rate variability in pregnant women: assessment of gestation course and prediction complications: Method. manual for practitioners. Novokuznetsk, 2003.

9. Мамий В.И., Хаспекова Н.Б. О природе очень низкочастотной составляющей вариабельности ритма сердца и роли симпатико-парасимпатического взаимодействия // *Рос. физиол. журн.* 2002. (2). 237–247.

Mamiy V.I., Khaspekova N.B. The nature of very low frequency component of the heart rate variability

and the role of sympathetic-parasympathetic interactions // *Ros. fiziol. zhurn.* 2002. (2). 237–247.

10. *Peng C., Havlin S., Stanley A. et al.* Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series // *Chaos.* 1995. 5. 82–87.

11. *Pincus S.* Approximate entropy as a measure of system complexity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. 88. 2297–2301.

12. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978.

Gubler E.V. Calculating methods for analyzing and recognition of the pathological conditions. L.: Medicina, 1978.

13. Пат. 2332927 РФ. Способ оценки нейровегетативного статуса беременных на основе спектрального анализа вариабельности ритма сердца матери / С.А. Клещеногов, А.Н. Флейшман; опубл. 10.09.08.

Patent 2332927 RF. Evaluation method for neuroautonomic status of pregnant women on the data of maternal heart rate spectral analysis / *S.A. Kleshchenogov, A.N. Fleishman*; published 10.09.08.

NEUROAUTONOMIC CORRELATES OF THREATENING PRETERM LABOR ON THE DATA OF MATERNAL HEART RATE VARIABILITY

Sergey Aleksandrovich Kleshchenogov

*Institute for Integrated Problems of Hygiene and Occupational Diseases SB RAMS
654041, Novokuznetsk, Kutuzov str., 23*

Responses of the autonomic nervous system (ANS) to moderate mental (calculating in mind) and respiratory (deep breathing) loading tests were studied in pregnant women with clinical signs of threatening preterm labor (PL, $n = 52$) and healthy pregnant women with uncomplicated gestation course (NP, $n = 97$). Total mean age and gestational term were respectively 24.9 ± 4.4 years and 20.9 ± 5.6 weeks. Measures of maternal heart rate variability (HRV) were used as of ANS sympathetic (S) and parasympathetic (PS) subsystems and also of the baroreflex activity (Bar) estimations. Differentiated changes of the vago-sympathetic index (as a ratio of HF to VLF spectral components of HRV) against respiratory probe were shown in subgroups of women having high rest activity of S (NP – decrease by 3 %, PL – increase by 62 %, $p < 0.05$) and Bar (NP – decrease by 10 %, PL – increase by 26 %, $p < 0.01$). The qualitatively same-type reactive changes under hyperventilation were found concerning the parameter of Detrended Fluctuation Analysis (DFA). It has been concluded that shifts of maternal vago-sympathetic ratio and cardiac non-linear dynamics against hyperventilation might be used as criterion for prediction of PL at early time of gestation.

Key words: pregnancy, neuroautonomic responsiveness, heart rate variability.

Kleshchenogov S.A. – senior researcher of laboratory of physiology, e-mail: serg_kle29@mail.ru