

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО И ГЛЮКОЗНОГО ОБМЕНА ГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ЛИНИИ КРЫС НИСАГ**Геннадий Геннадьевич КОВШИК¹, Марина Валерьевна ХРАПОВА^{1,2},
Михаил Иванович ДУШКИН^{1,2}**¹ ФГБУ НИИ физиологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4² ФГБУ НИИ терапии СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

Работа посвящена сравнительному исследованию липидного состава, концентрации глюкозы, кортикостерона, фактора некроза опухоли α , ИЛ-6 крови, ДНК-связывающей активности рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом, класса α и артериального давления у шестимесечных крыс гипертензивной линии НИСАГ и нормотензивной линии WAG в условиях нормы, содержания на жировой диете, при введении липополисахарида *E. coli* (ЛПС) и безафибрата, а также в условиях постоянного освещения. Обнаружено, что величина большинства исследуемых показателей у крыс НИСАГ и WAG значительно различается. В отличие от крыс WAG, жировая диета не вызвала развития признаков метаболического синдрома у крыс НИСАГ, которые проявляли высокую чувствительность к влиянию ЛПС и безафибрата, но в меньшей степени реагировали на воздействие постоянного освещения. Таким образом, крысы линии НИСАГ могут быть генетической моделью изучения новых механизмов резистентности к метаболическому синдрому, гиперчувствительности к воспалительным стимулам и адаптационных резервов организма.

Ключевые слова: гипертензивная линия крыс НИСАГ, метаболизм липидов и глюкозы, жировая диета, бактериальный эндотоксин, десинхроноз, PPAR, кортикостерон.

Гипертензивная линия крыс НИСАГ получена при селекции повышенного ответа артериального давления (АД) при действии стресса на организм аутбредной популяции крыс Вистар [6]. Показано, что функция основных нейрогуморальных эффекторных систем стресса – гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной [6] и симпатoadреналовой [1–3] у крыс НИСАГ усилена. Животные этой линии характеризуются базальным и стресс-индуцированным повышением экспрессии мРНК кортикотропин-рилизинг-фактора и тирозингидроксилазы в гипоталамусе и гипофизе, увеличенным уровнем адренкортикотропного гормона, норадреналина и адреналина в крови и адреналина в надпочечниках [11]. Известно, что генетически детерминированная реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы оказывает значительное влияние на деятельность различных функциональных систем в организме и может вызывать существенные изменения в регуляции липидного и углеводного обмена [12]. Однако, несмотря на многочисленные

работы, посвященные механизмам развития артериальной гипертензии [1–3, 6, 11], метаболические особенности крыс НИСАГ изучены слабо [4].

Цель исследования – сравнительное изучение показателей липидного и глюкозного обмена у крыс гипертензивной линии НИСАГ и нормотензивной линии WAG в нормальных условиях, при содержании животных на жировой диете, экспериментальном десинхронозе и при остром воспалительном ответе на фоне введения гиполипидемического препарата безафибрата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали 6-месячных крыс-самцов линий НИСАГ и WAG (виварий ФГУН Институт цитологии и генетики СО РАН). Животных содержали в клетках по 2–3 особи при естественном освещении и свободном доступе к воде и пищи (брикетированный корм 120-1 «Лаб-бораторснаб» Москва). Эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманности, изло-

Ковшик Г.Г. – аспирант, e-mail: midushkin@soramn.ru

Храпова М.В. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: marina.chrapova@gmail.com

Душкин М.И. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: midushkin@soramn.ru

женных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Содержание животных на жировой диете.

Крыс разделяли на 4 группы по 12 животных в каждой: крысы 1-й и 2-й групп (линий WAG и НИСАГ соответственно) содержались на стандартной лабораторной диете (322 ккал/100 г, белки 19 %, углеводы 60 %, жиры 6 %), крысы 3-й и 4-й групп (линий WAG и НИСАГ соответственно) получали высококалорийную жировую диету (443 ккал/100 г, белки 17 %, углеводы 60 %, жиры 16 %) в течение 8 недель.

Острый воспалительный ответ при введении ЛПС на фоне безафибрата. Крыс линии НИСАГ и WAG разделяли на 7 групп по 10 животных в каждой: 1-я группа составляла интактный контроль, животным остальных групп внутрибрюшинно вводили: физиологический раствор (2 мл/кг массы тела, 2-я группа); двукратно с интервалом в 24 часа персиковое масло (2 мл/кг, 3-я группа); растворенный в физиологическом растворе ЛПС *E. coli* (LPS 0111B:4, «Sigma-Aldrich», США) в дозе 500 мкг/кг (4-я группа); двукратно с интервалом в 24 часа растворенный в персиковом масле безафибрат («Sigma-Aldrich») в дозе 50 мг/кг (5-я группа); двукратно персиковое масло (2 мл/кг), через 1 час после второй инъекции масла – ЛПС в дозе 500 мкг/кг (6-я группа); двукратно безафибрат с интервалом в 24 часа в дозе 50 мг/кг, через 1 час после второй инъекции масла безафибрата – ЛПС в дозе 500 мкг/кг (7-я группа).

Модель десинхроноза. Крыс линии НИСАГ и WAG разделяли на две группы по 10 особей в каждой. Контрольные группы содержались при естественном освещении, экспериментальные группы подвергались круглосуточному освещению в течение 14 дней.

Массу животных определяли взвешиванием. Систолическое и диастолическое АД измеряли неинвазивным методом с помощью рекордера CODA 2 (Kent Scientific Corporation, США) без использования наркоза, помещая крыс в термостатированные камеры. Базальный уровень определяли натощак (после отъема корма на 14 часов) электрохимическим способом с использованием глюкометра OneTouch Horizon (LifeScan, США). Тест толерантности к глюкозе также проводили натощак с использованием глюкометра OneTouch Horizon. В тесте толерантности к глюкозе животным вводили внутрибрюшинно раствор глюкозы из расчета 0,5 г/1 мл/100 г живого веса. Концентрацию глюкозы в крови измеряли непосредственно перед введением раствора глюкозы, а затем через 60, 120 и 180 минут после введения.

Животных забивали быстрой декапитацией. При забое забирали кровь животных и образцы

ткани печени. Кровь центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин, полученную сыворотку крови алиquotировали и хранили при -20°C . Из образцов тканей печени получали экстракт ядерных белков и цитозольный экстракт с помощью набора Nuclear Extraction Kit (Cayman Chemical, США). В сыворотке крови определяли концентрацию общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП) и триглицеридов (ТГ) энзиматическим колориметрическим способом с использованием наборов Bioscon (ФРГ). Концентрацию свободных жирных кислот (СЖК) измеряли ферментативным методом с помощью набора реактивов (NEFA FS, DiaSys, Германия). Содержание фактора некроза опухоли α (TNF- α) и ИЛ-6 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом, используя коммерческие наборы ELISA для крыс (eBioscience, Inc., США), концентрацию кортикостерона – методом конкурентного белкового связывания [5].

Цитозольный экстракт ткани печени использовали для проведения иммуноблоттинга: белки разделяли в полиакриламидном геле, после чего полусухим методом переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Whatman, Великобритания), после забивки мембрану инкубировали с кроличьими антикрысиными первичными антителами к PPAR- α , к PPAR- γ (Abcam, Великобритания) или к бета-актину (BioVision, США), а затем – со вторичными ослиными антикроличьими антителами, меченными щелочной фосфатазой (Abcam). Визуализацию иммуноблота проводили с помощью таблетированного субстрата к щелочной фосфатазе SigmaFast (Sigma-Aldrich, США) с последующим компьютерным анализом полос при помощи программы TotalLab. Результаты определения PPAR выражали в единицах поглощения при 450 нм на 1 мг белка.

Статистический анализ. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего. Статистическую значимость различий средних величин определяли с помощью критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони после проверки на нормальность распределения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях стандартного содержания у крыс линии НИСАГ систолическое АД (на 36 %), диастолическое АД (на 12 %), а также масса тела (на 12 %) были достоверно выше, в то время как масса эпидидимального жира – в 1,8 раза ниже, чем у крыс линии WAG (табл. 1). Анализ биохимических показателей сыворотки крови показал, что крысы НИСАГ характеризуются повышенным

Таблица 1

Влияние жировой диеты на показатели развития метаболического синдрома у крыс линий НИСАГ и WAG

Показатель	Крысы линии WAG (n = 12)		Крысы линии НИСАГ (n = 12)	
	Стандартная диета	Жировая диета	Стандартная диета	Жировая диета
Масса тела, г	323 ± 16	330 ± 35	362 ± 21*	402 ± 42*
Масса эпидидимального жира, г	2,9 ± 0,1	3,6 ± 0,2 ^{##}	1,6 ± 0,2**	1,9 ± 0,3**
Систолическое АД, мм рт. ст.	124 ± 11	130 ± 15	169 ± 24*	186 ± 35*
Диастолическое АД, мм рт. ст.	99 ± 10	85 ± 12	118 ± 22	146 ± 28*
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,4 ± 0,1	5,1 ± 0,2 [#]	5,2 ± 0,2*	4,7 ± 0,2*
Содержание общего ХС, мг/дл	66,6 ± 2,1	78,4 ± 3,8 [#]	52,7 ± 1,2**	54,2 ± 3,2**
Содержание ХС ЛПВП, мг/дл	42,4 ± 2,2	36,8 ± 1,5 [#]	32,1 ± 3,2**	33,6 ± 2,8*
Содержание ТГ, мг/дл	75,2 ± 4,8	130,8 ± 14,5 [#]	83,6 ± 4,1	112,3 ± 12,7 [#]
Содержание СЖК, мг/дл	12,1 ± 1,4	24,4 ± 3,2 ^{##}	26,2 ± 2,5**	23,1 ± 1,6
Содержание TNF-α, пг/мл	7,9 ± 0,9	19,7 ± 2,6 [#]	14,3 ± 1,6**	18,2 ± 2,7
Содержание ИЛ-6, пг/мл	36,1 ± 3,5	115,8 ± 22,8 [#]	35,9 ± 2,7	60,6 ± 12,3 ^{##}
Содержание кортикостерона, нмоль/л	151,9 ± 35,2	256,9 ± 46,9	174,4 ± 52,8	124,4 ± 63*
ДНК-связывающая активность PPAR-α, отн. ед.	1,00 ± 0,08	0,86 ± 0,09 [#]	0,81 ± 0,06*	1,14 ± 0,10 [#] *

Примечание. Знаком # обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей животных, содержащихся на стандартной диете (# – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$); здесь, в табл. 2, 3 и на рисунке знаком * обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей крыс линии WAG (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$).

Таблица 2

Влияние ЛПС и безафибрата на ДНК-связывающую активность PPAR-α и PPAR-γ ядерного экстракта печени крыс линий НИСАГ и WAG

Группа животных и условия эксперимента	ДНК-связывающая активность, ЕД/мг белка			
	PPAR-α		PPAR-γ	
	WAG	НИСАГ	WAG	НИСАГ
Интактные	0,306 ± 0,015	0,234 ± 0,02*	0,089 ± 0,003	0,067 ± 0,004*
Введение физиологического раствора	0,322 ± 0,032	0,254 ± 0,038	0,092 ± 0,002	0,072 ± 0,003
Введение ЛПС	0,194 ± 0,025 [#]	0,217 ± 0,023	0,065 ± 0,005 [#]	0,049 ± 0,003 [#]
Введение масла	0,309 ± 0,038	0,245 ± 0,025	0,090 ± 0,001	0,055 ± 0,004*
Введение безафибрата	0,423 ± 0,036	0,314 ± 0,046*	0,085 ± 0,006	0,058 ± 0,005*
Введение ЛПС и масла	0,231 ± 0,022	0,169 ± 0,044*	0,068 ± 0,002	0,045 ± 0,004*
Введение ЛПС и безафибрата	0,296 ± 0,035	0,315 ± 0,034	0,074 ± 0,008	0,058 ± 0,004*

Примечание. Знаком # обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей животных, которым вводился физиологический раствор.

содержанием глюкозы (на 16 %), СЖК (на 116 %), провоспалительного цитокина TNF-α (на 81 %). Уровень общего ХС и ХС ЛПВП у крыс НИСАГ был статистически значимо снижен на 26 и 32 % соответственно в сравнении с крысами WAG (см. табл. 1). Вместе с тем по содержанию кортикостерона, ТГ и ИЛ-6 линии животных достоверно не различались. При исследовании ДНК-связывающей активности PPAR-α и -γ в ядерном экстракте печени крыс обнаружено (табл. 1, 2), что у крыс НИСАГ она соответственно на 25 и 30 % меньше, чем у крыс линии WAG.

Содержание на жировой диете приводило к развитию метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома, у крыс линии WAG, но не НИСАГ (см. табл. 1). У крыс линии WAG наблюдалось достоверное повышение массы эпидидимального жира, базального уровня глюкозы (на 16 %), общего ХС (на 18 %), ТГ (на 74 %), СЖК (на 90 %) и снижение уровня ХС ЛПВП на 15 % в сыворотке крови. Известно, что жировая диета индуцирует продукцию воспалительных цитокинов. У крыс WAG она стимулировала повышение концентрации TNF-α и ИЛ-6 у

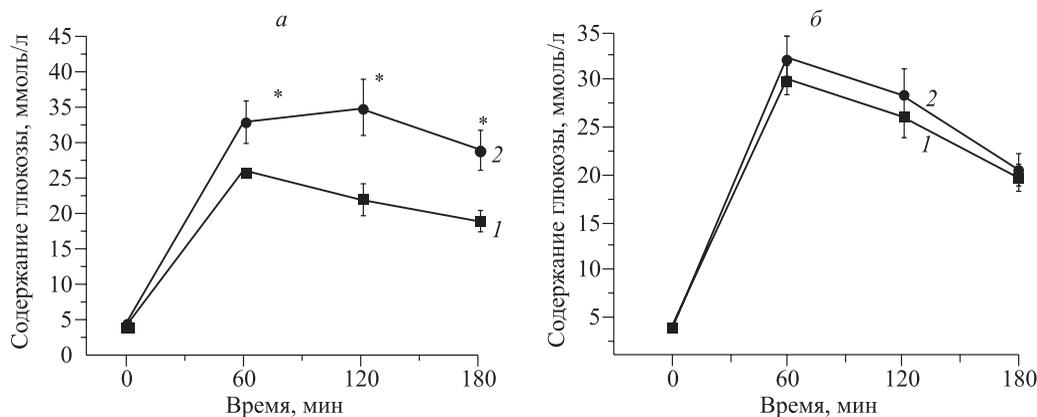


Рис. Влияние жировой диеты на толерантность к глюкозе крыс линии WAG (а) и НИСАГ (б). 1 – стандартная диета, 2 – жировая диета

сыворотке крови (в 2,5 и 3 раза соответственно), в то время как у крыс НИСАГ – менее значительно, при этом не оказывая существенного влияния на базальный уровень глюкозы, общего ХС, ХС ЛПВП и СЖК. Важно отметить, что, если крысы WAG отвечали на жировую диету почти двукратным повышением уровня кортикостерона в крови, то у крыс НИСАГ он достоверно не изменялся (см. табл. 1). При использовании теста на толерантность к глюкозе было обнаружено, что у крыс WAG жировая диета вызывает значительное повышение уровня глюкозы во все исследуемые временные интервалы (60, 120, 180 мин) (см. рисунок, а), в то время как у крыс НИСАГ достоверных изменений уровня глюкозы не наблюдалось (см. рисунок, б). Влияние жировой диеты на ДНК-связывающую активность PPAR- α у крыс WAG и НИСАГ носило реципрокный характер: в печени крыс WAG оно уменьшалось на 15 %, а в печени крыс НИСАГ повышалось на 29,5 % (см. табл. 1).

Некоторые схожие с выявленными у крыс линии НИСАГ метаболические отклонения наблюдали ранее у спонтанно гипертензивных крыс линии SHR, которые также более резистентны к развитию метаболических нарушений при содержании на жировой диете, чем крысы Wistar [13]. Базовый уровень общего ХС и ХС ЛПВП и антиоксидантный статус у крыс НИСАГ и SHR [9] ниже, чем у животных их генезисных линий. У крыс SHR уменьшение содержания ХС является следствием низкой активности скваленсаинтазы, но высокой активности ключевых ферментов мевалонатного пути, что приводит к увеличению синтеза изопреноидов, усиливающих различные провоспалительные сигналы через пренилирование малых ГТФаз [7]. Устойчивость к висцеральному ожирению, индуцированному жировой диетой, проявляется также у крыс линии SPORTS

с высоким уровнем адреналина, что свидетельствует о вовлечении в этот процесс бета-адренергических путей [8].

Обнаруженный нами повышенный уровень TNF- α у крыс НИСАГ свидетельствует о возможном провоспалительном статусе у этой линии животных. Поэтому мы исследовали влияние введения ЛПС *E. coli* и активатора PPAR- α безафибрата, обладающего гиполлипидемическими и противовоспалительными свойствами, на липидный спектр и ДНК-связывающую активность PPAR- α и - γ .

Через 24 ч после введения бактериального ЛПС ДНК-связывающая активность PPAR- α в печени крыс WAG снижалась приблизительно на 40 %, в то время как у крыс НИСАГ достоверно не изменялась, активность PPAR- γ у крыс обеих линий уменьшалась на 31 и 32 % соответственно (см. табл. 2). Введение ЛПС не приводило к достоверным изменениям АД и уровня липидов крыс изучаемых линий (табл. 3). Введение безафибрата стимулировало повышение ДНК-связывающей активности PPAR- α в печени у крыс линии WAG (приблизительно на 40 %), но не оказывало достоверного влияния на активность этого транскрипционного фактора у крыс линии НИСАГ по сравнению с контролем (введение персикового масла) (см. табл. 2). При этом активность PPAR- α у крыс НИСАГ оставалась на 34,7 % меньше, чем у крыс WAG. Как и ожидалось, безафибрат снижал уровень ТГ в плазме крови приблизительно на 60 % у обеих линий (см. табл. 3). Однако одновременно наблюдалось уменьшение содержания ХС ЛПВП в 2 раза, более выраженное у крыс НИСАГ, чем у крыс WAG. Введение ЛПС на фоне предварительных инъекций безафибрата приводило к гибели 50 % животных линии НИСАГ, но не WAG, с признаками кровотечений в носовой и брюшной полости, характерных для тромбогеморрагиче-

Таблица 3

Влияние ЛПС и безафибрата на содержание липидов в сыворотке крови крыс линий WAG и НИСАГ, мг/дл

Группа животных и условия эксперимента	Триглицериды		Общий холестерин		Холестерин ЛПВП	
	WAG	НИСАГ	WAG	НИСАГ	WAG	НИСАГ
Интактные	111,0 ± 9,5	123,0 ± 11,2	79,5 ± 3,8	62,2 ± 5,4**	50,5 ± 2,3	37,5 ± 2,2**
Введение физиологического раствора	105 ± 8,1	115 ± 10,2	74,4 ± 4,1	59,5 ± 3,2**	47,1 ± 4,1	36,2 ± 2,4**
Введение ЛПС	125,0 ± 9,6	134,0 ± 11,2	84,1 ± 4,5	57,4 ± 5,8**	54,6 ± 5,1	35,3 ± 3,1**
Введение масла	87,9 ± 9,1	83,7 ± 8,4	86,6 ± 5,7	81,5 ± 8,3	52,2 ± 2,5	45,6 ± 2,8
Введение безафибрата	76,5 ± 7,2	75,4 ± 6,9	67,8 ± 6,2	57,0 ± 4,2*	39,1 ± 3,1	23,2 ± 1,8*
Введение ЛПС и масла	112,8 ± 10,6	95,9 ± 9,3	80,4 ± 7,2	67,32 ± 5,2	46,2 ± 3,9	46,78 ± 4,4
Введение ЛПС и безафибрата	81,4 ± 7,4	126,6 ± 10,5*	70,2 ± 6,3	65,5 ± 5,8	42,4 ± 4,9	32,2 ± 3,1*

Таблица 4

Влияние постоянного освещения на содержание липидов, глюкозы и кортикостерона крови и белка PPAR-α в печени крыс линии НИСАГ и WAG

Показатель	Крысы линии WAG (n = 10)		Крысы линии НИСАГ (n = 10)	
	Нормальный световой режим	Постоянное освещение	Нормальный световой режим	Постоянное освещение
Масса тела, г	363 ± 18	327 ± 35 [#]	348 ± 22	341 ± 42
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,5 ± 0,1	3,4 ± 0,2 [#]	5,3 ± 0,3*	4,32 ± 0,3 ^{#,*}
Содержание общего ХС, мг/дл	78,8 ± 3,2	68,9 ± 2,6 [#]	62,1 ± 3,5**	49,1 ± 2,3 ^{#,**}
Содержание ХС ЛПВП, мг/дл	49,5 ± 1,2	35,2 ± 2,3 ^{##}	37,1 ± 2,9**	28,2 ± 2,3 ^{##,*}
Содержание ТГ, мг/дл	118,0 ± 6,6	74,4 ± 3,7 ^{##}	116,0 ± 6,9	76,8 ± 2,8 ^{##}
Содержание кортикостерона, нмоль/л	148,2 ± 56,7	501,9 ± 137,8 [#]	134,8 ± 50,6	390,9 ± 113,0 ^{#,*}
Белковая экспрессия PPAR-α в печени, отн. ед.	1,00 ± 0,05	0,91 ± 0,06	1,12 ± 0,04*	1,38 ± 0,07 ^{#,*}

Примечание. Знаком # обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей животных, содержащихся при нормальном освещении (# – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$).

ского синдрома. Токсическое воздействие ЛПС, выявленное на фоне безафибрата у крыс НИСАГ, ассоциировалось с уменьшением концентрации ХС ЛПВП и повышением содержания ТГ (соответственно на 42 и 68 % в сравнении с введением только ЛПС). Результаты свидетельствуют, что крысы линии НИСАГ, имеющие низкий уровень ЛПВП, более чувствительны к эндотоксину при действии безафибрата, который может индуцировать врожденные реакции иммунного ответа за счет уменьшения защитной функции ЛПВП [10] и оказывать депрессивное влияние на формирование клеток, участвующих в реакциях адаптивного иммунитета.

Содержание крыс при постоянном освещении (табл. 4) привело к достоверному снижению массы тела у крыс WAG, не вызвав изменения этого показателя у крыс НИСАГ, и в результате межлинейные различия нивелировались. Воздействие постоянного освещения на показатели углеводно-

го обмена проявилось в уменьшении базального уровня глюкозы в сыворотке крови у животных обеих исследованных линий, причем крысы нормотензивной линии WAG проявили более значительное снижение показателя (на 25 %) по сравнению с гипертензивными животными линии НИСАГ (на 20 %).

Постоянное освещение приводило к росту содержания кортикостерона в сыворотке крови крыс, в большей степени выраженному у животных линии WAG, чем у крыс НИСАГ (в 3,4 и 2,9 раза соответственно по сравнению с базальным уровнем). При этом наблюдалось снижение всех исследованных показателей липидного обмена в крови, более выраженное у крыс линии WAG (см. табл. 4). Относительное содержание белка PPAR-α в печени крыс НИСАГ было на 12 % выше, чем у крыс линии WAG при нормальном световом режиме. Постоянное освещение привело к выраженному увеличению содержания белка

PPAR- α в печени крыс линии НИСАГ (на 23 %), но не у крыс линии WAG, у которых оно, напротив, несколько снижалось (на 9 %). В тесте на толерантность к глюкозе было выявлено, что постоянное освещение вызывало значительный рост и последующее замедленное снижение содержания углевода в крови в ответ на инъекцию глюкозы у животных обеих линий по сравнению с содержанием при нормальном световом режиме. Влияние постоянного освещения на утилизацию глюкозы в данном тесте оказалось более выраженным у крыс линии НИСАГ.

ВЫВОДЫ

1. Крысы линии НИСАГ в сравнении с крысами WAG характеризуются сниженным содержанием общего ХС, ХС ЛПВП, но повышенным уровнем СЖК и TNF- α в крови, а также сниженной ДНК-связывающей активности PPAR- α и γ в печени.

2. Крысы линии НИСАГ в сравнении с крысами WAG более устойчивы к развитию признаков метаболического синдрома при их содержании на жировой диете.

3. Крысы линии НИСАГ, имеющие низкий уровень ЛПВП, более чувствительны к эндотоксину при действии безафибрата, который может индуцировать врожденные реакции иммунного ответа за счет снижения защитной функции ЛПВП.

4. Уровень кортикостерона в крови у крыс линии НИСАГ повышается в значительно меньшей степени, чем у крыс WAG, в ответ на такие виды стресса, как десинхронизация и жировая диета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузуева И.И., Филлюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д. и др. Структурная характеристика коры надпочечников крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией в позднем периоде постнатального развития // Бюл. эксперим. биол. мед. 2012. 153. (9). 380–383.

2. Маркель А.Л., Калашникова Е.В., Горякин С.В. и др. Характеристика функциональной активности симпатoadреналовой системы у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Бюл. эксперим. биол. мед. 2006. 141. (3). 244–247.

3. Маркель А.Л., Шишкина Г.Т. Генетические корреляции между ответом артериального давле-

ния на эмоциональный стресс и концентрацией α 1-рецепторов в различных отделах мозга // Генетика. 1992. 28. (11). 130–133.

4. Пивоварова Е.Н., Душкин М.И., Перепечева М.Л., Кобзев В.А., Труфакин В.А., Маркель А.Л. Признаки метаболического синдрома у гипертензивной линии крыс НИСАГ ассоциируются с ростом активности транскрипционных факторов PPAR, LXR, PXR и CAR в печени // Биомедицинская химия. 2011. 57. (4). С. 480–489.

5. Тинников А.А., Бажан Н.М. Определение глюкокортикоидов в плазме крови и инкубатах надпочечников методом конкурентного белкового связывания // Лаб. дело. 1984. 12. (7). С. 709–713.

6. Хворостова Ю.В., Горякин С.В., Петрова Г.В. и др. Характеристика функций гипоталамо-гипофизарно-адреналокортикальной системы у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Рос. физиол. журн. 2002. 92. (11). 1423–1432.

7. Han J., Jiang D-M., Du C-Q. Alteration of enzyme expressions in mevalonate pathway: possible role for cardiovascular remodeling in spontaneously hypertensive rats // Circ. J. 2011. 75. (6). 1409–1417.

8. Hattori A., Mawatari K., Tsuzuki S. et al. Beta-adrenergic-AMPK pathway phosphorylates acetyl-CoA carboxylase in a high-epinephrine rat model, SPORTS // Obesity (Silver Spring). 2010. 18. (1). 48–54.

9. Kitts D.D., Yuan Y.V., Godin D.V. Plasma and lipoprotein lipid composition and hepatic antioxidant status in spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive (WKY) rats // Can. J. Pharmacol. 1998. 76. (2). 202–209.

10. Liu D., Ji L., Zhang D. et al. Nonenzymatic glycation of high-density lipoprotein impairs its anti-inflammatory effects in innate immunity // Diabetes Metab. Res. Rev. 2012. 28. (2). 186–195.

11. Markel A.L., Redina O.E., Gelinsky M.A. et al. Neuroendocrine profiling in inherited stress-induced arterial hypertension rat strain with stress-sensitive arterial hypertension // J. Endocrinol. 2007. 195. (3). 439–450.

12. Mormede P., Foury A., Barat P. et al. Molecular genetics of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and function // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2011. 1220. 127–136.

13. Van den Brandt J., Kovacs P., Kloting I. Metabolic features in disease-resistant as well as in spontaneously hypertensive rats and newly established obese Wistar Ottawa Karlsburg inbred rats // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 2000. 24. (12). 1618–1622.

PECULIARITIES OF LIPID AND GLUCOSE METABOLISM IN HYPERTENSIVE RATS OF STRAIN ISIAH

**Gennagy Gennadevich KOVSHIK¹, Marina Valerevna KHRAPOVA^{1,2},
Mikhail Ivanovich DUSHKIN^{1,2}**

¹ *Institute of Physiology SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

² *Institute of Internal Medicine SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The work was aimed at the comparative study of serum lipid profile, glucose, corticosterone, TNF- α , IL6, liver PPAR- α and - γ DNA-binding activity and blood pressure levels in six-monthly hypertensive rats of ISIAH strain and normotensive rats of WAG strain under normal conditions and by high-fat diet, injection of *E. coli* lipopolysaccharide (LPS), bezafibrate, and constant light have been studied. It was found that most studied indices in intact ISIAN rats are distinguished from WAG rats significantly. In contrast to WAG rats, high-fat diet did not lead to sign development of metabolic syndrome in ISIAH rats which however were more sensitive to LPS and bezafibrate exposure and less responsive to constant light. Thus, the ISIAH rats may be a genetic model to uncover novel mechanisms of resistance to metabolic syndrome, hypersensitivity to inflammatory stimuli and adaptation resources of organism.

Key words: hypertensive ISIAN rats, lipid and glucose metabolism, high-fad diet, bacterial endotoxin, desynchronosis, PPAR, corticosterone.

Kovshik G.G. – postgraduate student, e-mail: midushkin@soramn.ru

Khrapova M.V. – candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: marina.chrapova@gmail.com

Dushkin M.I. – doctor of medical sciences, professor; head of laboratory for molecular and cellular mechanisms, e-mail: midushkin@soramn.ru

ТИПОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ α_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Евгения Владимировна КУРЬЯНОВА, Арман Маратович СИТИМОВ,
Нина Александровна ГОРСТ, Давид Львович ТЕПЛЫЙ

*Инновационный Естественный институт Астраханского государственного университета
414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1*

Исследовали изменения variability сердечного ритма (BCP) нелинейных крыс при однократном (0,5 мг/кг массы тела) и 7-дневном (0,3 мг/кг массы тела) введении α_1 -адреномиметика фенилэфрина (ФЭ) с учетом исходного состояния регуляторных систем особей, которое оценивали по абсолютной мощности доминировавших в спектре высокочастотных (HF) волн. Установлено, что крысы со средней мощностью волн HF (тип «вегетативное равновесие») дают наиболее быстрое и значительное урежение частоты сердечного ритма, а также повышение variability кардиоинтервалов в HF-диапазоне при однократном введении ФЭ, во всех диапазонах, особенно очень низкочастотном (VLF) и низкочастотном (LF), при 7-дневном введении ФЭ. У особей с высокой мощностью волн HF (ваготонический тип) изменения BCP аналогичные, но на однократное введение ФЭ развиваются медленнее, а при 7-дневном введении ФЭ отличаются особенно сильным ростом мощности VLF-волн. У крыс с низкой мощностью HF-волн (симпатикотонический тип) развивается наиболее слабая брадикардия, медленное усиление волн HF, LF, VLF и индекса централизации при однократном введении ФЭ. После 7-дневного введения ФЭ у этих крыс умеренно повышается мощность только HF-волн, т.е. активность автономного контура регуляции остается преобладающей. Таким образом, стимуляция периферических α_1 -адренорецепторов может сопровождаться ростом мощности волн всех диапазонов спектра BCP, а не только LF-волн. Следовательно, она способна индуцировать повышение активности депрессорных механизмов с участием всех уровней системы регуляции. Соответственно, для выявления закономерных реакций на фармакологические пробы необходимо учитывать исходный тип BCP экспериментальных животных.

Ключевые слова: variability сердечного ритма, спектральный анализ, вегетативное равновесие, симпатикотонический тип, ваготонический тип, фенилэфрин, α_1 -адренорецепторы.

Для изучения механизмов формирования variability сердечного ритма (BCP) широко используется фармакологический анализ, заключающийся в выявлении изменений BCP после введения агонистов или блокаторов адрено- и холинорецепторов [2, 7, 8, 10, 13]. Трудность для формирования определенных заключений по изменениям BCP в таких экспериментах создает нередко наблюдающаяся разнонаправленность эффектов. Одной из основных причин этого является различие в исходном состоянии регуляторных систем обследуемых особей. Однако данный фактор в работе с экспериментальными животными учитывается далеко не всегда. Ранее

нами был разработан алгоритм определения типа регуляции сердечного ритма (CP) у нелинейных крыс на основе относительной и абсолютной мощности волн спектра BCP [3], обнаружены типологические особенности BCP и интенсивности процессов перекисидации липидов в условиях фоновой активности [5] и основные паттерны их изменений при остром эмоциональном стрессе [4]. Целью настоящей работы стал анализ изменений BCP на введение агониста периферических α_1 -адренорецепторов у самцов нелинейных крыс с исходно различным типом регуляции сердечного ритма.

*Курьянова Е.В. – к.б.н., доцент кафедры физиологии и морфологии человека и животных,
e-mail: fyzevk@rambler.ru*

*Ситимов А.М. – магистрант по направлению «Естественнонаучное образование»
биологического факультета*

Горст Н.А. – д.б.н., проф. кафедры физиологии и морфологии человека и животных

Теплый Д.Л. – д.б.н., проф., зав. кафедрой физиологии и морфологии человека и животных

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 49 половозрелых самцах нелинейных белых крыс. Эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755) и Европейской конвенцией по защите экспериментальных животных. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму.

С учетом результатов более ранних исследований [3] в эксперимент были взяты крысы, у которых в состоянии спокойного бодрствования в спектре ВСП доминировали HF-волны. При этом абсолютная мощность HF-волн у одних особей была низкой (от 0 до 3,5 мс²), у других – средней (от 3,5 до 10 мс²), у третьих – высокой (более 10 мс²). На этой основе с использованием приема ранжирования данных были сформированы три типологические группы крыс, которые в состоянии спокойного бодрствования характеризовались низкой (НМВ – симпатикотония), средней (СМВ – вегетативное равновесие) и высокой (ВМВ – ваготония) мощностью волн HF в спектре ВСП (табл. 1, 2, 3).

ЭКГ регистрировали у бодрствующих крыс на аппаратно-программном комплексе «Варикард» (Россия) с помощью миниатюрных электродов-зажимов при местном обезболивании лидокаином (0,05 мл 0,5 % раствора внутривенно). Обработка рядов RR-интервалов и анализ ВСП производились в программе «ИСКИМ6» на непрерывных отрезках из 300 RR-интервалов с точностью 1 мс. Рассчитывали частоту сердечного ритма (ЧСР, уд/мин), среднее квадратическое отклонение кардиоинтервалов (SD, мс), квадратный корень из суммы квадратов разности величин последовательных пар RR-интервалов (RMSSD, мс), моду кардиоинтервалов (Мо, мс – наиболее часто встречающееся значение длительности RR-интервалов), разность между максимальным и минимальным значениями кардиоинтервалов на исследуемом отрезке ЭКГ (ΔX, мс) и амплитуду моды (АМо, % – количество кардиоинтервалов, соответствующих модальному классу, выраженное в процентах от общего количества анализируемых кардиоинтервалов). На основе этих параметров рассчитывали индекс напряжения (ИН) по Баевскому [1] при ширине класса гистограммы 7,8 мс: $ИН = (50/7,8) \times (АМо / (2 \times \Delta X \times Мо)) \times 1000$. Спектральный анализ проводили в диапазонах HF (0,9–3,0 Гц), LF (0,32–0,9 Гц), VLF (0,18–0,32 Гц).

Таблица 1

Изменения ЧСР, некоторых показателей геометрического и статистического анализа ВСП самцов крыс разных типологических групп после однократного введения фенилэфрина

Показатель ВСП	Типологическая группа (n)	Перед введением ФЭ	Через 5 мин после введения ФЭ	Через 10 мин после введения ФЭ	Через 20 мин после введения ФЭ
ЧСР, уд/мин	НМВ (5)	343,8 ± 9,1 [#]	333,8 ± 6,6 ^{###}	338,0 ± 5,9 ^{##}	324,6 ± 6,3 ^{##}
	СМВ (10)	323,9 ± 4,0	304,6 ± 5,8 [*]	306,2 ± 6,9 [*]	300,3 ± 5,1 ^{**}
	ВМВ (11)	312,6 ± 5,5 ^{^^}	297,7 ± 7,9 ^{^^}	289,7 ± 5,6 ^{**^^}	287,3 ± 4,4 ^{**^^}
Мо, мс	НМВ (5)	176,2 ± 6,1	185,0 ± 4,8	178,2 ± 3,1 [#]	185,6 ± 3,5 [#]
	СМВ (10)	185,0 ± 2,2	197,5 ± 4,1 [*]	196,5 ± 4,6 [*]	199,9 ± 3,6 [*]
	ВМВ (11)	195,0 ± 4,2 [#]	202,6 ± 5,6	203,0 ± 2,8 ^{^^}	209,0 ± 2,8 ^{*^^}
RMSSD, мс	НМВ (5)	3,6 ± 0,3 ^{##}	3,8 ± 0,4 [#]	3,4 ± 0,3 [#]	5,2 ± 0,6 [*]
	СМВ (10)	5,9 ± 0,5	6,8 ± 0,7	6,7 ± 0,8	6,6 ± 0,6
	ВМВ (11)	11,1 ± 0,7 ^{###^^}	10,8 ± 0,6 ^{###^^}	10,1 ± 0,6 ^{##^^}	11,5 ± 1,6 ^{#^^}
SD, мс	НМВ (5)	4,2 ± 0,3	4,0 ± 0,4	4,4 ± 0,5	5,2 ± 0,7
	СМВ (10)	5,8 ± 0,6	5,8 ± 0,6	6,0 ± 0,5	5,4 ± 0,5
	ВМВ (11)	8,3 ± 0,4 ^{##^^}	8,5 ± 0,6 ^{##^^}	8,4 ± 0,6 ^{##^^}	9,4 ± 0,3 ^{*###^^}
ИН, отн. ед.	НМВ (5)	53,2 ± 5,97 ^{##}	50,4 ± 5,4 ^{###}	43,8 ± 3,4 [#]	31,3 ± 4,0 [*]
	СМВ (10)	30,7 ± 4,0	25,9 ± 3,4	28,8 ± 4,0	33,3 ± 4,8
	ВМВ (11)	15,6 ± 1,4 ^{###^^}	13,1 ± 1,2 ^{##^^}	14,9 ± 1,8 ^{##^^}	14,2 ± 2,0 ^{###^^}

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 обозначены статистически значимые отличия от величины соответствующего показателя: знаком * – крыс перед введением ФЭ (* – при p < 0,05, ** – при p < 0,01, *** – при p < 0,001), # – крыс группы СМВ (# – при p < 0,05, ## – при p < 0,01, ### – при p < 0,001), ^ – крыс группы ВМВ (^ – при p < 0,05, ^^ – при p < 0,01, ^^ – при p < 0,001).

Таблица 2

Изменения показателей спектрального анализа ВСП самцов крыс разных типологических групп после однократного введения фенилэфрина

Показатель ВСП	Типологическая группа (n)	Перед введением ФЭ	Через 5 мин после введения ФЭ	Через 10 мин после введения ФЭ	Через 20 мин после введения ФЭ
HF, мс ²	HMB (5)	2,71 ± 0,21 [#]	3,07 ± 0,44 ^{###}	3,08 ± 0,40 ^{###}	7,37 ± 1,19 ^{**}
	СMB (10)	6,26 ± 0,65	16,05 ± 2,15 ^{***}	10,31 ± 1,11 ^{**}	14,56 ± 2,52 ^{**}
	BMB (11)	34,83 ± 4,61 ^{###,^^}	34,34 ± 3,68 ^{###,^^}	36,72 ± 3,21 ^{###,^^}	64,08 ± 4,53 ^{###,^^}
LF, мс ²	HMB (5)	0,71 ± 0,16 ^{###}	0,53 ± 0,11 ^{###}	0,69 ± 0,09 ^{###}	2,22 ± 0,25 ^{***}
	СMB (10)	2,13 ± 0,21	3,50 ± 0,58 [*]	4,18 ± 0,62 ^{**}	1,93 ± 0,39
	BMB (11)	5,06 ± 0,65 ^{###,^^}	3,88 ± 0,60 ^{###,^^}	5,20 ± 0,54 ^{###,^^}	4,85 ± 0,94 ^{###,^^}
VLF, мс ²	HMB (5)	0,77 ± 0,12 [#]	0,72 ± 0,10 [#]	1,82 ± 0,32 [*]	2,08 ± 0,34 ^{**}
	СMB (10)	1,59 ± 0,22	1,57 ± 0,21	2,88 ± 0,34 ^{**}	1,57 ± 0,23
	BMB (11)	4,05 ± 0,64 ^{###,^^}	3,67 ± 0,57 [#]	3,63 ± 0,30 ^{^^}	3,85 ± 0,45 ^{###,^}
IC, отн. ед.	HMB (5)	0,54 ± 0,03	0,46 ± 0,06	0,79 ± 0,07 [*]	0,72 ± 0,06 ^{*,##}
	СMB (10)	0,58 ± 0,10	0,35 ± 0,07	0,56 ± 0,12	0,29 ± 0,07 [*]
	BMB (11)	0,41 ± 0,08	0,36 ± 0,08	0,33 ± 0,05 ^{^^}	0,38 ± 0,06 ^{^^}

Таблица 3

Изменения показателей ВСП самцов крыс разных типологических групп после 7-дневного введения фенилэфрина

Показатель ВСП	Крысы с HMB (симпатикотония), n = 5		Крысы с СMB (вегетативное равновесие), n = 15		Крысы с BMB (ваготония), n = 3	
	До введения	После введения	До введения	После введения	До введения	После введения
ЧСР, уд/мин	330,0 ± 4,7 [#]	291,4 ± 3,5 ^{***,###}	311,5 ± 3,9	246,3 ± 2,9 ^{***}	298,0 ± 6,8 ^{^^}	258,9 ± 2,5 ^{**} , ^{^^}
Mo, мс	180,9 ± 3,8	209,8 ± 2,6 ^{***,###}	191,5 ± 3,8	237,1 ± 2,5 ^{***}	199,0 ± 5,7 [^]	234,2 ± 2,2 ^{**} , ^{^^}
RMSSD, мс	3,5 ± 0,4 ^{###}	6,1 ± 0,4 ^{**} , ^{###}	6,0 ± 0,2	11,0 ± 0,6 ^{***}	12,0 ± 0,7 ^{###,^^}	12,1 ± 0,8 ^{^^}
SD, мс	4,1 ± 0,3 ^{###}	5,0 ± 0,5 ^{###}	6,3 ± 0,1	14,6 ± 0,7 ^{***}	8,0 ± 0,6 ^{###,^^}	8,5 ± 0,7 ^{###,^^}
ИН, отн. ед.	52,3 ± 5,0 ^{##}	30,2 ± 2,1 ^{*,###}	33,4 ± 2,9	8,00 ± 0,5 ^{***}	13,6 ± 1,6 ^{###,^^}	22,3 ± 1,8 [*] , ^{###,^}
HFабс, мс ²	2,9 ± 0,1 ^{##}	6,4 ± 0,7 ^{**} , ^{###}	7,8 ± 0,9	23,1 ± 2,3 ^{***}	17,5 ± 1,6 ^{###,^^}	20,7 ± 2,2 ^{^^}
LFабс, мс ²	1,3 ± 0,2	1,7 ± 0,1 ^{##}	3,5 ± 0,7	13,7 ± 1,4 ^{***}	7,8 ± 0,8 ^{#,^^}	11,0 ± 0,8 ^{^^}
VLFабс, мс ²	1,1 ± 0,1 ^{##}	1,6 ± 0,2 ^{###}	3,2 ± 0,4	15,7 ± 1,5 ^{***}	4,1 ± 0,4 ^{^^}	17,8 ± 1,4 ^{***} , ^{^^}
HF, %	53,4 ± 3,2	66,0 ± 3,2 ^{*,###}	60,3 ± 2,2	43,7 ± 1,2 ^{^^}	54,1 ± 2,6	42,0 ± 3,2 ^{*,^^}
LF, %	24,9 ± 1,4	18,0 ± 1,8 ^{*,#}	20,2 ± 1,2	25,7 ± 1,7	29,1 ± 2,5 ^{##}	22,0 ± 1,5
VLF, %	20,7 ± 2,2	16,0 ± 1,4 [#]	19,8 ± 1,3	30,8 ± 1,7 ^{***}	16,8 ± 1,6	36,0 ± 2,9 ^{**} , ^{^^}
IC, отн. ед.	0,80 ± 0,08	0,44 ± 0,05 ^{***,##}	0,67 ± 0,10	1,22 ± 0,12 ^{***}	0,69 ± 0,06	1,40 ± 0,11 ^{**} , ^{^^}

Определяли абсолютную мощность волн (мс²), рассчитывали относительные мощности (%) от общей мощности спектра колебаний (HF%, LF% VLF%), индекс централизации (IC = (LF+VLF)/HF) [1].

В качестве α₁-адреномиметика использовали фенилэфрин (ФЭ) с учетом данных [8, 12, 14]. Поскольку в естественных условиях ситуации, связанные с усилением адренергических влияний, возникают с меньшей или большей степенью регулярности, в работе применяли два режима введения ФЭ: 1) однократное – в дозе 0,5 мг/кг массы тела внутривенно, 2) регулярное –

в дозе 0,3 мг/кг массы тела внутривенно ежедневно в период с 8 до 10 ч в течение 7 дней. Учитывая данные литературы [12] об изменении чувствительности α₁-адренорецепторов миокарда при регулярном введении ФЭ, предполагали выявить изменения в реакции сердечного ритма на ФЭ и их особенности у животных с различными типами ВСП.

Анализ ВСП крыс выполняли в состоянии спокойного бодрствования, на 5-й, 10-й и 20-й минутах после однократного введения препарата, через 20 минут после последней инъекции при 7-дневном введении ФЭ. Изменения ВСП в усло-

виях фармакологических проб анализировали с учетом исходного состояния регуляторных систем особей, применяя типологический подход.

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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ исходных данных показал, что различия между типологическими группами крыс с НМВ, СМВ и ВМВ по ЧСР и параметрам ВСР были весьма существенными (см. табл. 1–3). Согласно табл. 1, в течение 5–20 мин после однократного введения ФЭ у большинства крыс произошло небольшое урежение ЧСР. Более всего ЧСР снизилась у крыс с вегетативным равновесием (на 7,3 %, $p < 0,01$) и ваготонией (на 8,1 %, $p < 0,01$). У особей-симпатотоников урежение сердцебиений носило только характер тенденции (на 5,6 %, $p < 0,1$).

Показатели общей variability CP повышались, но рост RMSSD оказался существенным только у крыс с НМВ (к 20-й мин наблюдения на 44 %, $p < 0,05$), а SD – у крыс с ВМВ (к 20-й мин на 13,2 %, $p < 0,05$). ИИ изменился незначительно, лишь у особей с НМВ он снизился к 20-й мин опыта (на 41,5 %, $p < 0,05$).

Анализ спектральных параметров ВСР выявил (см. табл. 2), что наибольшее повышение мощности волн после однократной инъекции ФЭ произошло в диапазоне HF. Ожидавшееся усиление медленных волн ВСР после однократного введения ФЭ оказалось менее выраженным.

Наиболее быстро и значительно мощность спектра ВСР выросла у крыс с СМВ. HF-волны усилились у них к 5-й мин (на 156 %, $p < 0,001$) и в дальнейшем оставались значительно выше исходных (на 64–132 %, $p < 0,01$). Также быстро нарастали LF-волны (к 5-й мин в среднем на 54 %, $p < 0,05$, к 10-й мин – на 95 %, $p < 0,01$), а также VLF-волны (к 10-й мин в среднем на 81 %, $p < 0,01$), но к 20-й минуте мощность медленных волн нормализовалась. IC снизился к 20-й мин почти вдвое ($p < 0,05$), так как рост HF-волн оказался более значимым и стабильным, чем рост медленных волн. Следовательно, у крыс с вегетативным равновесием на однократное введение ФЭ происходила быстрая активация депрессорных механизмов с участием структур автономного контура регуляции и стволового гемодинамического центра, но с сохранением ведущей роли

в регуляции структур автономного контура, согласно [1].

У особей с ВМВ изменения волн CP развивались медленно. Прирост мощности HF стал заметным только к 20-й мин и составил 84 % ($p < 0,001$), а мощность медленных волн и IC практически не изменились (см. табл. 2). Очевидно, у крыс с ваготонией в реакцию на ФЭ вовлекались депрессорные механизмы только на уровне автономного контура регуляции, согласно [1].

У самцов с НМВ изменения variability CP после введения ФЭ также развивались медленно. Только к 10-й мин усилились волны VLF (на 136 %, $p < 0,05$), вслед за этим к 20-й мин произошел скачок мощности волн во всех диапазонах спектра: HF – на 172 % ($p < 0,01$), LF – на 212 % ($p < 0,001$) и VLF – на 170 % ($p < 0,05$). Из-за особенно резкого усиления медленных волн IC вырос на 46–33 % ($p < 0,05$). То есть у крыс с симпатикотонией активация депрессорных механизмов на введение ФЭ происходила медленно и была связана с усилением влияний со стороны надсегментарного уровня регуляции.

В результате 7-дневного введения ФЭ у всех самцов крыс произошло урежение ЧСР в среднем на 17 % ($p < 0,001$) при росте Мо кардиоинтервалов почти на 20 % ($p < 0,001$) (см. табл. 3). В наибольшей степени снижение ЧСР произошло у самцов с вегетативным равновесием (на 21 %, $p < 0,001$). Соответственно, у них, а также у крыс-ваготоников были зарегистрированы наиболее низкие абсолютные значения ЧСР. В меньшей степени – на 11,7 % ($p < 0,001$) – произошло урежение ЧСР у самцов с симпатикотонией.

Помимо урежения ЧСР регулярная стимуляция периферических α_1 -адренорецепторов сопровождалась весьма значительным ростом variability кардиоинтервалов, особенно в VLF- и LF-областях спектра ВСР (см. табл. 3). В наибольшей мере это оказалось характерным для крыс с СМВ, у которых выросла мощность волн всех спектральных диапазонов, особенно VLF – на 413 % ($p < 0,001$) и LF – на 277 % ($p < 0,001$), в меньшей степени HF – на 195 % ($p < 0,001$). При этом ИИ снизился на 76 % ($p < 0,001$), а IC повысился почти вдвое ($p < 0,001$). Доля HF-волн в спектре сократилась до 43 % ($p < 0,001$), а доля VLF-волн увеличилась до 30,8 % ($p < 0,001$). Следовательно, на фоне ФЭ у крыс с вегетативным равновесием выросла активность депрессорных механизмов при участии всех уровней регуляции, особенно надсегментарного.

Крысы с ВМВ, как и особи с СМВ, на 7-дневное введение ФЭ отреагировали повышением мощности медленных волн, наибольшим оказался прирост VLF-волн (на 335 %, $p < 0,001$), на-

растание LF-волн (на 41,5 %) оказалось статистически не существенным. Вклад VLF в общую variability кардиоинтервалов увеличился с 16 до 36 % ($p < 0,01$), а IC увеличился более чем вдвое ($p < 0,01$). В совокупности с урежением ЧСР эти изменения указывали на активацию депрессорных механизмов под контролем надсегментарного уровня регуляции.

У крыс с НМВ в результате 7-дневного введения ФЭ рост variability СР произошел только в HF-области спектра (на 136 %, $p < 0,001$), что обусловило снижение ИН (на 42 %, $p < 0,05$) и IC (на 45 %, $p < 0,001$). То есть у крыс с симпатикотонией регулярное введение ФЭ преимущественно усилило активность депрессорных механизмов на уровне автономного контура регуляции, согласно [1].

Переходя к обсуждению результатов, отмечаем, что наиболее характерными изменениями СР самцов нелинейных крыс в первые 20 минут после однократного введения α_1 -адреномиметика являются небольшое урежение ЧСР (на 5–8 %), повышение мощности HF-волн, усиление VLF- и LF-волн. Причем последние из названных изменений наименее стабильны, выявляются не у всех крыс, а преимущественно у особей с СМВ и НМВ. В свою очередь, при 7-дневном введении ФЭ урежение ЧСР выражено сильнее (на 11–21 %), в большей мере нарастает variability СР, причем у значительной части животных (с СМВ и ВМВ) повышается мощность VLF- и LF-волн.

Урежение ЧСР и рост variability кардиоинтервалов при разных режимах стимуляции α_1 -адренорецепторов свидетельствуют о повышении активности депрессорных (предположительно, парасимпатических) механизмов регуляции, что скорее всего связано с реализацией барорефлекса, согласно [2, 16]. В соответствии с теорией Р.М. Баевского [1], а также [13], это должно было проявиться в росте мощности LF-волн. Однако, по нашим данным, усиление этих волн не является строго специфичными, рост мощности волн наблюдается во всех частотных диапазонах спектра или преимущественно в одном из них, в зависимости от режима введения ФЭ и исходного типа ВСР. Так, после однократного введения агониста α_1 -адренорецепторов чаще наблюдается повышение мощности HF-волн, что согласуется с данными об изменении дыхательной функции при подъеме артериального давления в результате введения ФЭ [14]. В свою очередь, при регулярном введении ФЭ происходит увеличение доли медленных волн (особенно VLF) в спектре ВСР и более значительное урежение ЧСР, что в соответствии с концепцией Р.М. Баевского [1] свидетель-

ствует о повышении активности структур надсегментарного уровня и изменениях в гуморальном канале регуляции. Полагаем, эти изменения могли стать следствием комбинации эффектов, связанных как с реализацией барорефлекса, так и с прямым действием ФЭ на α_1 -адренорецепторы миокарда. Согласно данным литературы [6, 9, 11, 12, 15], ФЭ увеличивает длительность потенциала действия кардиомиоцитов, угнетая K^+ -ток через мембрану.

В проявлении общих изменений ВСР на стимуляцию периферических α_1 -адренорецепторов прослеживаются типологические особенности. Установлено, что наиболее быструю и существенную реакцию на введение ФЭ дают особи со СМВ или вегетативным равновесием, для которых характерны и сильная брадикардия, и значительный рост мощности волн СР, в том числе LF и VLF, при регулярном введении ФЭ. Следовательно, животные с вегетативным равновесием имеют широкий диапазон изменчивости параметров ВСР, а парасимпатический и адренергический каналы регуляции у них характеризуются высокими потенциальными возможностями к активации.

Особи с ВМВ, или ваготоническим типом по [3, 4], медленно реагируют на однократное введение ФЭ, хотя дают наибольшее урежение ЧСР. Не исключено, что у животных с исходно высоким уровнем парасимпатических влияний ниже реактивность адренергического звена регуляции. При 7-дневном введении α_1 -адреномиметика у них значительно нарастает мощность VLF-волн, т.е. усиливаются надсегментарные влияния на сердце. Предполагаем, что при высоком уровне парасимпатических влияний дальнейшее его повышение создает риск аритмий и нестабильности гемодинамики, что требует контроля со стороны вышележащих структур. Это предположение требует экспериментального подтверждения.

В свою очередь, особям с НМВ, или симпатотоникам по [3, 4], свойственна наименьшая брадикардия в ответ и на однократное, и на многократное введение ФЭ, а мощность волн СР, несмотря на прирост, остается у них ниже, чем у крыс с СМВ и ВМВ. При этом увеличение variability кардиоинтервалов на однократное введение ФЭ у них развивается медленно и сопряжено с активацией всех уровней регуляции СР. Эти данные согласуются с результатами [2] о низкой чувствительности барорефлекса у крыс с высокой активностью симпатической нервной системы и свидетельствуют в пользу предположений: 1) об участии барорефлекторного механизма в изменениях ВСР при стимуляции α_1 -адренорецепторов, 2) о высоком уровне симпатoadреналовых влия-

ний и низкой парасимпатической активности у крыс с исходно низкой мощностью волн спектра ВСП.

В целом полученные данные свидетельствуют, что стимуляция α_1 -адренорецепторов потенцирует активность депрессорных механизмов, вызывающих урежение ЧСР и повышение variability CP. При этом степень и скорость изменения ЧСР и мощности волн CP зависят от режима введения α_1 -адреномиметика и от исходного состояния регуляторных систем экспериментальных животных. В ответ на однократную стимуляцию α_1 -адренорецепторов наибольшее урежение ЧСР и рост мощности HF-волн характерно для крыс с вегетативным равновесием и ваготонией, но у последних эти изменения развиваются замедленно. У крыс с симпатикотонией урежение ЧСР незначительно, variability CP нарастает медленно, но захватывает LF- и VLF-диапазоны, что свидетельствует о повышении централизации управления. При 7-дневном введении агониста α_1 -адренорецепторов наибольшее урежение ЧСР и рост мощности волн CP, повышение доли волн VLF и централизация управления также наблюдаются у крыс с вегетативным равновесием и ваготонией, а наименьшее урежение ЧСР и рост только HF-волн характерны для особей с симпатикотонией. Эти результаты свидетельствуют, что исходный тип ВСП нелинейных крыс имеет существенное значение для формирования ответной реакции регуляторных систем на фармакологические пробы, что требует учета в экспериментальной практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем: методические рекомендации // Вестн. аритмол. 2001. (24). 1–23.
2. Кириллина Т.Н., Усачева М.А., Белкина Л.М. Особенности нейровегетативной регуляции у крыс с разной устойчивостью к стрессу, оцениваемые по variability параметров гемодинамики // Бюл. эксперим. биол. мед. 2006. 142. (10). 376–381.
3. Курьянова Е.В. К вопросу о применении спектральных и статистических параметров variability сердечного ритма для оценки нейровегетативного состояния организма в эксперименте // Бюл. СО РАМН. 2009. (6). 30–37.
4. Курьянова Е.В. Основные типы стрессиндуцированных изменений variability сердечного ритма и интенсивности свободноради-

кальных процессов у нелинейных крыс в условиях острого напряжения // Бюл. СО РАМН. 2011. (6). 47–55.

5. Курьянова Е.В., Савельева Е.С., Абуталиева Г.Е., Саскаева Б.С. Особенности свободнорадикальных процессов у нелинейных крыс с различным типом вегетативной регуляции сердечного ритма: онтогенетический аспект // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2008. Спец. выпуск, т. 2. 84–90.
6. Петрашевская Н.Н., Малихина А.П., Сидоров А.В., Лобанок Л.М. Влияние стимуляции адренорецепторов на частоту депрессии параметров потенциала действия в правом предсердии крыс // Рос. физиол. журн. 1999. 85. (4). 554–560.
7. Сальников Е.В., Фатеев М.М., Сидоров А.В. и др. Variability сердечного ритма у бодрствующих и наркотизированных крыс при воздействии β -блокаторов // Бюл. эксперим. биол. мед. 2007. 144. (10). 372–375.
8. Сергеева О.В., Алипов Н.Н., Смирнов В.М. Влияние атропина, пропранолола и атенолола на волновую структуру колебаний ритма сердца у крыс // Бюл. эксперим. биол. мед. 2008. 145. (4). 364–367.
9. Chen L., Wang L., Xu B. et al. Mechanisms of alpha1-adrenoceptor mediated QT prolongation in the diabetic rat heart // Life Sci. 2009. 84. (7–8). 250–256.
10. Elghozi J.L., Julien C. Sympathetic control of short-term heart rate variability and its pharmacological modulation // Fundam. Clin. Pharmacol. 2007. 21. (4). 337–347.
11. Fedida D., Shimoni Y., Giles W.R. A novel effect of norepinephrine on cardiac cells is mediated by alpha 1-adrenoceptors // Am. J. Physiol. 1989. 256. (5, Pt. 2). H1500–H1504.
12. Gengo P.J., Bowling N., Wyss V.L., Hayes J.S. Effects of prolonged phenylephrine infusion on cardiac adrenoceptors and calcium channels // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988. 244. (1). 100–105.
13. Heart rate variability. Standards of Measurement, Physiological interpretation and clinical use // Circulation. 1996. 93. 1043–1065.
14. McMullan S., Dick T.E., Farnham M.M., Pilowsky P.M. Effects of baroreceptor activation on respiratory variability in rat // Respir. Physiol. Neurobiol. 2009. 166. (2). 80–86.
15. Nagashima M., Hattori Y., Akaishi Y. et al. Alpha 1-adrenoceptor subtypes mediating inotropic and electrophysiological effects in mammalian myocardium // Am. J. Physiol. 1996. 271. (4, Pt. 2). H1423–H1432.
16. Stauss H.M. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2007. 34. (4). 362–368.

THE TYPOLOGICAL FEATURES OF HEART RATE VARIABILITY CHANGES IN INBRED RATS AT PERIPHERAL α_1 -ADRENORECEPTORS STIMULATION

**Evgeniya Vladimirovna KURIYANOVA, Arman Maratovich SITIMOV,
Nina Aleksandrovna HORST, David L'vovich TEPLY**

*The Astrakhan State University, Innovative Natural institute
414000, Astrakhan, Shaumyan av., 1*

The changes of heart rate variability (HRV) of inbred rats at a single introduction of α_1 -adrenomimetic phenylephrine (PE – 0.5 mg/kg body weight) and at a seven-day introduction of PE (0.3 mg/kg body weight) with consideration for the initial condition of individuals regulatory systems, that was defined at the absolute capacity of HF waves dominating in the spectrum, were studied. It is established that rats having the average HF-waves capacity (type vegetative balance) demonstrate the fastest and significant decrease of heart frequency, as well as the significant increase of RR-intervals variability in the HF range at a single introduction of PE, in all ranges, especially in VLF and LF at a seven-day introduction of PE. Individuals with high waves HF capacity (vago tonic type) have the similar changes of HVR, but these changes develop more slowly and at a seven-day introduction of PE differ by an especially strong growth of VLF waves capacity. Rats with low HF waves capacity (sympathetic type) have the weakest bradycardia as well as both the slow HF-, LF-, VLF-waves amplification and the increase of index centralization at a single introduction of PE. At a seven-day introduction of PE in these rats only HF waves show a moderate increase of capacity, it proves that the activity of the independent contour of regulation remains predominant. Thus, the stimulation of peripheral α_1 -adrenoreceptors can be accompanied by the growth of the capacity of all waves of spectrum HVR, and not only LF waves. Hence, it is capable to induce the increase of depressor mechanisms activity with participation of all levels of the regulation system. Accordingly, for revealing natural reactions to pharmacological tests it is necessary to take into account the initial type HRV of experimental animals.

Key words: heart rate variability, spectral analysis, vegetative balance, sympathetic type, vago tonic type, phenylephrine, α_1 -adrenoreceptors.

Kuriyanova E.V. – candidate biological sciences, assistant professor of the chair for physiology and morphology of human and animals, e-mail: fyzevk@rambler.ru

Sitimov A.M. – magistrand on «Natural scientific education» of biological faculty

Horst N.A. – doctor of biological sciences, professor of the chair for physiology and morphology of human and animals

Tepliy D.L. – doctor of biological sciences, professor, head of the chair for physiology and morphology of human and animals

ВЛИЯНИЕ РЕТАБОЛИЛА НА УРОВНИ АЛЬДОСТЕРОНА И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

**Марина Викторовна ОВСЮКОВА, Светлана Анатольевна ЕГОРОВА,
Тимофей Александрович ОБУТ, Татьяна Алексеевна ЭРДЫНИЕВА,
Татьяна Юрьевна ДЕМЕНТЬЕВА, Елена Тимофеевна ОБУТ,
Алексей Геннадьевич ГОРОБЧУК**

*ФГБУ НИИ физиологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, Тимакова, 4*

Установлено, что ретаболил (2,5 мг на крысу) снижает артериальное давление и уровень гипертензивного гормона альдостерона в плазме у крыс Вистар при однократном и многократно повторяющемся холододом (+4 °С) воздействии. Введение налтрексона в дозе 0,1 мг/кг, селективно блокирующего μ -опиоидные рецепторы, показало, что последние вовлечены в гипотензивный и альдостерон-понижающий эффекты ретаболила при многократно повторяющемся холододом воздействием. Таким образом, μ -опиоидный механизм блокады повышения уровня альдостерона может рассматриваться как один из вариантов гипотензивного эффекта ретаболила при многократном холододом воздействии. Ретаболил может быть использован в качестве гипотензивного и альдостерон-блокирующего средства, по крайней мере, при холододом воздействиях.

Ключевые слова: ретаболил, альдостерон, артериальное давление, μ -опиоидные рецепторы, холододом воздействие.

Неблагоприятное влияние на здоровье человека и, в частности, на сердечно-сосудистую систему может оказывать действие низких температур [8, 15, 16]. Среди людей, живущих в холодных регионах, отмечается более высокая частота развития гипертензии и сердечно-сосудистых заболеваний [15]. Индуцируемая холодом гипертензия может быть связана с гиперактивностью ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [15, 16]. Известно, что гормон клубочковой зоны коры надпочечников альдостерон оказывает у животных и человека выраженный гипертензивный эффект [11, 12, 18]. Нами было показано, что природный стероидный анаболик сетчатой зоны коры надпочечников дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС) [14, 17] снижает уровень альдостерона в плазме крыс при холододом воздействии, реализуя свое действие через μ -опиоидные рецепторы (μ -ОР) [4], а также обладает гипотензивными свойствами [5, 6]. Синтетический стероидный анаболик ретаболил ранее применялся при сердечно-сосудистых заболеваниях [1, 7], но о его действии на артериальное давление (АД) и

уровень альдостерона данных в литературе нет. Представляло интерес выяснить, обладает ли ретаболил гипотензивным эффектом, тем более что он [2], так же как и ДЭАС [3, 5], оказывает стресс-лимитирующее действие в организме.

Цель исследования – изучить влияние ретаболила на АД и уровень альдостерона у крыс при однократном и многократно повторяющемся холододом воздействии, возможность реализации его эффекта через μ -ОР у крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на самцах крыс Вистар массой 160–240 г с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС). Животных содержали в стандартных условиях вивария ФГБУ НИИ физиологии СО РАМН при свободном доступе к пище и воде. Холододом воздействие (ХВ) (+4 °С) на крыс оказывали однократно или многократно в течение 19 дней по 1 ч в день. В качестве контроля использовали интактных крыс,

Овсюкова М.В. – к.б.н., научный сотрудник группы эндокринологии, e-mail: maryov@ngs.ru

Егорова С.А. – ветеринарный врач

Обут Т.А. – д.б.н., главный научный сотрудник группы эндокринологии

Эрдыниева Т.А. – к.б.н.

Дементьева Т.Ю. – к.с.-х.н.

Обут Е.Т. – научный сотрудник группы эндокринологии

Горобчук А.Г. – к.ф.-м.н.

находившихся в состоянии покоя на протяжении опыта. Ретаболил («Гедеон Рихтер», Венгрия) вводили внутримышечно по 2,5 мг на крысу за 6 дней до измерения АД. Антагонист опиоидных рецепторов налтрексон («Sigma», США) вводили подкожно за 5 ч до измерения АД, в дозе 0,1 мг/кг, в которой он селективно блокирует μ -опиоидные рецепторы [9, 10]. Содержание альдостерона определяли в плазме системной крови методом радиоиммунологического анализа, применяя стандартизированные наборы (Франция). Систolicкое артериальное давление измеряли непрямым методом на хвосте животного с помощью прибора «Coda» (США). В опытных подгруппах было 7–19 животных.

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 t -критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показали (рис. 1), что при однократном ($p < 0,02$) и многократно повторяющемся ($p < 0,05$) ХВ происходило повышение АД у крыс. Введение животным ретаболила вызывало блокаду индуцированного холодом повышения АД как при однократном ($p < 0,04$), так и при многократно повторяющемся ХВ ($p < 0,001$), что свидетельствует о его гипотензивном эффекте. После введения животным совместно ретаболила с налтрексоном в случае многократно повторяющегося ХВ уровень АД у них не отличался от уровня АД у крыс без введения препаратов и был достоверно выше, чем у крыс после введения одного ретаболила ($p < 0,03$), т. е. происходила отмена гипотензивного эффекта ретаболила. Налтрексон в применяемой нами дозе 0,1 мг/кг селективно блокирует μ -ОР [9, 10], значит, гипотензивный эффект ретаболила при многократно повторяющемся ХВ осуществляется через μ -ОР. При однократном ХВ введение животным нал-

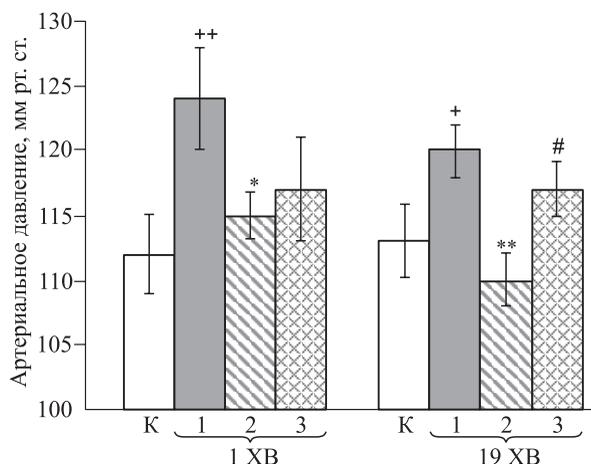


Рис. 1. Изменение артериального давления у крыс под влиянием введения им ретаболила и совместно ретаболила с налтрексоном при однократном и многократно повторяющемся холодом воздействии; 1 – при холодом воздействии без введения животным препаратов; 2 – при холодом воздействии с введением животным ретаболила; 3 – при холодом воздействии с введением животным совместно ретаболила и налтрексона; 1 ХВ – однократное холодом воздействие; 19 ХВ – многократно повторяющееся (19 дней) холодом воздействие. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей: + – контроля ($+ - p < 0,05$), ++ – $p < 0,02$), * – подгруппы животных 1 ХВ или 19 ХВ без введения препаратов ($* - p < 0,04$, $** - p < 0,001$), # – подгруппы животных 19 ХВ с введением ретаболила ($p < 0,03$)

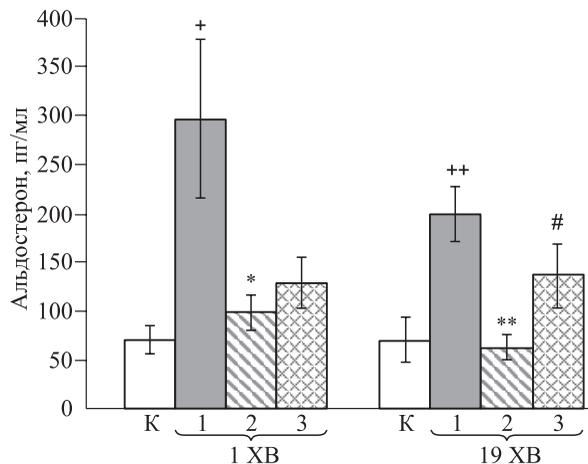


Рис. 2. Изменение уровня альдостерона у крыс под влиянием введения им ретаболила и совместно ретаболила с налтрексоном при однократном и многократно повторяющемся холодом воздействием; 1 – при холодом воздействии без введения животным препаратов; 2 – при холодом воздействии, с введением животным ретаболила; 3 – при холодом воздействием, с введением животным совместно ретаболила и налтрексона; 1 ХВ – однократное холодом воздействие; 19 ХВ – многократно повторяющееся (19 дней) холодом воздействие. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей: + – контроля ($+ - p < 0,02$), ++ – $p < 0,002$), * – подгруппы животных 1 ХВ или 19 ХВ без введения препаратов ($* - p < 0,02$, $** - p < 0,0002$), # – подгруппы животных 19 ХВ с введением ретаболила ($p < 0,04$)

трексона не оказывало влияния на уровень АД, сниженный ретаболилом.

Для оценки возможного механизма гипотензивного эффекта ретаболила в условиях ХВ мы определяли у крыс изменение уровня альдостерона. Однократное ХВ вызывало достоверный рост содержания альдостерона ($p < 0,02$) у животных в сравнении с контрольным значением (рис. 2). Введение крысам ретаболила приводило к снижению индуцируемого холодом нарастания концентрации альдостерона ($p < 0,02$). Многократно повторяющееся ХВ также сопровождалось повышением уровня альдостерона в плазме крови крыс ($p < 0,002$). Введение ретаболила животным при многократном ХВ, как и при однократном, вызывало достоверное уменьшение ($p < 0,0002$) у них индуцированного холодом увеличения содержания альдостерона, восстанавливая его до контрольного значения. Приведенные данные свидетельствуют о том, что ретаболил оказывает гипотензивный эффект при однократном и многократно повторяющемся ХВ, блокируя одновременно стресс-индуцируемое повышение уровня альдостерона. То есть одним из вариантов гипотензивного эффекта ретаболила при ХВ и, возможно, основным, является его альдостерон-блокирующее действие. В случае однократного ХВ, как видим, блокирующий эффект ретаболила на повышение АД и уровня альдостерона носил протективный, предупреждающий характер, поскольку препарат введен до холодовой экспозиции, повысившей оба изучаемых показателя.

Блокада μ -опиоидных рецепторов налтрексоном в случае многократно повторяющегося ХВ устраняла ретаболил-зависимое снижение уровня альдостерона ($p < 0,04$). Следовательно, при многократно повторяющемся ХВ ретаболил оказывал реализуемый через μ -ОР блокирующий эффект на индуцируемое холодом повышение содержания гипертензивного гормона альдостерона [11, 12, 18], что одновременно сопровождалось гипотензивным эффектом ретаболила. При однократном ХВ совместное введение крысам налтрексона с ретаболилом не отменяло понижающий эффект ретаболила на концентрацию альдостерона, вероятно, в этом случае он осуществляется не через μ -ОР. Значит, гипотензивный и альдостерон-понижающий эффекты при многократно повторяющемся и однократном ХВ реализуются по разным регуляторным каналам: в одном случае через μ -ОР, в другом – минуя μ -опиоидный механизм. Причиной проявления описанного эффекта ретаболила на уровень АД и альдостерона через μ -ОР именно при многократно повторяющемся, но не однократном ХВ, может являться необхо-

димость индукции опиоидной системы, которая осуществляется в процессе хронического воздействия [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что ретаболил оказывает гипотензивный эффект, блокируя индуцируемое холодом повышение АД и уровня альдостерона у крыс при однократном и многократно повторяющемся ХВ. То есть блокада повышения уровня гипертензивного гормона альдостерона при ХВ является одним из вариантов гипотензивного эффекта ретаболила. Установлено, что гипотензивный и альдостерон-блокирующий эффекты ретаболила при многократно повторяющемся ХВ реализуются через μ -ОР. При однократном ХВ μ -ОР не вовлечены в гипотензивный и альдостерон-блокирующий эффекты ретаболила.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лецинский Л.А., Лазаренко В.Г., Шинкарева И.А. Опыт использования некоторых путей медикаментозной профилактики нарушений ритма сердца в остром периоде инфаркта миокарда // Кардиология. 1976. 16. (1). 48–53.
2. Обут Т.А. Андроген-зависимая адаптационная реакция организма при хронических стрессовых воздействиях // Бюл. СО РАМН. 1994. (2). 62–68.
3. Обут Т.А., Овсюкова М.В., Черкасова О.П. Влияние дегидроэпиандростерон-сульфата на стресс-реактивность: μ -опиатный механизм // Рос. физиол. журн. 2002. 88. (12). 1578–1584.
4. Обут Т.А., Сарыг С.К., Овсюкова М.В. и др. Влияние дегидроэпиандростерон-сульфата на уровень альдостерона при холодом воздействии // Рос. физиол. журн. 2011. 97. (2). 214–217.
5. Овсюкова М.В., Обут Т.А. Физиологические эффекты дегидроэпиандростерон-сульфата через μ -опиоидные рецепторы при стрессогенных воздействиях. Новосибирск, 2011. 147 с.
6. Пат. № 2142802 РФ. Гипотензивное средство / Т.А. Обут, Е.Т. Обут, А.Л. Маркель; опубл. 20.12.1999.
7. Сегаль Р.Г., Жаров Е.И., Савенков П.М. Влияние ретаболила на гемодинамику и сократительность миокарда больных атеросклеротическим кардиосклерозом // Кардиология. 1970. 10. (2). 24–30.
8. Arjamaa O., Turunen L., Mäkinen T. et al. Blood pressure and hormonal responses to short whole body cold exposure in subjects with high dietary salt intake // Appl. Hum. Sci. 1999. 18. (6). 203–209.
9. Benton D. μ and κ opiate receptor involvement in agonistic behavior in mice // Pharmacol. Biochem. Behav. 1985. 23. 871–876.

10. Cover P.O., Buckingham J.C. Effects of selective opioid-receptor blockade on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses to surgical trauma in the rat // *J. Endocrinol.* 1989. 121. (2). P. 213–220.
11. Freel E.M., Connell J.M.C. Mechanisms of hypertension: the expanding role of aldosterone // *J. Am. Soc Nephrol.* 2004. 15. 1993–2001.
12. Gomez-Sanchez E.P. Central hypertensive effects of aldosterone // *Front. Neuroendocrinol.* 1997. 18. (4). 440–462.
13. Janssens C.J., Helmond F.A., Layens L.W. Chronic stress increases the opioid-mediated inhibition of the pituitary-adrenocortical response to acute stress in pigs // *Endocrinology.* 1995. 36. 1468–1473.
14. Maninger N., Wolkowitz O.M., Reus V.I. et al. Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS) // *Front. Neuroendocrinol.* 2009. 30. (1). 65–91.
15. Sun Z., Bello-Roufai M., Wang X. RNAi inhibition of mineralocorticoid receptors prevents the development of cold-induced hypertension // *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol.* 2008. 294. (4). H1880–H1887.
16. Sun Z., Cade J.R., Fregly M.J. Cold-induced hypertension. A model of mineralocorticoid-induced hypertension // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1997. 15. (813). 682–688.
17. Taylor M.K. Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate: anabolic, neuroprotective, and neuroexcitatory properties in military men // *Mil. Med.* 2013. 178. (1). 100–106.
18. White P.C. Inherited forms of mineralocorticoid hypertension // *Hypertension.* 1996. 28. 927–936.

RETABOLIL INFLUENCE ON THE ARTERIAL PRESSURE AND ALDOSTERONE LEVEL AT COLD EXPOSURE

Marina Viktorovna OVSYUKOVA, Svetlana Anatoljevna EGOROVA, Timofey Aleksandrovich OBUT, Tatyana Alekseevna ERDYNIEVA, Tatyana Yurievna DEMENTEVA, Elena Timofeevna OBUT, Aleksey Gennadievich GOROBCHUK

*Institute of Physiology of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

It had been shown that retabolil (2.5 mg at rat) lowers the arterial pressure and the level of hypotensive hormone aldosterone in plasma of Wistar rats after the single and multiple cold exposure (+4 °C). The naltrexone (0,1 mg/kg) introduction selectively blocking μ -opioid receptors has shown that they are involved into the hypotensive and aldosterone-reducing effects of retabolil under repeated cold exposure. Thereby the μ -opioid mechanism of blocking enhanced aldosterone level may be considered as one of the version of retabolil hypotensive effect at least under repeated cold exposure. Retabolil can be used as hypotensive and aldosterone-blocking substance at least under cold exposure.

Key words: retabolil, aldosterone, arterial pressure, μ -opioid receptors, cold exposure.

*Ovsyukova M.V. – candidate of biological sciences, researcher of the group of endocrinology,
e-mail: maryov@ngs.ru*

Egorova S.A. – veterinary physician

Obut T.A. – doctor of biological sciences, chief researcher of the group of endocrinology

Erdynieva T.A. – candidate of biological sciences

Dementeva T.Yu. – candidate of agricultural sciences

Obut E.T. – researcher of the group of endocrinology

Gorobchuk A.G. – candidate of physical-mathematical sciences

ОЦЕНКА ЭФФЕКТА ПРОАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ И МИГРАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ЛИНИИ EA.Hy926

Александр Петрович ЛЫКОВ^{1,2}, Ольга Владимировна ПОВЕЩЕНКО^{1,2},
Наталья Анатольевна БОНДАРЕНКО^{1,2}, Александр Федорович ПОВЕЩЕНКО^{1,2},
Ирина Иннокентьевна КИМ^{1,2}, Татьяна Владимировна МИЛЛЕР¹,
Евгений Анатольевич ПОКУШАЛОВ², Александр Борисович РОМАНОВ²,
Владимир Иосифович КОНЕНКОВ^{1,2}

¹ ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина
Минздрава России
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

В работе исследовано влияние ростовых факторов и цитокинов на пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток человека перевиваемой линии EA.Hy926. Показано, что эритропоэтин и кондиционная среда от мононуклеарных клеток периферической крови, обогащенных клетками костного мозга путем мобилизации введением G-CSF от пациентов с ИБС, увеличивают пролиферацию клеток EA.Hy926. Миграционная активность клеток EA.Hy926 повышается под влиянием фактора роста эндотелия сосудов, фактора некроза опухоли- α , эритропоэтина. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования цитокинов и факторов, продуцируемых мононуклеарами, мобилизованными из костного мозга введением G-CSF, для стимуляции неоангиогенеза.

Ключевые слова: пролиферация, миграция, эндотелиальные клетки, ростовые факторы.

Репарация повреждений стенок сосудов и непосредственно формирование новых сосудов в постнатальном периоде осуществляются за счет развития коллатеральных сосудов (артериогенез), развития новых капилляров путем миграции и пролиферации предсуществующих дифференцированных эндотелиальных клеток (ангиогенез) и путем васкулогенеза эндотелиальными прогениторными клетками [5]. Также показано, что резидентные прогениторные клетки через продукцию биоактивных веществ стимулируют миграцию в

зону повреждения зрелых эндотелиальных и эндотелиальных прогениторных клеток из других зон, программируя их дифференцировку в зрелые клетки и способствуя тем самым репарации повреждений [8, 10]. Неоангиогенез протекает поэтапно: разрыв базальной мембраны сосудов и матрикса эндотелиоцитов, миграция эндотелиальных и эндотелиальных прогениторных клеток в направлении ангиогенных стимулов (хемотаксис), пролиферация и формирование трехмерных тубулоподобных структур (новых кровеносных

Лыков А.П. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории лимфотропной терапии и лимфодиагностики, e-mail: lykovalex@freemail.ru

Повещенко О.В. – к.м.н., зав. лабораторией лимфотропной терапии и лимфодиагностики, e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

Бондаренко Н.А. – аспирант лаборатории лимфотропной терапии и лимфодиагностики, e-mail: bond802888@yandex.ru

Повещенко А.Ф. – д.м.н., зав. лабораторией физиологии протективной системы, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Ким И.И. – научный сотрудник лаборатории лимфотропной терапии и лимфодиагностики, e-mail: kii5@yandex.ru

Миллер Т.В. – аспирант лаборатории физиологии протективной системы, e-mail: tmw87@mail.ru

Покушалов Е.А. – д.м.н., зам. директора, e-mail: cpsc@nricp.ru

Романов А.Б. – к.м.н., врач-хирург центра хирургической аритмологии, e-mail: aromanov1981@rambler.ru

Коненков В.И. – д.м.н., проф., академик РАМН, директор, e-mail: lymphology@soramn.ru

сосудов). В последние годы в клиническую практику внедряются высокотехнологичные подходы реваскуляризации органов и тканей, основанных на применении проангиогенных факторов роста и клеточной терапии для лечения различных дегенеративных, в том числе сердечно-сосудистых, заболеваний. Одним из возможных способов действия клеток-предшественников является паракринный механизм, обусловленный секрецией биологически активных веществ. Известно, что репарация поврежденных сосудов и неоваскуляризация поврежденных тканей и органов находятся под влиянием как стимулирующих, так и ингибирующих гуморальных факторов, в том числе цитокинов и ростовых факторов. Существенное значение в ангиогенезе отводится функциональной активности эндотелиальных клеток, в том числе их пролиферативному и миграционному потенциалу, который зависит от влияния цитокинов и ростовых факторов [1, 6, 8, 10, 13]. Поэтому, исходя из вышеизложенного, целью исследования стало изучение влияния ростовых факторов и цитокинов на пролиферацию и миграцию клеток EA.Hy926.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клетки эндотелиальной линии EA.Hy926 культивировали в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (FCS; Биолот, Россия), 160 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия), 2 ммоль L-глутамин (ICN, США) в CO₂-инкубаторе при 37 °C и 5 % CO₂ до образования конфлюэнтного монослоя. Пересев осуществляли 1 раз в 3–4 дня. Пролиферацию клеток EA.Hy926 оценивали спектрофотометрически при длине волны 492 нм по включению клетками 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид (MTT) [6, 14], а также по изменению клеточного импеданса в режиме реального времени на анализаторе xCELLigence (Roche Applied Science, Германия) [7, 11]. Интенсивность пролиферативного потенциала изучали в присутствии эритропоэтина (Еро) (Рекормон, Германия; 33 МЕ/мл) и 30 % кондиционной среды (КС), а также в серии экспериментов с предварительной обработкой EA.Hy926 митомицином С (40 мкг/мл, США) [12].

Источником КС служили мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) от 5 пациентов с ИБС. МНК получали путем обогащения на градиенте плотности фиколл/верографин аферезного продукта после мобилизации стволовых/прогениторных клеток из костного мозга в периферическое русло введением G-CSF (Грасальва,

Израиль; 3,3–5,0 мкг/кг в сутки, в течение 5 дней). МНК инкубировали в течение 72 ч, собирали КС, разливали по аликвотам и хранили при –70 °C до использования.

Миграционную способность клеток EA.Hy926 изучали в камере Бойдена (BD, США) с учетом количества мигрировавших через микропоры клеток через 24 ч и по изменению клеточного импеданса в двухуровневых камерах в спонтанном тесте и при добавлении в нижнюю камеру Еро, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (BioVision, США; 10 нг/мл), фактора некроза опухоли- α (TNF- α) (Sigma-Aldrich, США; 5нг/мл) при низком содержании FCS (1 %) в культуральной среде.

Изменение клеточного импеданса на микроэлектродах, обусловленного прикреплением и распластыванием клеток, выражалось как клеточный индекс, который автоматически вычислялся программой как $(R_n - R_b)/t$, где R_b – исходное значение импеданса в лунке, содержащей только ростовую для клеток среду, R_n – значение импеданса в лунке в любое время (t), содержащей помимо ростовой среды и тестируемые клетки.

Меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (L_q) и верхним (H_q) квартилями; достоверность различий рассчитывали по U -критерию Манна–Уитни и принимали при значениях $p < 0,05$. Связь между различными признаками определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы, интенсивность пролиферации EA.Hy926 зависела от наличия в питательной среде сыворотки и ростовых факторов. Дефицит FCS в культуральной среде приводил к статистически значимому подавлению пролиферации клеток EA.Hy926 в сравнении с аналогичным показателем в присутствии сыворотки и ростовых факторов на различные сроки инкубации. Добавление Еро к клеткам EA.Hy926 при обеднении культуральной среды FCS приводило к увеличению пролиферации клеток через 24 ч наблюдения ($p = 0,006$) и к некоторому снижению в более длительные сроки культивирования, в то время как пролиферативная активность клеток, росших при низкой концентрации сыворотки и добавлении в питательную среду 30 % КС, оставалась на всем протяжении эксперимента статистически значимо большей ($p = 0,006$) и существенно не менялась. Между уровнем пролиферации клеток EA.Hy926 в присутствии 10 % FCS и в присутствии 1 % FCS и дополнительных стимулов

Таблица

Показатель пролиферативной активности клеток эндотелиальной линии EA.Нy926 в МТТ-тесте (в условных единицах оптической плотности), Me (Lq-Hq)

Группа	24 ч (I)	24 ч (II)	72 ч (III)
Без FCS (1)	0,19 (0,19–0,21) $p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,006$ $p_{1-4} = 0,006$	0,17 (0,15–0,20) $p_{1-2} = 0,014$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{1-4} = 0,021$	0,18 (0,14–0,19) $p_{1-2} = 0,021$ $p_{1-3} = 0,011$ $p_{1-4} = 0,021$
10 % FCS (2)	0,43 (0,43–0,49)	0,49 (0,48–0,50) $p_{2-3} = 0,006$ $p_{2-4} = 0,027$	0,50 (0,49–0,51) $p_{2-3} = 0,011$ $p_{2-4} = 0,021$
1 % FCS + Eро (3)	0,45 (0,44–0,51) $p_{I-II} = 0,004$ $p_{I-III} = 0,004$	0,37 (0,37–0,38) $p_{3-4} = 0,01$	0,37 (0,36–0,38) $p_{3-4} = 0,011$
1 % FCS + КС (4)	0,49 (0,44–0,54)	0,52 (0,51–0,55)	0,54 (0,53–0,55)

(Еро или КС) через 24 ч инкубации не выявлено статистически значимых различий. Необходимо также отметить тот факт, что интенсивности пролиферации клеток EA.Нy926 при добавлении в питательную среду Еро и ростовых факторов, содержащихся в КС, существенно не различались на 24 ч наблюдения, а в отдаленные сроки пролиферативный ответ на стимуляцию Еро был статистически значимо ниже, чем исходный ($p = 0,004$) и чем при стимуляции КС ($p < 0,02$).

Известно, что Еро оказывает протективный эффект и на клетки негемопэтического ряда, обусловленный стимуляцией через экспрессируемые на поверхности клеток рецепторы к нему или же через активацию в них генов Еро и синтезом Еро в клетках, тем самым осуществляя ауто- и паракринную регуляцию функциональной активности этих тканей [2]. Кроме этого Еро посредством воздействия на эндотелиальные клетки стимулирует процессы неоваскуляризации ишемизированных тканей [3] и снижает влияние окислительного стресса на ткани [15]. Активирующий пролиферативный потенциал клеток эффект КС обусловлен наличием в ней ряда биоактивных веществ. Так, нами ранее было показано, что в КС от МНК, мобилизованных из костного мозга введением G-CSF от пациентов с ИБС, отмечена продукция широкого ряда цитокинов с преобладанием провоспалительных, в частности TNF- α и IFN- γ . МНК продуцировали также IL-1 β , IL-6, G-CSF и Еро, другие цитокины и ростовые факторы с проангиогенными свойствами [3, 4].

Интенсивность пролиферации клеток EA.Нy926 по данным исследования клеточного импеданса зависит от количества клеток в лунке и наличия в питательной среде ростовых факторов, содержащихся в FCS (рис. 1, а). Так, концентрация клеток $(5-10) \times 10^4$ в лунке является оптимальной для исследования пролиферативного

потенциала, а при увеличении количества клеток до 20×10^4 на лунку отмечено снижение пролиферации клеток EA.Нy926. Вероятнее всего, это связано с более быстрым прилипанием клеток к датчикам и тем самым невозможностью оставшихся излишних клеток в лунке к адгезии на датчики. Также при увеличении количества клеток в лунке быстрее расходуются питательные вещества, необходимые для поддержания их роста и, возможно, в силу этого клетки погибают и открепляются от датчиков. Существенное значение для пролиферации клеток имеет наличие в питательной среде анализируемых ростовых факторов. В условии дефицита ростовых факторов, содержащихся в FCS, показано снижение пролиферативной активности клеток EA.Нy926. Как видно из рис. 1, б, в, даже при дефиците сыворотки в питательной среде добавление к культуре Еро и 30 % КС приводило к статистически значимому увеличению пролиферативного потенциала по сравнению с отрицательным контролем, а именно ростом клеток при 1 % FCS в питательной среде ($p < 0,01$). Более того, показано наличие сопряженности между параметрами пролиферации клеток EA.Нy926 с 10 % FCS и аналогичными показателями для клеток, инкубированных с 1 % сыворотки и добавлением Еро ($r = -0,83$; $p < 0,01$) или же КС ($r = 0,96$; $p < 0,01$), что не противоречит литературным данным [2, 3, 15].

В экспериментах с предварительной обработкой клеток EA.Нy926 митомицином С установлено снижение интенсивности пролиферативного потенциала (клеточный индекс 0,27), в то время как не предобработанные митомицином С клетки показывали большие значения клеточного импеданса (клеточный индекс 5,75), что указывает на сохранность функциональной активности клеток, не подвергшихся подавлению в них процессов метаболизма (данные не представлены) [12].

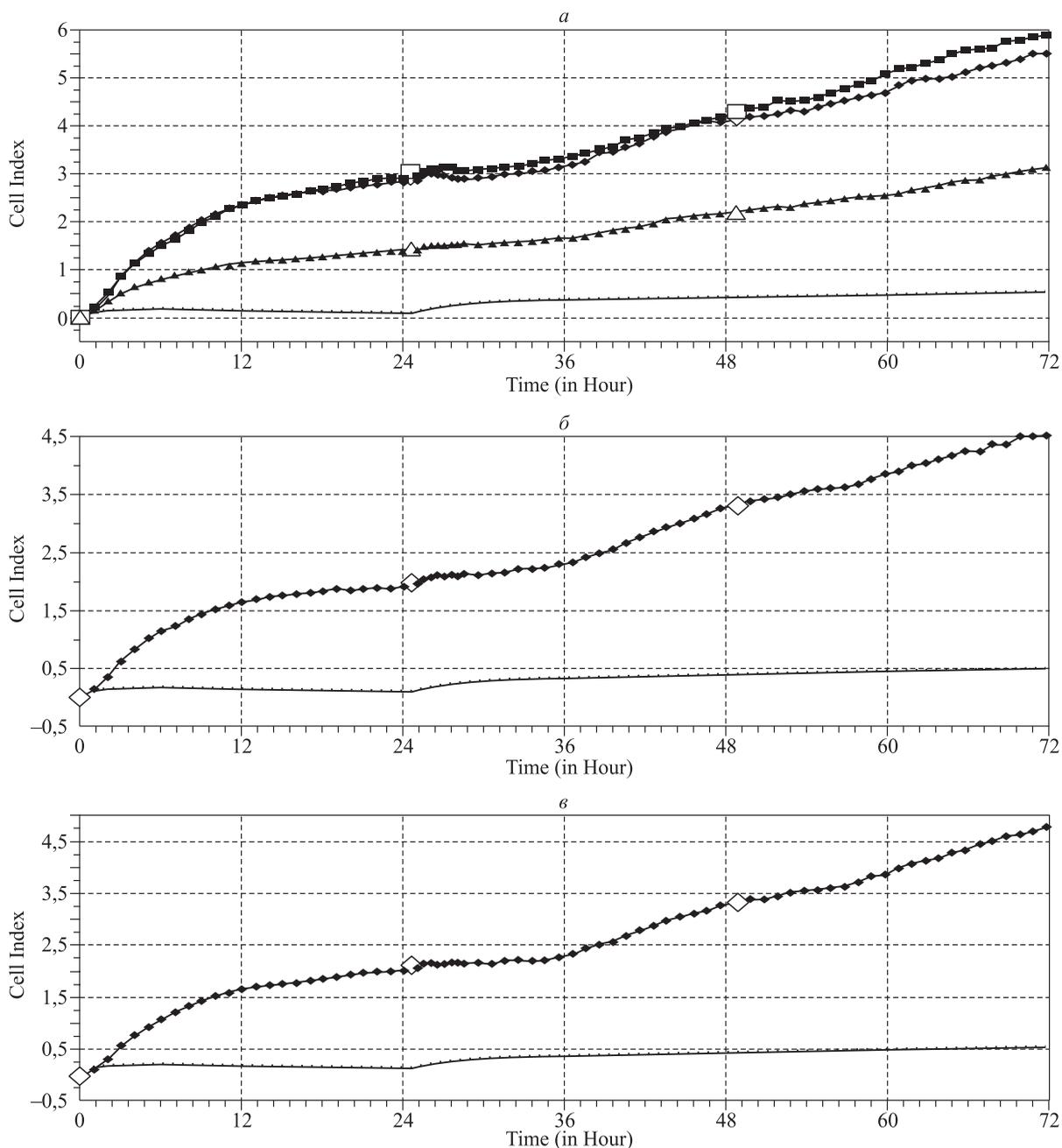


Рис. 1. Зависимость пролиферации клеток эндотелиальной линии EA.Hu926 от наличия ростовых факторов в питательной среде. Линия – 5×10^4 клеток на лунку с 1 % FCS. а – ромб – 5×10^4 клеток на лунку с 10 % FCS, квадрат – 10×10^4 клеток на лунку с 10 % FCS, треугольник – 20×10^4 клеток на лунку с 10 % FCS; б – ромб – 5×10^4 клеток на лунку с 1 % FCS и EPO (30 ME/мл); в – ромб – 5×10^4 клеток на лунку с 1 % FCS и 30 % КС от МНК, мобилизованных из костного мозга пациентов с ИБС введением Г-КСФ

При исследовании миграции клеток EA.Hu926 в камере Бойдена показано, что через микропоры в направлении градиента ростовых факторов мигрирует небольшое количество клеток (данные не приводятся). Результаты изучения миграционного потенциала клеток EA.Hu926 по данным клеточного импеданса в режиме реального времени дают большую информацию об их миграции. Как

видно из рис. 2, а, интенсивность миграции клеток EA.Hu926 существенно не менялась в зависимости от их количества в питательной среде, и только к концу эксперимента отмечалась тенденция нарастания миграционного потенциала при большей концентрации сыворотки в среде (10 %). Одним из объяснений такого феномена может быть наличие в сыворотке большого коли-

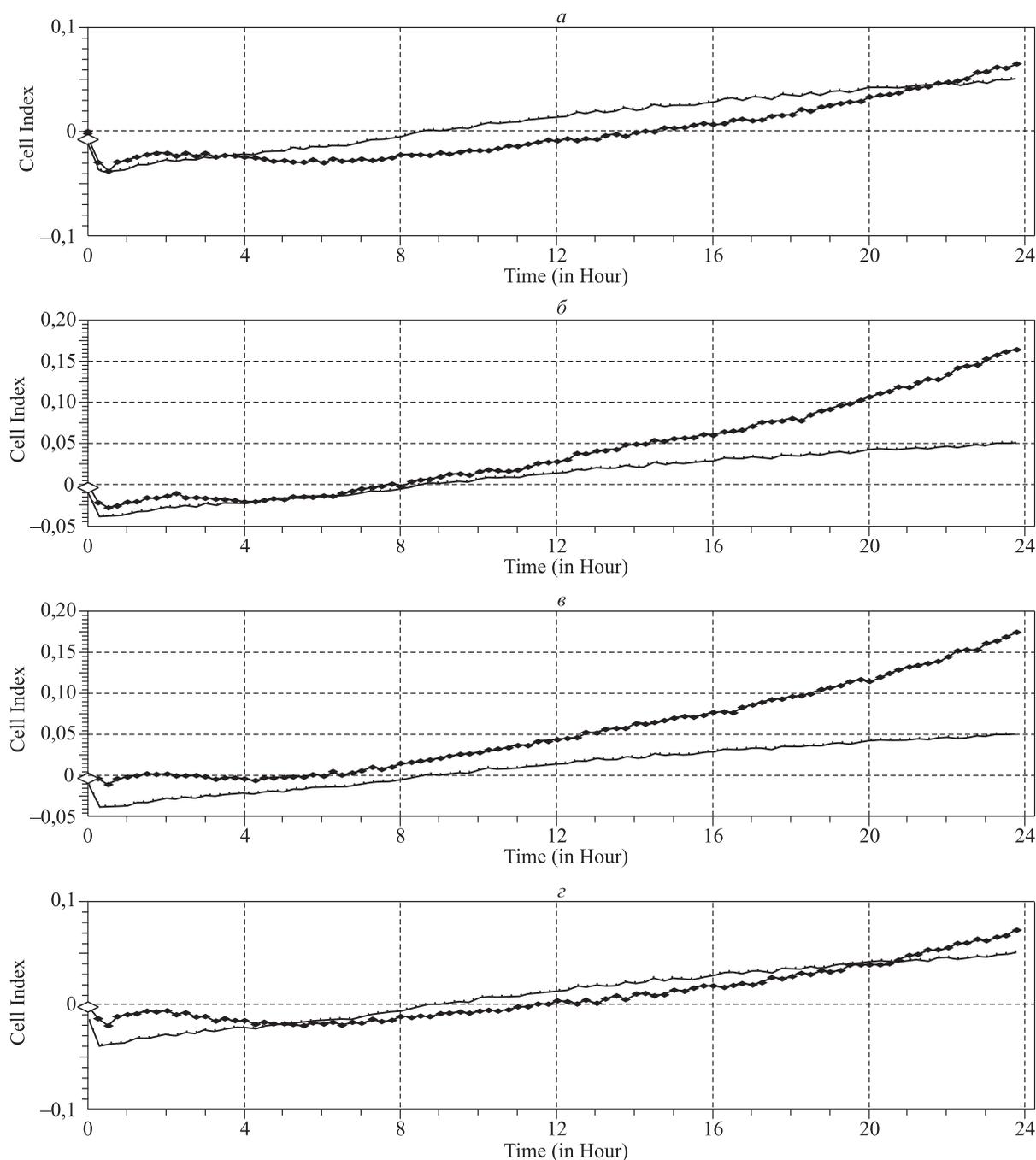


Рис. 2. Эффект ростовых факторов на миграционный потенциал клеток эндотелиальной линии EA.Hu926. Линия – 1 % FCS; ромбами обозначены: а – 10 % FCS, б – 1 % FCS и VEGF (10 нг/мл), в – 1 % FCS и TNF-α (5 нг/мл), г – 1 % FCS и EPO (33 МЕ/мл)

чества биологически активных веществ (например, TGF-β, IL-10), способных не только активировать, но и ингибировать клеточные функции (пролиферация и миграция).

На рис. 2, б–г показано, что добавление к питательной среде с минимальным содержанием сыворотки VEGF, TNF-α приводило к статистически значимому увеличению миграционной активности клеток EA.Hu926. Известно о способности TNF-α стимулировать функционирование

эндотелиоцитов сосудистой стенки [1, 3, 6] и активировать экспрессию молекул адгезии [9]. VEGF выступает в качестве не только фактора роста сосудистого эндотелия, но и мощного стимулятора миграции эндотелиальных клеток, способствуя формированию сосудистых структур эндотелиальными клетками [1, 6, 8]. Эффект EPO на клетки EA.Hu926 был снижен по сравнению с эффектом VEGF и TNF-α, что, скорее всего, связано с аутокринным характером регуляции

цитокином функциональной активности клеток, относящихся к негемопозитическому ряду [2, 3], с одной стороны, и, возможно, с недостаточной экспозицией клеток с данным фактором для проявления его стимулирующего эффекта, с другой стороны.

Результаты исследования влияния на пролиферацию клеток EA.Hy926 ростовых факторов по данным клеточного импеданса не противоречат данным исследований пролиферации традиционным методом, однако дают более наглядное представление о процессах, происходящих в лунке в режиме реального времени. Кроме того, клеточный индекс, который является показателем электрического потенциала и отражает статус клеток, их пролиферативную и миграционную активность, может отслеживаться с первых минут и в течение всего периода исследования.

Заслуживающими внимания и новыми можно считать данные о влиянии на пролиферацию и миграцию клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 растворимых факторов, содержащихся в КС от МНК, обогащенных стволовыми/прогениторными костно-мозговыми клетками. При этом действие КС сопоставимо с влиянием таких известных факторов пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, как VEGF, TNF- α и EPO.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя полученные данные, можно заключить, что пролиферация и миграция эндотелиальных клеток человека перевиваемой линии EA.Hy926 возрастает под влиянием как цитокинов VEGF, TNF- α и EPO, так и ростовых факторов супернатанта, полученного при культивировании МНК, обогащенных стволовыми клетками костного мозга. Использование в качестве клеточного трансплантата МНК после мобилизации G-CSF может приводить к стимуляции ангиогенеза путем паракринного действия секретируемых ростовых факторов и цитокинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Сельков С.А., Фрейдлин И.С. Пролиферативная активность эндотелиальных клеток человека линии EA.Hy926 и ее модуляция // Цитология. 2005. (5). 389–399.
2. Захаров Ю.М. Цитопротекторные функции эритропоэтина // Клинич. нефрол. 2009. (1). 16–21.
3. Коненков В.И., Повецenco О.В., Ким И.И. и др. Влияние G-CSF на проангиогенные свойства мобилизованных клеток периферической крови у

больных с хронической сердечной недостаточностью // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. (3). 71–76.

4. Коненков В.И., Покушалов Е.А., Повецenco О.В. и др. Характеристика фенотипа мобилизованных гранулоцитарным колониестимулирующим фактором клеток периферической крови у больных с хронической сердечной недостаточностью // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012. (1). 9–14.

5. Повецenco О.В., Повецenco А.Ф., Коненков В.И. Физиологические и цитологические основы клеточной регуляции ангиогенеза // Успехи физиол. наук. 2012. (3). 48–61.

6. Старикова Э.А., Амчиславский Е.И., Соколов Д.И. и др. Изменение поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // Мед. иммунол. 2003. (1–2). 39–48.

7. Atienza J.M., Yu N., Wang X. et al. Label-free and real-time cell-based kinase assay for screening selective and potent receptor tyrosine kinase inhibitors using microelectronic sensor array // J. Biomol. Screen. 2006. (11). 634–643.

8. Bendorf R., Boger R.H., Ergun S. et al. Angiotensin II type receptor inhibits vascular endothelial growth factor-induced migration and *in vitro* tube formation of human endothelial cells // Circ. Res. 2003. (93). 438–447.

9. Drabarek B., Dymkowska D., Szczepanowska J. et al. TNF α affects energy metabolism and stimulates biogenesis of mitochondria in EA.hy926 endothelial cells // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2012. (44). 1390–1397.

10. Gao H., Zhang J., Liu T. et al. Rapamycin prevents endothelial cell migration by inhibiting the endothelial-to-mesenchymal transition and matrix metalloproteinase-2 and -9: An *in vitro* study // Mol. Vis. 2011. (17). 3406–3414.

11. Keogh R.J. New technology for investigating trophoblast function // Placenta. 2010. (31). 347–350.

12. Kin K., Kasahara T., Ithon Y. et al. Cellular cooperation in lymphocyte activation // Clin. Exp. Immunol. 1979. (36). 292–298.

13. Lai Y., Liu X.H., Zhang Y. et al. Interleukin-8 induces the endothelial cell migration through the Rac 1/RhoA-p38MAPK pathway // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2012. (16). 630–638.

14. Lafontaine L., Chaudhry P., Lafleur M.J. et al. Transforming growth factor beta regulates proliferation and invasion of rat placental cell lines // Biol. Reprod. 2011. (84). 553–559.

15. Stein A., Knodler M., Makowski M. et al. Local erythropoietin and endothelial progenitor cells improve regional cardiac function in acute myocardial infarction // BMC Cardiovasc. Disord. 2010. (10). 43–52.

ESTIMATION OF THE EFFECT OF PROANGIOGENIC FACTORS ON THE PROLIFERATIVE AND MIGRATION ACTIVITIES OF THE ENDOTHELIAL CELL OF LINE EA.Hy926

Aleksander Petrovich LYKOV^{1,2}, Olga Vladimirovna POVESHCHENKO^{1,2}, Natalia Anatolievna BONDARENKO^{1,2}, Aleksander Fedorovich POVESHCHENKO^{1,2}, Irina Innokentievna KIM^{1,2}, Tatyana Vladimirovna MILLER¹, Eugenie Anatolevich POKUSHALOV², Aleksander Borisovich ROMANOV², Vladimir Iosiphovich KONENKOV^{1,2}

¹ *Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *E.N. Meshalkin Novosibirsk Institute of Circulation Pathology of Minzdrav of Russia
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

The influence of growth factors and cytokines on the proliferation and migration of human endothelial cells (EC) of line EA.Hy926 was studied. It has been shown, that erythropoietin (Epo) and conditioned medium (CM) of peripheral blood mononuclear cells (MNCs) enriched with bone marrow cells by mobilizing due to the introduction of G-CSF from patients with chronic heart failure, increased cell proliferation of EA.Hy926. The EA.Hy926 cell migration activity increased under the influence of vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and erythropoietin (Epo). The findings testify to the motivation for the use of cytokines and factors produced by MNCs mobilized from the bone marrow by the introduction of G-CSF to stimulate neoangiogenesis.

Key words: proliferation, migration, endothelial cells, growth factors.

Lykov A.P. – candidate of medical sciences, leading researcher laboratory of limphotropic therapy and limpodagnostic, e-mail: lykovalex@freemail.ru

Poveshchenko O.V. – candidate of medical sciences, head of the laboratory of limphotropic therapy and limpodagnostic, e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

Bondarenko N.A. – postgraduate student laboratory of limphotropic therapy and limpodagnostic, e-mail: bond802888@yandex.ru

Poveshchenko A.F. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of physiology of the protective system, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Kim I.I. – researcher laboratory of limphotropic therapy and limpodagnostic, e-mail: kii5@yandex.ru

Miller T.V. – postgraduate student laboratory of physiology of protective system, e-mail: tmw87@mail.ru

Pokushalov E.A. – doctor of medical sciences, vice-director, e-mail: cpsc@nricp.ru

Romanov A.B. – candidate of medical sciences, surgeon of the centre of surgically arrhythmology, e-mail: aromanov1981@rambler.ru

Konenkov V.I. – doctor of medical sciences, academician of RAMS, director, e-mail: lymphology@soramn.ru

ВЛИЯНИЕ ЭТИНИЛЭСТРАДИОЛА НА РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ И ГЕМОСТАЗ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОВАРИОЭКТОМИИ

Анна Марковна АНИЩЕНКО¹, Олег Ибрагимович АЛИЕВ¹,
Татьяна Макаровна ПЛОТНИКОВА²

¹ ФГБУ НИИ фармакологии СО РАМН
634028, г. Томск, ул. Ленина, 3

² ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Этинилэстрадиол при курсовом введении (25 мкг/кг внутривенно в течение 14 дней) у крыс после овариоэктомии уменьшает повышенную вязкость крови на 4–11 % за счет улучшения реологических свойств эритроцитов, а также в результате снижения гематокрита и уровня фибриногена в плазме. Препарат уменьшает эндотелиальную дисфункцию, но при этом повышает коагуляционные свойства крови, увеличивая АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов и способствуя формированию тромба в сосуде при его инициации раствором хлорида железа.

Ключевые слова: этинилэстрадиол, овариоэктомия, вязкость крови, деформируемость и агрегация эритроцитов, агрегация тромбоцитов, гемостаз, эндотелиальная дисфункция.

Климактерический период у женщин продолжается около 25–30 лет, является переходной ступенью от репродуктивного периода к старости и характеризуется гормональными сдвигами, связанными со старением яичников [9]. Обусловленное этим быстрое снижение уровня циркулирующих в крови эстрогенов является пусковым механизмом для развития многих вегетативных и психоэмоциональных симптомов, которые наблюдаются у большинства женщин и резко снижают качество жизни. Для лечения синдрома дефицита эстрогенов, обусловленного естественной или искусственной менопаузой, применяют гормональную заместительную терапию (ГЗТ). Отмечен положительный эффект ГЗТ при лечении больных климактерическим синдромом в отношении вегетососудистых расстройств, метаболических сдвигов в виде гиперлипидемии, инсулинорезистентности и остеопороза [4, 9]. Вместе с тем исследования эффективности ГЗТ, проведенные с позиций доказательной медицины, свидетельствуют о неэффективности данного вида терапии в качестве первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых осложнений климактерического синдрома [13]. Это диктует необходимость дальнейшего изучения преимуществ и риска гормональной терапии. Комплексный анализ влияния ГЗТ на основные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний при кли-

мактерическом синдроме у женщин весьма затруднен, поскольку помимо гипоестрогемии на показатели могут оказывать влияние возраст (наступление естественной менопаузы колеблется в пределах 10 лет), индекс массы тела, курение, наличие или отсутствие сопутствующих заболеваний (диабет, гиперлипидемия и др.) [10].

Неоднозначность эффектов и сложность комплексного анализа влияния ГЗТ на факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний при климактерическом синдроме явились основанием для оценки эффектов этинилэстрадиола в опытах на линейных крысах при экспериментальной овариоэктомии по сравнению с показателями у ложнопериовариованых животных одинакового возраста и массы тела.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 74 аутбредных самках крыс Вистар массой 320–380 г, полученных из клиники лабораторных животных НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, свободном доступе к воде и пище. Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств» [8]. Удаление

Анищенко А.М. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения
Алиев О.И. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения
Плотникова Т.М. – д.б.н., проф. кафедры фармакологии, mbp2001@mail.ru

яичников осуществляли под эфирным наркозом по общепринятой методике [5]. Крысы, у которых проводили лапаротомию и ушивали рану, составили группу ложнопериованных животных. Этинилэстрадиол вводили внутривенно в дозе 25 мкг/кг в 1 % крахмальной слизи ежедневно в течение 14 дней, начиная с 8-х суток после овариоэктомии. Контрольные животные получали эквивалентное количество 1 % крахмальной слизи. На 21-е сутки эксперимента через 2 часа после последнего введения этинилэстрадиола у животных под эфирным наркозом забирали кровь для исследования. В пробах крови определяли содержание эстрадиола иммуноферментным методом с помощью набора EIAIgen Estradiol (Adaltis Italia S.p.A., Италия) на иммуноферментном анализаторе «Униплан» (ЗАО «Пикон», г. Москва). В этих же пробах оценивали гемореологические показатели в соответствии с методическими рекомендациями по изучению веществ, влияющих на реологические свойства крови [6]. Индекс эффективности транспорта кислорода в ткани рассчитывали как отношение гематокрита к вязкости крови при различных скоростях сдвига [11].

Исследование показателей свертывающей системы крови проводили на коагулометре KG-4 (Cormau, Польша). Определение активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ) и протромбинового времени свертывания проводили с помощью наборов «АЧТВ-тест» и «Техпластин-тест» («Технология – стандарт», Россия). Агрегацию тромбоцитов в стандартизованной богатой тромбоцитами плазме определяли нефелометрическим методом [1]. В качестве индуктора агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в конечной концентрации 4×10^{-6} М.

Формирование тромба в сонной артерии крыс, наркотизированных уретаном (1 г/кг), инициировали аппликацией на сосуд 10 % раствора FeCl_2 , отмечали степень снижения и время полной остановки кровотока в стенозированном сосуде. Величину кровотока по сосуду регистрировали с помощью электромагнитного расходомера крови MFV-1100 (Nihon Kohden, Япония). Через сутки осуществляли изъятие участка сосуда, на который воздействовали раствором FeCl_2 , тромб выделяли и взвешивали.

Для оценки эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации регистрировали артериальное давление после внутривенного введения соответственно ацетилхолина (5 мкг/кг) и нитропруссид натрия (30 мкг/кг). Рассчитывали площади под кривой реакции артериального давления. Коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) оценивали как отношение реакции на нитропруссид натрия к реакции на ацетилхолин [3].

Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Овариоэктомия вызывала снижение уровня эстрадиола в крови половозрелых самок крыс с $43,8 \pm 1,3$ до $17,6 \pm 1,5$ пг/мл (на 60 %). Вязкость крови у крыс этой группы по сравнению с ложнопериованными животными увеличилась на 7–18 % при всех исследованных скоростях сдвига (см. рисунок). Для оценки вклада изменений

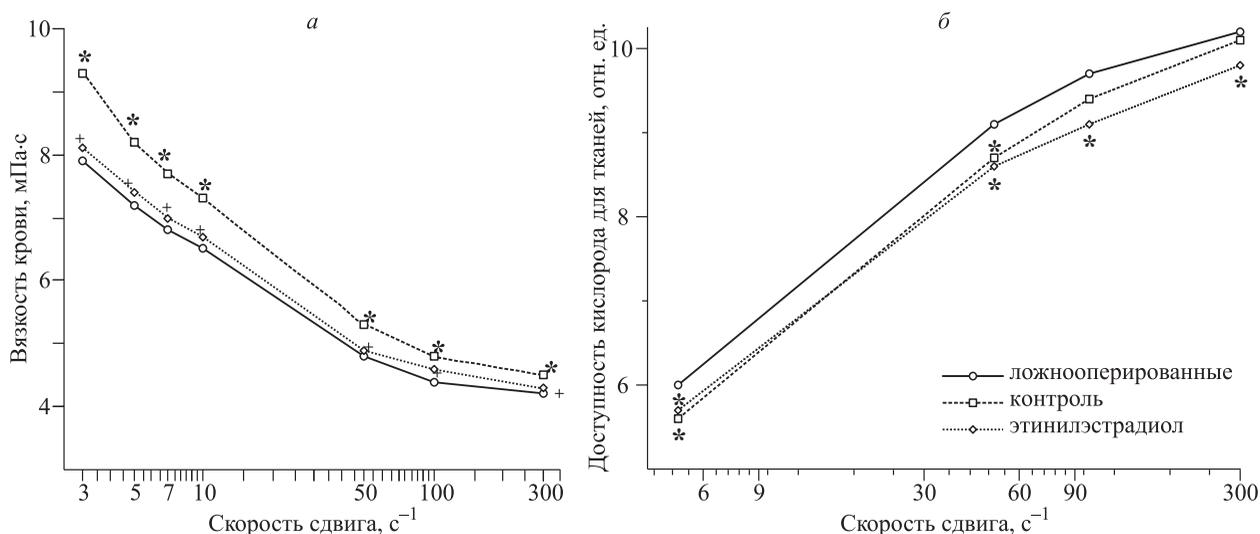


Рис. Влияние этинилэстрадиола (25 мкг/кг внутривенно) на вязкость крови (а) и доступность кислорода для тканей (б) у крыс после овариоэктомии

Таблица 1

Влияние этинилэстрадиола (25 мкг/кг, внутривенно в течение 14 дней) на коэффициент эндотелиальной дисфункции и гемореологические показатели у крыс после овариэктомии

Показатель	Ложнооперированные (n = 8)	Контроль (овариэктомия) (n = 9)	Овариэктомия + этинилэстрадиол (n = 9)
КЭД, отн. ед.	2,06 ± 0,09	3,42 ± 0,34*	2,46 ± 0,35 ⁺
Гематокрит, %	43 ± 1	46 ± 1*	42 ± 1 ⁺
Полупериод агрегации эритроцитов, с	21 ± 2	14 ± 2*	19 ± 1 ⁺
ИДЭ, отн. ед.			
90 с ⁻¹	0,161 ± 0,009	0,158 ± 0,010	0,184 ± 0,011
180 с ⁻¹	0,201 ± 0,009	0,188 ± 0,009	0,214 ± 0,009 ⁺
360 с ⁻¹	0,262 ± 0,013	0,222 ± 0,007*	0,265 ± 0,009 ⁺
890 с ⁻¹	0,310 ± 0,011	0,282 ± 0,007*	0,324 ± 0,010 ⁺

Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от соответствующих показателей: * – ложнооперированных животных, + – крыс после овариэктомии.

Таблица 2

Влияние этинилэстрадиола (25 мкг/кг, внутривенно в течение 14 дней) на коагуляционные свойства крови крыс после овариэктомии

Показатель	Ложнооперированные (n = 7)	Контроль (овариэктомия) (n = 6)	Овариэктомия + этинилэстрадиол (n = 9)
Содержание фибриногена, г/л	2,4 ± 0,4	3,3 ± 0,2*	2,5 ± 0,3 ⁺
АЧТВ, с	18,3 ± 1,0	16,1 ± 1,3	17,3 ± 1,1
Протромбиновое время, с	13,4 ± 1,0	14,3 ± 0,5	14,6 ± 1,1
Амплитуда агрегации тромбоцитов, %	38 ± 2	41 ± 1	43 ± 3*

различных гемореологических параметров в повышение вязкости крови при постовариэктомиическом синдроме определяли полупериод агрегации и индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ). ИДЭ при высоких скоростях сдвига (360 и 890 с⁻¹) у крыс после удаления яичников был достоверно ниже, чем у ложнооперированных животных на 18 и 10 % соответственно, а полупериод агрегации эритроцитов уменьшался на 33 % (табл. 1), что свидетельствует о повышении их агрегационной активности. Помимо влияния на клеточные параметры, овариэктомия приводила к изменению и плазменных факторов, определяющих вязкость крови – повышению гематокрита и уровня фибриногена на 7 и 38 % соответственно (табл. 1, 2).

Следовательно, у животных на фоне гипострогенемии, вызванной овариэктомией, наблюдалось существенное повышение вязкости крови в результате увеличения гематокрита, содержания фибриногена в плазме крови, а также нарушения вязкоэластических свойств эритроцитов и возрастания их агрегационной активности. У женщин в

постменопаузальный период также отмечено повышение агрегации эритроцитов, фибриногена, гематокрита [12]. Условия эксперимента – модель овариэктомии на линейных животных, – исключают влияние на гемореологический статус возраста, индекса массы тела, сопутствующих заболеваний, курения, позволяют считать гипострогенемии основным фактором, вызывающим выявленные нами сдвиги параметров реологии крови и формирующим синдром повышенной вязкости крови. В свою очередь повышение вязкости крови уменьшало эффективность доставки кислорода тканям (см. рисунок), что является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний в условиях гипострогенемии [12].

Через 14 дней после овариэктомии у крыс не отмечено достоверных изменений показателей тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза (см. табл. 2). КЭД у животных этой группы был на 66 % выше, чем у ложнооперированных крыс (см. табл. 1). Инициация тромбообразования в сонной артерии овариэктомированных крыс аппликацией 10 % раствора хлорида железа при-

водила к полной остановке кровотока в среднем к 60-й минуте эксперимента. Тромб сохранялся и на следующие сутки после воздействия, и его средняя масса составляла 0,5 мг.

У овариоэктомированных крыс, получавших этинилэстрадиол, уровень эстрадиола достигал значений этого показателя у ложнопериоперированных животных ($43,5 \pm 0,4$ пг/мл). Устранение гипоэстрогенемии приводило к повышению ИДЭ при скоростях сдвига $180\text{--}890\text{ с}^{-1}$ на 14–19 % и увеличению полупериода агрегации эритроцитов на 36 % по сравнению с животными, не получавшими гормональное средство (см. табл. 1). Улучшение вязкоэластических свойств эритроцитов и, как следствие, нормализация показателей клеточной реологии крови при овариоэктомии обусловлены способностью этинилэстрадиола ограничивать процессы перекисного окисления липидов, восстанавливать соотношение липидов и белка, снижать повышенный уровень лизофосфолипидов в мембранах эритроцитов овариоэктомированных крыс [7]. Этинилэстрадиол достоверно снижал и плазменные показатели вязкости крови – гематокрит и уровень фибриногена соответственно на 9 и 24 % по сравнению со значениями у крыс контрольной группы (см. табл. 1, 2). Следствием этих эффектов этинилэстрадиола было уменьшение повышенной при гипоэстрогенемии вязкости крови на 4–11 % при всех исследованных скоростях сдвига. Вместе с тем этинилэстрадиол достоверно не увеличивал эффективность транспорта кислорода тканям (см. рисунок), вероятно, в результате снижения гематокрита (см. табл. 1).

Влияние этинилэстрадиола на сосудисто-тромбоцитарное и плазменное звенья гемостаза в условиях овариоэктомии было неоднозначным. Агрегация тромбоцитов повышалась на 13 % по сравнению со значениями у ложнопериоперированных животных, а КЭД снижался на 28 % по сравнению со значениями у крыс, не получавших лечения (см. табл. 1, 2). Изученные распространенные показатели плазменного гемостаза при 14-дневном введении этинилэстрадиола существенно не изменялись (см. табл. 2). Следовательно, прокоагулянтные изменения, вызываемые этинилэстрадиолом при экспериментальной овариоэктомии, проявились в основном умеренной активацией сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. Наличие эндотелийпротективной и антиоксидантной активности этинилэстрадиола [7], вероятно, «смягчает» инициированную этинилэстрадиолом агрегацию тромбоцитов и, как следствие, прокоагулянтный эффект эстрогенов.

Оценка влияния этинилэстрадиола на баланс про- и антигемостатических реакций при оварио-

эктомии осуществлялась на основе метода регистрации времени тромбообразования в сосуде после его инициации раствором хлорида железа. Воспроизведение тромбоза у овариоэктомированных животных после курсового применения этинилэстрадиола сопровождалось полным прекращением кровотока по сосуду к 5-й минуте эксперимента (в контроле – к 60-й минуте), в стенозированных сосудах формировались тромбы, масса которых через сутки составила в среднем 0,64 мг, что достоверно выше показателя контрольной группы на 28 %. Следовательно, баланс анти- и протромбогенных участников системы гемостаза при применении этинилэстрадиола в условиях экспериментального гипоэстрогенемического синдрома смещен в пользу последних.

Таким образом, этинилэстрадиол при его курсовом введении крысам в условиях овариоэктомии неоднозначно влияет на вязкостные и коагуляционные свойства крови. Этинилэстрадиол, устраняя гипоэстрогению, снижает повышенную вязкость крови, уменьшает эндотелиальную дисфункцию, но при этом увеличивает агрегационную активность тромбоцитов и ускоряет формирование тромба в сосудах при его инициации раствором хлорида железа, что снижает терапевтическую ценность гормональной терапии в профилактике и лечении сердечно-сосудистых осложнений эстрогендефицитных состояний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Этинилэстрадиол при экспериментальной овариоэктомии уменьшает повышенную вязкость крови как за счет улучшения реологических свойств эритроцитов, так и в результате снижения гематокрита и уровня фибриногена в плазме, но при этом не повышает эффективность доставки кислорода тканям. Этинилэстрадиол при гипоэстрогенемии, вызванной удалением яичников у крыс, уменьшает эндотелиальную дисфункцию, повышает коагуляционные свойства крови, увеличивая АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов и способствуя формированию тромба в сосуде при его инициации раствором хлорида железа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Основные методы лабораторной диагностики нарушений системы гемостаза. Барнаул, 1998. 10–11.
2. Бьшевский А.Ш., Галян С.Л., Ральченко И.В. и др. Влияние комбинации витаминов-антиоксидантов на гемостаз при экспериментальной гипероксидации // Тромбоз, гемостаз, реология. 2005. 68. (3). 34–36.

3. Галаган М.Е., Широколова А.В., Ванин А.Ф. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников // Вопр. мед. химии. 1991. 37. (1). 67–70.
4. Доброхотова Ю.Э. Менопаузальный синдром. М.: РГМУ, 2005. 2–24.
5. Кириенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии. М., 1969. 55–57.
6. Плотников М.Б., Алиев О.И., Плотникова Т.М. Методические подходы к изучению веществ, влияющих на реологию крови // Эксперим. клинич. фармакол. 2011. 74. (12). 36–40.
7. Плотникова Т.М., Шульгау З.Т., Плотникова А.М. и др. Влияние экстракта маакии амурской на липидный спектр и перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов при овариэктомии у крыс // Эксперим. клинич. фармакол. 2008. 71. (6). 28–30.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств. М., 2005. 832 с.
9. Сметник В.П. Климактерические расстройства и методы их коррекции // Consilium medicum. 2007. 9. (6). 65–70.
10. Pignon B., Jolly D., Patron G. Erythrocyte aggregation-determination of normal values. Influence of age, sex, hormonal state, oestrogen treatment, haematological parameters and cigarette smoking // Nouv. Rev. Fr. Hematol. 1994. 36. (6). 431–439.
11. Stoltz J.E., Donner M. New trends in clinical hemorheology: an introduction to the concept of the hemorheological profile // Schweiz. Med. Wochenschr. 1991. 43. 41–49.
12. Vaya A., Chorro P., Julia D. et al. Menopause, hormone replacement therapy and hemorheology // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004. 30. 277–281.
13. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risk and benefit of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial // JAMA. 2002. 288. 321–333.

INFLUENCE OF ETHINYLESTRADIOL ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF BLOOD AND HEMOSTASIS IN EXPERIMENTAL OVARIECTOMY

Anna Markovna ANISHCHENKO¹, Oleg Ibragimovich ALIEV¹,
Tatyana Makarovna PLOTNIKOVA²

¹ Research Institute of Pharmacology of SB RAMS
634028, Tomsk, Lenin str., 3

² Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia
634050, Tomsk, Moscovsky tract, 2

Ethinylestradiol at the course introduction (25 mcg/kg intragastrically during 14 days) reduced blood viscosity by 4–11 % in rats after ovariectomy. This effect was due to improvement of rheological properties of red blood cells and reduction of hematocrit and fibrinogen levels in plasma. Ethinylestradiol reduced endothelial dysfunction but increased the ADP-dependent platelet aggregation and accelerated the intervascular thrombosis forming after its initiation by FeCl₂ solution.

Key words: ethinylestradiol, ovariectomy, blood viscosity, erythrocyte deformability, erythrocyte aggregation, platelet aggregation, hemostasis, endothelial dysfunction.

Anishchenko A.M. – candidate of medical sciences, researcher of laboratory of circulation pharmacology

Aliev O.I. – doctor of medical sciences, leading researcher of laboratory of circulation pharmacology

Plotnikova T.M. – doctor of biological sciences, professor of the chair for pharmacology, e-mail: mbp2001@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИГРАЦИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДОНОРСКИХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ В ЛИМФОИДНЫЕ И НЕЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ *in vivo* У МЫШЕЙ СВА

Анастасия Олеговна СОЛОВЬЕВА¹, Александр Федорович ПОВЕЩЕНКО²,
Ольга Владимировна ПОВЕЩЕНКО², Кристина Эдуардовна ЗУБАРЕВА²,
Татьяна Владимировна МИЛЛЕР², Владимир Иосифович КОНЕНКОВ²

¹ ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина
Минздрава России

630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

² ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Целью данной работы было сравнительное исследование миграционной активности и распределения *in vivo* клеток костного мозга и спленоцитов самцов мышей линии СВА при сингенной внутривенной трансплантации самкам. В качестве маркера клеток донора был использован *sry*-ген Y-хромосомы клеток костного мозга самцов-доноров. Исследована динамика миграции и проведен сравнительный анализ распределения *sry*-позитивных клеток костного мозга и спленоцитов доноров-самцов в разные сроки после внутривенной трансплантации (через 1 ч, 24 ч, 1 мес., 3 мес.) в коже, лимфатических узлах, печени, селезенке, сердце, головном мозге, костном мозге в органах сингенных реципиентов, самок мышей линии СВА. Обнаружено, что клетки костного мозга и спленоциты мигрируют с различной динамикой во все исследуемые органы, как в лимфоидные, так и в нелимфоидные, во все сроки после трансплантации.

Ключевые слова: клетки костного мозга, спленоциты, миграция, *sry*-ген Y-хромосомы.

В последние десятилетия наблюдается бурное развитие клеточных технологий, клеточной реконструктивной терапии. Успехи применения клеточных технологий невозможны без сравнительного изучения фундаментальных свойств разных популяций клеток, например, таких как миграция и распределение в лимфоидных и нелимфоидных органах [2]. Целью данной работы является сравнительное исследование миграционной активности и распределения в лимфоидных и нелимфоидных органах клеток костного мозга и селезенки в условиях внутривенной трансплантации сингенным реципиентам *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовались самцы и самки мышей линии СВА в возрасте 8–12 недель. Животные находились на стандартной сбалансированной

диете в виварии СО РАМН. Эксперименты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Суспензию костного мозга выделяли из бедренных костей самцов СВА, в стерильных условиях удаляли эпифизы, а диафизы промывали средой RPMI-1640. Спленоциты получали гомогенизацией селезенки самцов СВА в стерильных условиях в среде RPMI-1640. Клетки костного мозга и спленоциты мышей-доноров суспендировали в среде RPMI-1640 при комнатной температуре и вводили мышам-реципиентам (самкам СВА) в хвостовую вену в концентрации 10×10^6 клеток/мышь. Через 1 ч, 24 ч, 1 мес. и 3 мес. после трансплантации у реципиентов выделяли паховые и аксиллярные лимфатические узлы, селезенку, пе-

Соловьева А.О. – младший научный сотрудник, e-mail: solovevaao@yandex.ru

Повещенко А.Ф. – д.м.н., зав. лабораторией, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Повещенко О.В. – к.м.н., зав. лабораторией, e-mail: PoveschenkoOV@yandex.ru

Зубарева К.Э. – младший научный сотрудник, e-mail: zubareva_kje@vector.nsc.ru

Миллер Т.В. – аспирант, e-mail: tmw87@mail.ru

Коненков В.И. – д.м.н., проф., академик РАМН, директор, e-mail: konenkov@soramn.ru

чень, сердце, кожу, мышцы бедра, головной мозг, костный мозг и замораживали при температуре -70°C .

Цельная ДНК была выделена из замороженных органов при помощи стандартной обработки додецилсульфатом натрия (SDS) с протеиназой К и методом высаливания. Полученную ДНК растворяли в 500 мкл воды и замораживали при температуре -20°C [4].

Для обнаружения клеток донорского происхождения в органах реципиента использовали маркер Y-хромосомы (ген *sry*), который был выявлен с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Пробы ДНК приводили к единой концентрации, амплифицировали в реакционной смеси, содержащей мышинные праймеры, специфичные для Y-хромосомы [9]. Условия ПЦР: денатурация при 95°C в течение 3 мин, затем 35 циклов по 50 с при 94°C , 50 с при 52°C и 50 с при 72°C . Далее проводили ПЦР, используя вложенные праймеры [1]. В качестве матрицы использовали 3 мкл ампликонов после первичной ПЦР. Условия амплификации были теми же, что и в случае первичной ПЦР, только с 25 циклами. В результате амплификации был получен фрагмент 320 пар оснований. В качестве позитивного и негативного контроля использовали ткань интактных самцов и самок соответственно. Полуколичественное определение маркера в органах проводили при помощи программного обеспечения Quantity One в денситометре Geldok (Bio-Rad, США) в единицах оптической плотности ампликонов электрофорограммы. Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение. Достоверность различий определяли с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как видно из табл. 1, после введения клеток костного мозга и спленоцитов самцов-доноров ДНК *sry*-гена Y-хромосомы определялась во всех исследуемых органах во все сроки после трансплантации. То есть клетки костного мозга и спленоциты, введенные внутривенно, мигрируют во все органы и ткани и остаются в них в течение всего периода исследования (3 мес.).

Интенсивность миграции клеток костного мозга и селезенки различается и варьирует в зависимости от органа и срока после введения. Так, минимальные показатели миграции и/или накопления *sry*-позитивных клеток костного мозга и спленоцитов донора были обнаружены в коже через 1 и 24 ч после введения. Максимальные пока-

затели миграции спленоцитов обнаружены в лимфатические узлы и в селезенку (достоверно выше по сравнению с показателями миграции клеток костного мозга) через 1 мес. после трансплантации. Максимальные показатели маркера клеток костного мозга обнаружены через 3 мес. после трансплантации в костном мозге (табл. 1, 2). В первый час после введения большинство имплантированных клеток костного мозга, которое определялось по уровню маркера (*sry*-ген), было обнаружено в печени и в селезенке, различия были достоверными по сравнению с показателями миграции спленоцитов. Через 24 ч после трансплантации обнаружены достоверно более высокие показатели миграции *sry*-позитивных спленоцитов в лимфатические узлы по сравнению с клетками костного мозга.

Через 1 мес. после трансплантации увеличиваются показатели накопления *sry*-позитивных спленоцитов (по сравнению с клетками костного мозга) в лимфатических узлах, различия были достоверными по сравнению с соответствующими показателями спленоцитов.

Высоки показатели накопления донорских клеток через 1 мес. в селезенке, причем показатели маркеров спленоцитов статистически превышают таковые клеток костного мозга (см. табл. 1, 2).

Через 3 мес. после трансплантации максимальным было накопление клеток в печени. Максимальное накопление спленоцитов донорского происхождения в данную временную точку отмечалось в лимфатических узлах, печени и селезенке. Максимальное количество маркера клеток костного мозга определялось в костном мозге реципиента. Минимальные показатели накопления спленоцитов отмечаются в головном мозге, клеток костного мозга – в коже (см. табл. 1, 2).

При исследовании временной динамики миграции и/или накопления *sry*-позитивных спленоцитов в лимфатических узлах было обнаружено постепенное их увеличение с максимальными значениями через 1 мес. после трансплантации с некоторым снижением через 3 мес. Причем показатели миграции и накопления спленоцитов были достоверно выше, чем клеток костного мозга (см. табл. 1, 2).

При исследовании временной динамики миграции и/или накопления *sry*-позитивных клеток в печени был обнаружен высокий уровень миграции клеток костного мозга и спленоцитов через 1 ч с некоторым снижением через 24 ч и постепенным увеличением в последующем. Через 3 мес. уровень маркера донорских клеток в печени максимален (см. табл. 1, 2).

Таблица 1

Интенсивность миграции и интеграции клеток костного мозга мышей самок СВА в органы сингенных реципиентов самок в разные сроки после внутривенной трансплантации

Орган	Время после трансплантации											
	1 ч			24 ч			1 мес.			3 мес.		
	ккм	спленциты	ккм	ккм	спленциты	ккм	ккм	спленциты	ккм	ккм	спленциты	ккм
Печень	969,71 ± 118,54	767,36 ± 59,72	697,05 ± 57,87	730,13 ± 93,59	916,63 ± 111,67	791,52 ± 98,06	1071,45 ± 125,69	1052,71 ± 74,31				
Селезенка	954,66 ± 117,09	1103,96 ± 66,85	767,12 ± 119,68	864,90 ± 140,75	1087,57 ± 28,50	1116,80 ± 131,85	889,44 ± 100,04	1041,95 ± 16,01				
Лимфатические узлы	811,35 ± 50,65	957,78 ± 74,15	506,44 ± 192,64	916,20 ± 77,05	795,28 ± 100,02	1169,85 ± 122,64	502,57 ± 89,62	1131,52 ± 53,58				
Сердце	555,68 ± 85,33	761,33 ± 77,68	734,58 ± 83,18	638,77 ± 52,48	534,85 ± 92,61	624,43 ± 55,37	686,99 ± 80,47	806,98 ± 46,08				
Костный мозг	853,82 ± 78,06	879,90 ± 74,26	655,81 ± 78,04	791,43 ± 76,49	1165,27 ± 146,93	818,16 ± 64,31	1123,08 ± 67,36	892,56 ± 70,67				
Головной мозг	629,79 ± 88,42	441,31 ± 140,22	793,53 ± 104,46	702,89 ± 70,36	772,56 ± 76,28	709,50 ± 94,76	876,63 ± 82,08	380,86 ± 95,09				
Кожа	267,13 ± 67,58	207,87 ± 47,32	289,28 ± 91,56	222,12 ± 74,60	375,31 ± 111,24	322,76 ± 123,14	276,46 ± 87,76	377,12 ± 65,31				

Таблица 2

Уровни достоверности различий между исследуемыми группами

Орган	ккм1												ккм2												ккм3		
	ккм2			ккм3			ккм4			спл1			спл2			спл3			спл4			спл2	спл3	спл4	спл3	спл4	
	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл1	спл2	спл3	спл4	спл2	спл3	спл4	спл3	спл4
Печень	0,00101	0,01789	0,00329	0,00427	0,00109	0,0032	0,00407	0,00526	0,0015	0,02092																	
Селезенка	0,0015	0,01911		0,01261	0,01557	0,01557	0,00016	0,00016	0,02837	0,00016																	
Лимфатические узлы	0,0015		0,00016	0,00016	0,01017	0,00016	0,00016	0,0015	0,0015	0,00016																	
Сердце	0,00067		0,00516	0,00051	0,02334	0,01017	0,00016	0,00051		0,00021																	
Костный мозг	0,00038	0,00038	0,00016					0,00016		0,00025																	
Головной мозг	0,00516	0,00194	0,00074	0,0025	0,04125	0,04125	0,00051			0,00038																	
Орган	ккм3			ккм4			ккм3			ккм4			спл1			спл2			спл3			спл4					
Печень	0,00541	0,01517	0,02749	0,00252	0,00172	0,00093	0,00109	0,0065	0,0025	0,00024																	
Селезенка		0,0025		0,00029	0,00029	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016																	
Лимфатические узлы	0,00051	0,01557	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016	0,00194	0,0015	0,0032																	
Сердце	0,00051	0,01017	0,01557	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016	0,00194	0,0015	0,0015																	
Костный мозг	0,00067	0,00016	0,00021	0,00051	0,00016	0,00016	0,00016	0,00016	0,02334	0,04125																	
Головной мозг	0,00038	0,01557		0,00016	0,00038	0,00074	0,00187	0,00038	0,00194	0,00194																	
Кожа										0,0318																	

Примечание. ккм1, ккм2, ккм3, ккм4 – клетки костного мозга через 1 ч, 24 ч, 1 мес. и 3 мес. после трансплантации соответственно; спл1, спл2, спл3, спл4 – спленциты через 1 ч, 24 ч, 1 мес. и 3 мес. после трансплантации соответственно.

При исследовании временной динамики миграции и/или накопления *spy*-позитивных клеток в селезенке обнаружен высокий уровень миграции клеток костного мозга и спленоцитов через 1 ч. Затем наблюдается снижение указанных показателей через 24 ч, повышение через 1 мес. и достоверное увеличение показателей через 3 мес. после трансплантации спленоцитов по сравнению с клетками костного мозга (см. табл. 1, 2).

При исследовании временной динамики миграции и/или накопления *spy*-позитивных клеток в сердце был обнаружен достоверно более высокий уровень миграции спленоцитов по сравнению с клетками костного мозга через 1 ч после трансплантации. В течение суток это различие нивелируется, причем уровень маркера клеток костного мозга в сердце выше, чем спленоцитов. Обнаружено увеличение показателей накопления *spy*-позитивных клеток в сердце через 3 мес. после трансплантации спленоцитов по сравнению с клетками костного мозга (см. табл. 1, 2).

При исследовании временной динамики миграции и/или накопления *spy*-позитивных клеток в костный мозг был выявлен достоверно более высокий уровень ремиграции клеток костного мозга по сравнению со спленоцитами через 1 и 3 мес. после трансплантации. Установлено увеличение показателей миграции и накопления *spy*-позитивных спленоцитов в костном мозге через 24 ч после их трансплантации по сравнению с клетками костного мозга (см. табл. 1, 2).

Обнаружена миграция и накопление *spy*-позитивных клеток в головном мозге реципиентов, причем клетки костного мозга мигрировали активнее, чем спленоциты, во все исследуемые сроки, но максимальный уровень наблюдался через 24 ч после трансплантации (см. табл. 1, 2).

Общая интенсивность миграции и накопления *spy*-позитивных клеток костного мозга и спленоцитов в коже реципиентов была ниже, чем в других органах. Наиболее низкий уровень миграции и накопления *spy*-позитивных клеток в коже реципиентов наблюдался через 24 ч после трансплантации (см. табл. 1, 2).

Таким образом, в первые сутки после введения клеток костного мозга и спленоцитов более выражена их миграция в лимфоузлы и селезенку, чем в другие лимфоидные органы, причем миграция последних преобладает.

В отдаленные сроки наблюдения (1 и 3 мес.) *spy*-позитивные клетки костного мозга ремигрируют и накапливаются преимущественно в костном мозге, а *spy*-позитивные спленоциты – преимущественно в лимфатических узлах и селезенке.

Среди нелимфоидных органов в начальном периоде концентрация трансплантируемых кле-

ток максимальна в печени и сердце и минимальна в коже и головном мозге. К 3 мес. нарастает концентрация трансплантированных клеток костного мозга в головном мозге и остается стабильно невысокой в коже.

ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность клеточной трансплантации тесно связана с миграционной активностью введенных клеток. Так, нами установлено, что клетки костного мозга мигрируют во все исследуемые органы во все сроки после трансплантации, поскольку маркер определяется в костном мозге, лимфатических узлах, печени, селезенке, сердце, головном мозге, коже (см. табл. 1). Как известно, в костном мозге сосуществуют и функционально взаимодействуют два вида стволовых клеток: гемопоэтические и мезенхимальные [5, 10]. Перспективы использования стволовых клеток костного мозга в регенеративной медицине и тканевой инженерии связаны прежде всего с мезенхимальными стромальными стволовыми клетками костного мозга (МСК). МСК мультипотентны, так как после гетеро- и ортотопической трансплантации *in vivo* способны дифференцироваться в костные, хрящевые, эндотелиальные, мышечные, клетки нервной ткани и другие типы тканевых клеток мезенхимального происхождения [7].

Очевидно, что миграция зависит от особенностей запроса клеток микроокружения того или иного органа, от запаса пула собственных стволовых клеток в каждом органе. Миграционная активность мезенхимальных и гемопоэтических клеток костного мозга в органы и ткани организма может быть связана с выполняемыми ими функциями. В связи с этим стромальные клетки (их в костном мозге около 0,01 %) мигрируют в органы и ткани для поддержания пула регионарных стволовых клеток, участвующих в процессах пролиферации, дифференцировки и репарации органов и тканей, а гемопоэтические (их в костном мозге около 1 %) – в костный мозг и, возможно, в лимфоузлы. Именно гетерогенность трансплантированных клеток костного мозга обуславливает особенности их ремиграции в костный мозг. Так как миграция в костный мозг направлена на поддержание гемопоэза, то в костный мозг «ремигрируют» преимущественно стволовые (гемопоэтические) клетки. Стволовые клетки имеются не только в костном мозге, но и в селезенке. Селезенка не только содержит лимфоидную ткань, фагоциты, удаляющие старые клетки крови, но и наряду с костным мозгом участвует в процессах кроветворения. Таким образом, селезенка рассматривается как важнейшее депо и зрелых клеточ-

ных элементов крови, используемых организмом при кровопотере, и стволовых клеток. В настоящее время обсуждаются возможности изучения механизмов миграции стволовых клеток селезенки в поджелудочную железу при сахарном диабете и дифференцировку их в инсулинпродуцирующие клетки.

В литературе описаны механизмы миграции клеток, связанные с цитокинами, хемокинами и их рецепторами на клетках. Важным цитокином, регулирующим миграцию клеток, является высокомобильный групповой белок-1 (high mobility group box-1, HMGB1) – негистоновый протеин, требующийся для поддержания архитектуры хроматина. Ранее показано, что HMGB1 может пассивно освобождаться гибнущими клетками, являясь сигналом повреждения тканей, он индуцирует стволовые клетки к трансмиграции через эндотелиальный барьер [8]. Иницирующими сигналами к мобилизации МСК служат такие молекулярные сигналы из очага повреждения, как фактор стромальных клеток-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1), решающую роль в синтезе которого играет тканевая гипоксия [3]. Блокада индуцируемого гипоксией фактора 1 (HIF-1) приводит к снижению синтеза SDF-1 и снижению адгезивной способности стволовых клеток в культуре. Взаимодействие хемокина SDF-1 и рецептора CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4) является ключевым в регуляции хоминга и миграции стволовых клеток, в том числе и у мышей, оно контролирует прикрепление, заселение костного мозга стволовыми клетками в период эмбрионального развития и выход зрелых клеток костного мозга в циркуляцию крови. Активация SDF-1/CXCR4 происходит в ответ на воспалительные, хемотактические стимулы, такие как ИЛ-6, выделяющиеся в очаге воспаления, инфаркте, инсульте, травме, опухоли, при образовании новых сосудов, для рекрутирования эндотелиальных клеток предшественников.

Миграция лимфоцитов из кровяного русла во вторичные лимфоидные ткани (лимфатические узлы или Пейеровы бляшки) происходит при взаимодействии хоминг-рецепторов с сосудистыми адресинами на поверхности клеток высокого эндотелия в этих тканях [11]. Как видно из полученных нами результатов, процессы миграции клеток-предшественников костного мозга тесно связаны с их последующей пролиферацией и дифференцировкой. Так, например, увеличение количества маркера в органах через 1 и 24 ч больше объяснимы именно миграцией клеток, а через 1 и 3 мес., вероятно, больше свидетельствуют о пластичности клеток, пролиферации и дифференцировке трансплантированных клеток в органах. Полу-

ченные нами сведения о миграции клеток костного мозга, а также данные литературы позволяют предположить, что мобилизация и хоминг представляют собой цепь взаимосвязанных физиологических событий, представляющих интерес с точки зрения возможности целенаправленного воздействия на ее звенья с целью повышения эффективности репаративной клеточной терапии.

Ряд авторов показали, что при внутривенной трансплантации мезенхимальные стволовые клетки уже в первые часы после трансплантации обнаруживаются практически во всех органах, однако через двое суток количество введенных клеток в организме реципиента уменьшается [7, 12]. В ходе исследования мы обнаружили, что клетки костного мозга и спленоциты мигрируют во все органы и ткани, в том числе и в головной мозг, причем в течение трех месяцев уровень определяемого маркера клеток донорского происхождения постепенно увеличивается, что может свидетельствовать о пролиферации и дифференцировке трансплантируемых клеток. При этом предполагается переход трансплантируемыми клетками гематоэнцефалического барьера и их активная миграция под действием молекулярных сигналов (например, цитокинов, хемокинов, продуцируемых клетками нервной системы, и их рецепторов) и химеризация тканей. Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что мезенхимальные клетки костного мозга обладают способностью проникать через гематоэнцефалический барьер и мигрировать от места введения к различным областям мозга [6].

Нами установлено, что при трансплантации как клеток костного мозга, так и спленоцитов маркер донорских клеток присутствует в органах реципиента в течение по крайней мере трех месяцев, причем в некоторых органах, таких как печень, селезенка, головной мозг, паховые и аксиллярные лимфатические узлы, количество клеток донорского происхождения увеличивается со временем. Это может свидетельствовать о пролиферации и дифференцировке трансплантируемых клеток, что не противоречит теории о приобретении стволовыми клетками фенотипа зрелых. Трансплантированные клетки не только мигрируют и интегрируются в ткани, но и химеризуют их. Относительно дальнейшей судьбы трансплантированных клеток существуют разные мнения. Так, ряд исследователей считают, что клетки донора и реципиента сливаются [13], другая группа ученых предложила теорию трогацитоза, при котором происходит перенос поверхностных клеточных антигенов донора на клетки реципиента [14].

Данное исследование посвящено изучению миграции клеток костного мозга и селезенки у здоровых животных. Наша последующая экспериментальная работа будет направлена на изучение процессов миграции клеток при моделировании различных патологий.

ВЫВОДЫ

1. Клетки костного мозга и клетки селезенки мигрируют во все исследуемые органы во все сроки после трансплантации: маркер *sry*-гена Y-хромосомы определяется в лимфатических узлах, печени, селезенке, сердце, головном мозге, костном мозге, коже.

2. Интенсивность миграции клеток костного мозга и селезенки варьирует в зависимости от органа и срока после введения. Так, минимальные показатели миграции и/или накопления *sry*-положительных клеток костного мозга и спленоцитов донора были обнаружены в коже через 24 ч. Максимальные показатели миграции спленоцитов в лимфатические узлы (достоверно выше по сравнению с показателями миграции клеток костного мозга) наблюдались через 1 мес. после трансплантации. Максимальные показатели миграции клеток костного мозга в селезенку обнаружены через 1 час после трансплантации.

3. Помимо хорошо известного пути миграции клеток из костного мозга в другие органы существует и обратный путь миграции клеток из кровотока в костный мозг. Другими словами, миграция созревающих в костном мозге клеток с различной стадией дифференцировки и пластичности носит непрерывный характер и является динамическим процессом. Обнаружена также миграция спленоцитов в костный мозг. Максимальные показатели миграции и/или накопления *sry*-положительных спленоцитов донора были обнаружены в коже через 24 часа, а затем они уменьшались и были достоверно ниже показателей миграции клеток костного мозга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ведина Л.А., Сенников С.В., Труфакин В.А., Козлов В.А. Стволовые клетки эпителиального слоя тонкого кишечника // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2008. (2). 63–67.

2. Соловьева А.О., Повещенко А.Ф., Шевченко А.В. и др. Изучение динамики миграционной активности клеток костного мозга в условиях сингенной трансплантации *in vivo* у мышей СВА // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2011. (3-1). 221–226.

3. Hitchon C., Wong K., Ma G. et al. Hypoxia-induced production of stromal cell-derived factor 1 (CXCL12) and vascular endothelial growth factor by synovial fibroblasts // Arthritis Rheum. 2002. 46. (10). 2587–2597.

4. Jólkowska J., Pieczonka A., Strabel T. et al. Hematopoietic chimerism after allogeneic stem cell transplantation: a comparison of quantitative analysis by automated DNA sizing and fluorescent *in situ* hybridization // BMC Blood Disord. 2005. 5. (1). 1–6.

5. Koç O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Rapid hematopoietic recovery after co-infusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy // J. Clin. Oncol. 2000. 18. 307–316.

6. Kopen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. 96. 10711–10716.

7. Li Z.H., Liao W., Cui X.L. et al. Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head // Int. J. Med. Sci. 2011. 8. (1). 74–83.

8. Palumbo R., Bianchi M.E. High mobility group box 1 protein, a cue for stem cell recruitment // Biochem. Pharmacol. 2004. 68. (6). 1165–1170.

9. Pang W. Role of muscle-derived cells in hematopoietic reconstitution of irradiated mice // Blood. 2000. 95. (3). 1106–1108.

10. Park S.K., Won J.H., Kim H.J. et al. Co-transplantation of human mesenchymal stem cells promotes human CD34+ cells engraftment in a dose-dependent fashion in NOD/SCID mice // J. Korean Med. Sci. 2007. 3. 412–419.

11. Tavassoli M., Hardy C.L., Aizawa S. et al. Molecular mechanism of hematopoietic stem cell binding to the supportive stroma // Prog. Clin. Biol. Res. 1990. 352. 87–95.

12. Tomita Y., Makino S., Hakuno D. et al. Application of mesenchymal stem cell-derived cardiomyocytes as bio-pacemakers: current status and problems to be solved // Med. Biol. Eng. Comput. 2007. 45. (2). 209–220.

13. Weimann J.M., Charlton C.A., Brazelton T.R. Contribution of transplanted bone marrow cells to Purkinje neurons in human adult brains // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. 100. (4). 2088–2093.

14. Yamanaka N., Wong C.J., Gertsenstein M. Bone marrow transplantation results in human donor blood cells acquiring and displaying mouse recipient class I MHC and CD45 antigens on their surface // PLoS One. 2009. 4. (12). e8489.

COMPARATIVE STUDY ON THE MIGRATION AND DISTRIBUTION OF BONE MARROW AND SPLEEN CELLS INTO LYMPHOID AND NON-LYMPHOID ORGANS OF CBA MICE *in vivo* IN DIFFERENT PERIODS AFTER TRANSPLANTATION

Anastasia Olegovna SOLOVIEVA¹, Aleksander Fedorovich POVESHCHENKO²,
Olga Vladimirovna POVESHCHENKO², Kristina Eduardovna ZUBAREVA²,
Tatyana Vladimirovna MILLER², Vladimir Iosifovich KONENKOV²

¹ *Institute of Pathology of Circulation n.a. acad. E.N. Meshalkin of Minzdrav of Russia*
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15

² *Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS*
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

The purpose of this study was to examine the migration activity and distribution of *in vivo* bone marrow cells and splenocytes of male CBA intravenous transplantation in syngeneic females. As a marker of cell donor was used Y chromosome *sry* gene of male donor bone marrow cells and spleen cells. The dynamics of migration and comparative analysis of the distribution of *sry*-positive cells of bone marrow and spleen donor males in different periods after intravenous transplantation (after 1 hour, 24 hours, 1 month, 3 months) in skin, lymph nodes, liver, spleen, heart, brain, bone marrow of the organs of syngeneic recipients, female CBA mice have been studied. It has been found that bone marrow and spleen cells migrate with different dynamic into all studied organs, both into lymphoid and non-lymphoid during all periods after transplantation.

Key words: bone marrow cells, spleen cells, migration, Y chromosome *sry* gene.

Solovieva A.O. – junior researcher, e-mail: solovevaao@yandex.ru

Poveshchenko A.F. – doctor of medical sciences, head of the laboratory, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Poveshchenko O.V. – candidate of medical sciences, head of the laboratory, e-mail: PoveshchenkoOV@yandex.ru

Zubareva K.E. – junior researcher, e-mail: zubareva_kje@vector.nsc.ru

Miller T.V. – postgraduate student, e-mail: tmw87@mail.ru

Konenkov V.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAMS, director, e-mail: konenkov@soramn.ru

ИММУНОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ МЫЛКОЙ АМФИФИЛЬНОЙ ВЫСОКОПОЛИМЕРНОЙ РНК ИЗ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ

Татьяна Витальевна ЯМКОВАЯ¹, Ольга Петровна КОЛЕСНИКОВА²,
Виталий Иванович ЯМКОВОЙ³, Владимир Александрович КОЗЛОВ²,
Лев Евгеньевич ПАНИН³

¹ ООО «Виталанг»

630055, г. Новосибирск, ул. Рубиновая, 4-128

² ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН

630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

³ ФГБУ НИИ биохимии СО РАМН

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Исследована иммунотропная активность мылкой амфифильной высокополимерной РНК, выделенной из пекарских дрожжей с помощью олеиновой кислоты. Обнаружено, что данный препарат дозозависимо увеличивает массу лимфоидных органов (тимуса и селезенки) у мышей, возрастает также среднее количество клеток в данных органах. Препарат индуцирует лейкоцитарную реакцию, дозозависимо стимулирует первичный (IgM) и вторичный (IgG) гуморальный иммунный ответ. Вместе с тем он оказывает иммунодепрессивное воздействие на выраженность клеточного иммунного ответа (дозозависимое подавление эффекторной фазы реакции гиперчувствительности замедленного типа и выраженное подавление фазы сенсибилизации в высокой дозе).

Ключевые слова: дрожжи, олеиновая кислота, высокополимерная РНК, иммунотропная активность РНК.

Рибонуклеиновые кислоты представляют собой важнейшие компоненты живой клетки. Помимо мажорных – рибосомальной, матричной и транспортной РНК – в клетке присутствуют весьма многочисленные виды минорных РНК, которые, как выяснилось, играют регуляторную роль в самых разнообразных клеточных процессах. В связи с этим исследование компонентов суммарной РНК представляет собой значительный интерес, особенно если учесть, что разные компоненты пула клеточных РНК могут влиять на различные процессы в клетке, так что может наблюдаться некоторый сочетанный эффект.

Ранее из дрожжей было выделено несколько различных препаратов РНК и исследована их биологическая активность. Натриевая соль низкополимерной дрожжевой РНК – Нуклеинат натрия – давно применяется в медицине при лечении пациентов с широким спектром заболеваний. Он обладает высокой биологической активностью, ускоряет процессы регенерации тканей, стиму-

лирует деятельность костного мозга и лейкопоз; обладает активностью поликлонального иммуностимулятора, регулируя миграцию Т-лимфоцитов и процессы кооперации Т- и В-лимфоцитов. Нуклеинат натрия относится к стимуляторам фагоцитарной активности макрофагов и продукции факторов неспецифической защиты [4]. На основе высокополимерной составляющей дрожжевой РНК разработан препарат – Полирибонат. Он также биологически активен, в частности, специфически стимулирует биосинтез белка в кроветворных и иммунокомпетентных органах [9]. Полирибонат обладает противовирусными свойствами, усиливает гемопоэз, является иммуномодулятором и адьювантом; в последнее время используется в ветеринарии [12]. В качестве индуктора интерферона используется двуспиральная РНК – Ридостин, выделяемая из киллерных штаммов дрожжей [5]. Полирибонат, Нуклеинат натрия и Ридостин состоят из гидрофильных молекул, хорошо растворимых в воде.

Ямкова Т.В. – к.б.н., директор, e-mail: yam_tv@mail.ru

Колесникова О.П. – д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной иммунотерапии, e-mail: iscreen2001@mail.ru

Ямковой В.И. – д.б.н., проф., кафедры химии, e-mail: vitalang2@mail.ru

Козлов В.А. – д.м.н., проф., академик РАМН, директор, e-mail: iscreen2001@mail.ru

Панин Л.Е. – д.м.н., проф., академик РАМН, директор, e-mail: ibch@soramn.ru

Недавно нами было описано получение принципиально иной мылкой амфифильной высокополимерной РНК из сухих пекарских дрожжей [14]. Предложенная технология основана на детергентном лизисе клеток дрожжей при повышенной температуре с помощью олеиновой кислоты. Препарат был назван Виталангом-2.

Основные характеристики препарата:

– растворимость в воде – удовлетворительная (в отличие от гидрофильного Полирибоната, растворяющегося в воде в течение нескольких секунд, препарат Виталанг-2 растворяется в воде только через 30–60 мин при периодическом перемешивании), водный раствор мылкий, нерастворенные крупинки скользкие;

– весовая экстинкция, D_{260} , 10–18,5 ед./мг; содержание КРФ $\leq 10\%$; прирост КРФ за 1 сут при $25^\circ\text{C} \leq 0,5\%$; спектральные отношения: $D_{230}/D_{260} - 0,25-0,55$; $D_{250}/D_{260} - 0,86-0,94$; $D_{280}/D_{260} - 0,40-0,65$.

Примесь прочно связанной олеиновой кислоты в препарате Виталанг-2 приводит к ухудшению его растворимости в воде. Однако можно было ожидать, что по этой же причине препарат будет обладать повышенной способностью проникать через биологические мембраны и поэтому проявлять более высокую биологическую активность.

Цель исследования – изучить в эксперименте иммуноактивные свойства высокополимерной РНК, выделенной из пекарских дрожжей с помощью олеиновой кислоты.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на здоровых половозрелых мышах-гибридах (СВА×С57BL/6) F1 (СВF1) обоего пола в возрасте 10–12 недель и массой тела 22–23 г. Животные были получены из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАМН (Новосибирск). До эксперимента и во время его проведения животных содержали в виварии в стандартных пластиковых клетках с мелкой древесной стружкой (не более 10 особей) на стандартном рационе. Исследования проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [3] в одно и то же время суток (утром).

В работе были использованы: среда RPMI-1640 и раствор Хенкса (НПО «Вектор», Россия); физиологический раствор, содержащий фосфатный буфер с pH 7,4; эмбриональная сыворотка телят («BioClot GmbH», Германия); Нерес, 2-меркаптоэтанол, L-глутамин и конканавалин

A (ConA) («Sigma-Aldrich», США); гентамицин (АО «Самсон», Россия); ^3H -тимидин («Изотоп», Россия); комплемент морской свинки (НПО «Биомед», Россия); парафин и воск. Для культивирования клеток селезенки использовали 96-луночные круглодонные планшеты для культивирования Linbro («Flow Laboratories», США).

Лиофилизированный препарат Виталанг-2 получали, как описано в работе [10], стерилизовали по методу [11], растворяли в воде для инъекций, встряхивая суспензию 30–60 мин до полного растворения РНК, и вводили животным опытных групп в разных дозах в объеме 0,5 мл внутривенно ежедневно в течение 5 дней. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили растворитель препарата (воду). Каждый эксперимент повторяли 2–3 раза, число наблюдений для группы контроля и опыта составляло не менее 10 животных.

Оценку иммуноактивных свойств Виталанга-2 проводили в соответствии с методическими материалами [7] и методическими рекомендациями [8]. Органы, ткани и клетки выделяли по стандартным методикам [1].

Выделение клеток. Мышей забивали дислокацией позвоночника и помещали на стерильный анатомический столик. Селезенку и тимус извлекали, помещали во флакончики со средой, расстригали ножницами, многократно пропускали через шприц с иглой, фильтровали через металлическую сеточку и 2–3 раза отмывали центрифугированием при 1000 г в течение 10 мин со сменой среды.

Определение миелоактивных свойств было основано на определении количества ядросодержащих клеток в периферической крови через 24 ч после последнего введения препарата. Результаты выражали в абсолютных значениях (количество лейкоцитов в 1 мл крови).

Гуморальный иммунный ответ на тимус-зависимый антиген – эритроциты барана (ЭБ) (число IgM- и IgG-антителообразующих клеток (АОК)) в селезенке мышей оценивали на пике иммунного ответа, свойственного данному генотипу после внутривенного введения 2×10^8 ЭБ [6]. Все процедуры с клетками проводили на льду. Для определения числа IgM-АОК при первичном гуморальном иммунном ответе инкубационную смесь, состоящую из клеток селезенки, ЭБ и комплемента, помещали в стеклянные камеры и инкубировали 1,5 ч при 37°C . Количество IgM-АОК в селезенке мышей оценивали на 4-е сутки после иммунизации по количеству зон локального гемолиза в полужидкой среде модифицированным методом [6]. Результаты выражали в абсолютном количестве IgM-АОК в селезенке.

Для определения числа IgG-АОК (при первичном и вторичном гуморальном иммунном ответе) в инкубационную смесь добавляли антисыворотку против IgG мыши и инкубировали в термостате 2 ч при 38 °С. Зоны гемолиза подсчитывали под бинокулярной лупой (увеличение $\times 42$). Количество IgG-АОК в селезенке (первичный иммунный ответ) определяли на 9-е сутки после иммунизации. Через 30 дней проводили вторичную иммунизацию 2 % ЭБ внутривенно, на пике иммунного ответа (на 5-е сутки после вторичной иммунизации) методом локального гемолиза в селезенке определяли количество IgG-АОК (вторичный иммунный ответ) [6]. Клетки селезенки инкубировали 2 ч при 39 °С в камерах с ЭБ, комплементом морской свинки и кроличьей антисывороткой против мышинного IgG (разведение в 2000 раз). Зоны гемолиза подсчитывали под бинокулярной лупой (увеличение $\times 42$). Результаты выражали в абсолютном количестве IgG-АОК в селезенке.

Клеточный иммунный ответ на тимус-зависимый антиген оценивали по степени выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ): измеряли величину отека лапки после введения разрешающей дозы ЭБ сенсибилизированным животным; сенсибилизирующая доза – $2,5 \times 10^7$ ЭБ/мышь внутрибрюшинно, разрешающая доза – 5×10^8 ЭБ/мышь под подошвенный апоневроз задней лапки, контроль – контралатеральная лапка, в которую вводили среду в том же объеме. Для оценки влияния препарата на фазу сенсибилизации ГЗТ в день последнего введения Виталанга-2 мышей иммунизировали внутрибрюшинным введением 0,25 % ЭБ в объеме 0,5 мл, на 4-е сутки после сенсибилизации вводили разрешающую дозу антигена под подошвенный апоневроз правой задней лапы (50 % ЭБ в объеме 50 мкл). В контралатеральную лапу вводили растворитель в том же объеме. Для оценки влияния препарата на эффекторную фазу Виталанг-2 вводили в день проведения сенсибилизации и далее в течение четырех дней. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили растворитель препарата (воду). Реакцию ГЗТ оценивали по методике локальной ГЗТ [15]. Учет реакции производили через 24 ч после введения разрешающей дозы ЭБ, величину отека оценивали штангенциркулем. Результаты выражали в процентах.

Спонтанная и митоген-стимулированная пролиферация клеток селезенки в культуре *in vitro* под влиянием Виталанга-2. Клетки селезенки мышей культивировали в круглодонных планшетах для иммунологических реакций при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и 95 % воздуха. Абсолютное количество клеток, вносимых в лунку,

составляло 200 000. Клетки стимулировали митогеном ConA. Концентрацию митогена подбирали предварительным титрованием и использовали в оптимальной дозе, что составило 2 мкг/мл ConA. Виталанг-2 в трех дозах вносили в лунки одновременно с митогеном. Пролиферативную активность клеток оценивали по включению H³-тимидина в ДНК делящихся клеток. Метку вносили за 16 ч до конца культивирования по 1 мКи в каждую лунку планшета. Для этого основной раствор H³-тимидина доводили средой RPMI-1640 до концентрации 100 мКи/мл и вводили по 10 мкл в каждую лунку планшета. По окончании инкубации клетки собирали на стеклано-волоконистые фильтры («Flow Laboratories») с помощью аппарата Harvester («Titertek», «Flow Laboratories»). Фильтры высушивали и помещали во флаконы для сцинтилляционного счета с толуольным сцинтиллятором (4 г дифенилоксазола, 0,1 г дифенил-оксазолбензола на 1 л толуола). Их радиоактивность подсчитывали в жидкостном сцинтилляционном счетчике «Delta» (США). Результаты выражали в количестве импульсов в минуту включенного тимидина на 2×10^5 клеток, представлены средние данные по триплету.

Статистическую обработку данных по числу АОК, имеющему распределение, отличное от нормального, проводили по непараметрическому критерию Манна – Уитни [2]; в таблицах представлены средние арифметические значения (*M*), а также минимальные и максимальные (*Min*–*Max*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение иммунотропной активности фармакологических веществ включает комплекс стандартных методик, с помощью которых можно оценить эффект изучаемого вещества на иммунитет и сделать вывод о возможности его отнесения к группе иммунотропных средств. При этом идентифицируется то звено иммунитета, на которое в наибольшей степени действует изучаемое вещество. Обязательно оценивается влияние препарата на гуморальный иммунный ответ (путем определения числа АОК), на клеточный иммунный ответ (реакция ГЗТ), на пролиферативную активность Т- и В-лимфоцитов [7]. Главная цель испытаний биологически активных соединений на первых этапах исследования, в том числе определение их иммуноактивных свойств, – это выявление наиболее активных соединений и отсеивание неперспективных для фармакологии веществ (соединений, обладающих малой активностью или нежелательными побочными эффектами), что представляет, однако, большие сложности. По

мнению Б.С. Утешева и соавт. [13], наиболее целесообразно наряду с оценкой иммуноактивных свойств определять одновременно и миелоактивные свойства соединений, действие на иммунную систему в целом, а не на отдельные виды иммунологической реактивности. Такими показателями служат масса, число клеток и популяционный состав центральных и периферических органов иммунной системы. Однако, по данным О.П. Колесниковой [6], некоторые соединения, практически не влияя на массу тимуса и селезенки, максимально стимулируют IgM-антителообразование, а другие, существенно увеличивая массу тимуса и селезенки, практически не изменяют величину IgM-ответа.

На первом этапе исследования Виталанга-2 оценивали влияние курсового введения препарата на гемопоэз и иммунопоэз в целом: на количество ядросодержащих клеток в периферической крови, массу и количество клеток в периферических органах иммунитета. Курсовое введение препарата приводило к выраженному дозозависимому увеличению как массы тимуса, так и количества

клеток в органе (табл. 1). Максимальное увеличение массы, клеточности тимуса и селезенки выявлялось при дозе 100 мг/кг. Введение препарата приводило также к достоверному увеличению количества лейкоцитов в периферической крови. Обнаруженное достоверное и существенное увеличение количества лейкоцитов в крови и количества клеток в тимусе соответствует данным литературы о способности препаратов дрожжевой РНК стимулировать лейкопоэз и изменять миграцию Т-лимфоцитов, что приводит к повышению количества ядросодержащих клеток в периферической крови и клеток в тимусе [12].

Далее оценивали влияние курсового введения препарата Виталанг-2 на первичный (IgM и IgG) и вторичный (IgG) гуморальный иммунный ответ на тимус-зависимый антиген в селезенке *in vivo*. В табл. 2 представлены данные о влиянии препарата, введенного в индуктивную фазу первичного гуморального иммунного ответа, на количество IgM-АОК в селезенке мышей. Период гуморального иммунного ответа, в течение которого В-лимфоцит получает специфический анти-

Таблица 1

Влияние Виталанга-2 на массу и количество клеток в лимфоидных органах у мышей CBF1

Группа	Масса тела, г	Тимус			Селезенка			Количество лейкоцитов крови, 106/мл
		Масса органа, мг		Количество клеток, 106/мл	Масса органа, мг		Количество клеток, 106/мл	
		М	Min–Max		М	Min–Max		
Контроль	22,8	23,4	11–37	26,2	100,4	76–116	100	7,5
Виталанг-2:								
10 мг/кг	23,2	32,0*	24–45	34,7*	126,0	79–203	109	8,1
50 мг/кг	23,2	38,8*	36–43	49,8*	128,6	109–140	149*	9,0
100 мг/кг	22,7	43,6*	36–54	57,4*	134,0	111–170	155*	11,2
200 мг/кг	21,9	40,6*	35–50	62,9*	109,2	99–125	133	15,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 звездочкой обозначены статистически значимые отличия от величины соответствующего показателя в контроле ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние Виталанга-2 на первичный (IgM АОК) гуморальный иммунный ответ на Т-зависимый антиген, на количество IgG-АОК при первичном и вторичном гуморальном иммунном ответе у мышей CBF1

Группа	Число IgM АОК на селезенку		Число IgG АОК (первичный ответ) на селезенку		Число IgG АОК (вторичный ответ) на селезенку	
	М	Min–Max	М	Min–Max	М	Min–Max
Контроль	13703	2191–26494	1924	1359–2520	863535	732298–1103097
Виталанг-2:						
0,5 мг/кг			1471	668–3572	813651	446167–1187614
10 мг/кг	14134	9788–19023				
50 мг/кг	35723*	21033–56810	1237	814–1768	903383	678497–1133922
100 мг/кг	28989*	14050–51585	1731	622–4661	1038565*	795253–1337136
200 мг/кг	29762*	23480–35898	1934	671–4312	927254	785841–1173393

генный сигнал и ряд дополнительных сигналов от клеток-помощников, называют индуктивной фазой иммунного ответа. Ее продолжительность составляет 2–3 дня. Введение препарата мышам в индуктивную фазу первичного гуморального иммунного ответа (введение антигена после курсового внутрижелудочного введения препарата) достоверно увеличивало в селезенке количество АОК, синтезирующих IgM-антитела (см. табл. 2), и, в то же время, не влияло на количество IgG-АОК в селезенке мышей при первичном иммунном ответе (см. табл. 2). Препарат, введенный в индуктивную фазу иммунного ответа (перед первичной иммунизацией) стимулировал вторичный (анамнестический) гуморальный иммунный ответ только в дозе 100 мг/кг.

Известно, что препараты дрожжевой РНК обладают активностью поликлональных стимуляторов, регулируя процессы как миграции Т-лимфоцитов, так и их кооперации с В-лимфоцитами, а также увеличивают функциональную активность макрофагов [12]. Возможно, стимуляция гуморального иммунного ответа (первичного и вторичного) на Т-зависимый антиген под действием препарата Виталанг-2 связана с усилением и миграции, и кооперации Т- и В-лимфоцитов. Различные эффекты препарата на первичный IgM- и IgG- и вторичный IgG-гуморальный иммунный ответ могут быть связаны с тем, что он изменяет генерирование эффективного гуморального иммунного ответа, основное содержание которого составляют процессы продвижения В-клеток по циклу, вступления в митоз, переключения классов иммуноглобулинов, последующей дифференцировки в плазматические клетки и формирование В-клеток памяти, требующего множества сигналов, в частности, наличия молекул цитокинов для инициации и переключения классов иммуноглобулинов. Различные этапы активации и последующего развития В-лимфоцитов находятся под контролем целого комплекса цитокинов. Известно, что развитие

Таблица 3

Влияние Виталанг-2 на клеточный иммунный ответ (ГЗТ) у мышей CBF1

Группа	Фаза сенсibilизации, %	Эффекторная фаза, %	Min–Max
Контроль	34,4	44,3	39,4–50,0
Виталанг-2:			
10 мг/кг	31,8	37,8*	36,4–39,4
50 мг/кг	37,7	38,2*	36,6–40,6
100 мг/кг	25,2*	29,8*	26,9–32,3
200 мг/кг	23,1	26,7*	26,0–27,6

Примечание. Величину отека лапки оценивали штангенциркулем (мм), результаты представлены в % относительно контрольной – контралатеральной лапки, в которую вводили воду в том же объеме.

иммунного ответа не заканчивается синтезом антител, а вызывает и формирование иммунной памяти. Но вопросы роли клеток памяти и закономерностей их регуляции, а также взаимоотношений первичного и вторичного гуморального иммунного ответа на уровне целостного организма еще далеки от разрешения.

Оценку влияния курсового введения препарата Виталанг-2 на клеточные реакции иммунной системы *in vivo* оценивали по выраженности индуктивной/продуктивной фазы реакции ГЗТ, отражающей функциональную активность Т-хелперных клеток типа 1 и макрофагального звена при ответе на Т-зависимый антиген. Препарат оказывает иммунодепрессивное действие на выраженность клеточного иммунного ответа (дозозависимое подавление эффекторной фазы реакции ГЗТ и выраженное подавление фазы сенсibilизации в дозе 100 и 200 мг/кг) (табл. 3).

По традиционным представлениям иммуноактивные соединения разделяются на иммуностимуляторы и иммуносупрессоры. Однако современные знания о патогенезе многих заболеваний, связанных с нарушением межклональ-

Таблица 4

Влияние Виталанг-2 на спонтанную и митоген-стимулированную пролиферацию клеток селезенки мышей CBF1 в культуре *in vitro* 5

Проплиферация, имп./мин	Доза препарата, мкг/мл							
	Опыт 1				Опыт 2			
	0	2	20	200	0	2	20	200
Спонтанная	935	850	889	1435*	751	766	687	1754*
ConA	49866	58475	46892	40016	58611	64931	57024	42063

Примечание. Пролиферативную активность клеток оценивали по включению H^3 -тимидина в ДНК делящихся клеток; результаты выражали в импульсах в минуту включенного H^3 -тимидина на 2×10^5 клеток, представлены средние данные по триплету.

ных взаимоотношений за счет расстройств Th1/Th2-регуляторных влияний и баланса соответствующих цитокинов, выдвигают требования к поиску новых иммуоактивных препаратов. В связи с этим представляют интерес препараты, проявляющие при первичном скрининге *in vivo* на интактных животных разнонаправленное действие на интегральные показатели – антителообразование и реакцию ГЗТ, оказывающие влияние либо только на гуморальный, либо только на клеточный иммунный ответ. Оценивая полученные данные, можно отметить, что Виталанг-2 оказывает разнонаправленный эффект на гуморальный и клеточный иммунный ответ: стимулирует антителообразование (Th2-ответ) и подавляет клеточные реакции иммунитета (Th1-ответ).

Оценку ростостимулирующей активности препарата Виталанг-2 проводили в культуре *in vitro* спонтанно пролиферирующих и стимулированных Т-клеточным митогеном спленоцитов интактных мышей, данные двух опытов представлены в табл. 4. Как видно из таблицы, начиная с дозы 200 мг/кг Виталанг-2 стимулирует спонтанную пролиферацию клеток селезенки, что согласуется с литературными данными о свойствах препаратов дрожжевой РНК как поликлональных стимуляторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая полученные результаты, следует отметить, что способность препарата Виталанг-2 стимулировать спонтанную активность клеток селезенки в культуре *in vitro*, стимулировать лейкопоз и гуморальный иммунный ответ на Т-зависимый антиген в целом согласуется с литературными данными об иммунологических свойствах препаратов дрожжевой РНК. Выраженные иммуоактивные свойства Виталанга-2 могут быть использованы для повышения неспецифической резистентности человека и животных к инфекционным заболеваниям.

Уникальной представляется способность Виталанга-2 оказывать оппозитное влияние на интегральные параметры иммунного ответа: стимулировать антителообразование и ингибировать клеточный иммунитет. В связи с этим перспективно проведение испытаний данного препарата для лечения заболеваний с реакциями ГЗТ в патогенетическом процессе (туберкулез, проказа, шистосомоз, саркоидоз и болезнь Крона). Особенно актуально лечение туберкулеза, который в последние годы в России приобрел масштабы эпидемии. Положительный результат предсказать нетрудно, поскольку туберкулез успешно лечится препаратами с добавлением Полирибоната.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Государственный контракт от 11.02.2011 № 16.512.11.2018).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1992. 272 с.
2. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л., 1978. 68–91.
3. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Страсбург, 1986.
4. Земсков В.М., Лидак М.Ю., Земсков А.М., Микстайс У.Я. Низкомолекулярная РНК: получение, гидролиз и применение в медицине. Рига: Зинатне, 1985. 191 с.
5. Кнорроз М.Ю., Попова О.М., Давыдова А.А. и др. Сравнительное изучение противовирусной активности природных двуспиральных РНК при экспериментальном клещевом энцефалите // Вопр. вирусол. 1985. 30. (6). 697–700.
6. Колесникова О.П. РТПХ-индуцированные расстройства иммунитета как экспериментальные модели для поиска новых биологически активных соединений: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 2000.
7. Методические материалы по экспериментальному (фармакологическому) и клиническому испытанию иммуномодулирующего действия фармакологических средств. М., 1984.
8. Методические рекомендации по оценке иммунотоксических свойств фармакологических средств. М., 1992.
9. Пат. 2045270 РФ. Специфический стимулятор биосинтеза белка в кроветворных и иммунокомпетентных органах / Л.Е. Панин, А.В. Харьковский; опубл. 10.10.95.
10. Пат. 2392329 РФ. Способ получения высокополимерной РНК из дрожжей / Т.В. Ямковая, Е.В. Кузовкова, Ю.П. Железнова и др.; опубл. 20.06.2010.
11. Пат. 2397988 РФ. Способ терминальной стерилизации высокополимерной дрожжевой РНК / Т.В. Ямковая, Е.В. Кузовкова, Ю.П. Железнова и др.; опубл. 27.08.2010.
12. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Ветеринария. 1992. (7–8). 49–50.
13. Утешев Б.С., Арзамасцев Е.В. Об оценке иммунотоксичности при доклиническом изучении биологически активных соединений // Эксперим. клинич. фармакол. 1996. 59. (3). 3–8.

14. Ямковая Т.В., Ямковой В.И., Панин Л.Е. Выделение и анализ биологической активности высокополимерной РНК из пекарских дрожжей // Бюл. СО РАМН. 2012. (6). 60–68.

15. Yoshikai Y, Miake S, Matsumoto T. *et al.* Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice // Immunology. 1979. 8. 577–583.

IMMUNOTROPIC ACTIVITY OF SOAPY AMPHIPHILIC HIGH-POLYMER RNA FROM BAKER'S YEAST

Tatyana Vitalievna YAMKOVAYA¹, Olga Petrovna KOLESNIKOVA², Vitaliy Ivanovich YAMKOVVOY³, Vladimir Aleksandrovich KOZLOV², Lev Evgen'yevich PANIN³

¹ LLC «Vitalang»

630055, Novosibirsk, Rubinovaya str., 4-128

² Institute for Clinical Immunology of SB RAMS

630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14

³ Institute for Biochemistry of SB RAMS

630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

The immunotropic activity of the amphiphilic high-polymer RNA isolated from baker's yeast with oleic acid has been studied. It was discovered that the drug dose-dependently increases the mass of lymphoid organs (thymus and spleen) in mice, as well increases the average number of cells in these organs. The drug induces leukocyte reaction, dose-dependently stimulates the primary (IgM) and secondary (IgG) antibody response. However, it has an immunosuppressive effect on the expression of cell-mediated immune response (dose-dependent suppression of the effector phase of delayed-type hypersensitivity reactions and pronounced suppression phase of sensitization in the high dose).

Key words: yeast, oleic acid, high-polymeric RNA, immunotropic activity of RNA.

Yamkovaya T.V. – candidate of biological sciences, director, e-mail: yam_tv@mail.ru

Kolesnikova O.P. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of experimental immunotherapy, e-mail: iscreen2001@mail.ru

Yamkovoy V.I. – doctor of biological sciences, professor of the chair for chemistry, e-mail: vitalang2@mail.ru

Kozlov V.A. – academician of the RAMS, doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: iscreen2001@mail.ru

Panin L.E. – doctor of medical sciences, professor, academician of the RAMS, director, e-mail: ibch@soramn.ru

НЕЙРОТЕХНОЛОГИИ АУДИО-ВИЗУАЛЬНО-ВИБРОТАКТИЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Любомир Иванович АФТАНАС¹, Сергей Валерьевич ЯРОШ¹,
Жанета Валерьевна НЕФЕДОВА²

¹ ФГБУ НИИ физиологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Исследованы эффекты комплексной 2-недельной терапии трех патогенетических форм артериальной гипертензии (мезенхимальная дисплазия соединительной ткани, $n = 22$; гипоталамический синдром, $n = 25$; эссенциальная гипертензия, $n = 25$) с помощью фармакотерапии (эналаприл, пропранолол) и в комбинации с методом аудио-визуально-вибротактильной стимуляции (10 сеансов по 30 мин в течение 14 дней) у детей и подростков. Эффекты терапии оценивали по данным суточного мониторирования артериального давления. Установлено, что по сравнению с монотерапией фармакологическими препаратами сочетанное использование метода аудио-визуально-вибротактильной стимуляции приводит к более эффективной нормализации суточной динамики артериального давления наряду с двукратным снижением суточной дозы принимаемого антигипертензивного препарата (эналаприл, пропранолол). Авторы отмечают перспективность сочетанного применения нейротехнологий оптимизации нарушенных психосоматических и нейровисцеральных взаимоотношений в комплексной терапии артериальной гипертензии различного генеза.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, комплексная терапия, дети, подростки, дисплазия соединительной ткани, гипоталамический синдром, эссенциальная гипертензия, аудио-визуально-вибротактильная стимуляция, пропранолол, эналаприл.

Артериальная гипертензия (АГ) – болезнь пандемических пропорций, главным симптомом которой является хроническое повышение артериального давления (АД). АГ по-прежнему остается комплексным заболеванием мультифакториального генеза [5, 8, 13]. Не менее важным аспектом является и тенденция к «омолаживанию» заболевания – по сведениям различных авторов, АГ регистрируется с частотой от 2 до 18 % в популяции детей и подростков. АД остается повышенным у 33–42 % подростков с формированием в дальнейшем гипертонической болезни [6].

В большом списке этиологических факторов АГ важное место занимает центральная нервная система. Интегрально АГ характеризуется нарушением центрального контроля сосудистого тонуса, поэтому ее развитие несовместимо с нормальным функционированием мозга, который рассматривается как ранняя мишень и/или инициатор заболевания [1, 10, 18]. Высокая потреб-

ность в понимании нарушений механизмов мозговых функций при АГ у человека обусловлена тем обстоятельством, что состояние мозга является важным фактором в терапии заболевания. С одной стороны, появляются доказательства, что фармакологическая нормализация периферического АД не приводит к обратимости ассоциированных с заболеванием изменений функций, структуры и организации мозговых процессов, а показатели, например, ускоренного старения мозга и объема серого вещества прогрессивно ухудшаются [10]. С другой стороны, АГ по-прежнему остается трудно контролируемым состоянием, и по эпидемиологическим данным показатели контроля АД не превышают 30 % даже в самых успешных странах мира [5, 8, 10]. Можно думать, что как первое, так и второе во многом обусловлены неэффективным «администрированием» мозговых и нейровисцеральных патогенетических механизмов АГ [10]. В данной связи представ-

Афтанас Л.И. – д.м.н., проф., академик РАМН, вице-президент РАМН, зав. лабораторией психофизиологии, директор, e-mail: l.aftanas@physiol.ru

Ярош С.В. – научный сотрудник, e-mail: yarosh@physiol.ru

Нефедова Ж.В. – д.м.н., доцент, зам. декана лечебного факультета, e-mail: nefedova_doc@mail.ru

ляется целесообразным, наряду с фармакотерапией, использовать немедикаментозные способы коррекции АГ, эффекты которых направлены на центральные механизмы регуляции АД.

В настоящем исследовании нами впервые в педиатрической практике в сочетании с гипотензивной терапией использован метод аппаратной аудио-визуально-вибротактильной стимуляции (АВВС), который за счет дополнительного фактора вибротактильного воздействия оказывает выраженные антистрессовые психосоматические эффекты [2-4]. Ритмические световые, звуковые и вибротактильные стимулы, действуя в частотных диапазонах биоэлектрической активности головного мозга, «навязывают» резонансные эффекты в осциллирующих нейрональных ансамблях. Мультимодальная стимуляция с постоянной или изменяющейся частотой прерывистых воздействий вызывает синхронизацию ранее нескоррелированных источников спонтанной ритмики головного мозга, что приводит к переупорядочиванию корковых нейронных сетей и ликвидации обусловленных стрессом очагов «застойного» возбуждения в мозге. Происходят оптимизация когнитивных процессов, снятие психического и соматического напряжения, синхронизация гомеостатических систем, нормализация баланса между ветвями симпатической и парасимпатической нервной системы, улучшение функционального состояния иммунной системы, нормализация биоэлектрической активности мозга и межполушарных взаимоотношений, увеличение продукции бета-эндорфинов. Эффекты релаксации сопровождаются генерацией ярких зрительных образов, положительных эмоций с ощущением их переживания всем телом [10, 11, 12, 14–17]. Установлены оптимизирующие эффекты АВВС на психонейроиммунный статус пациентов невротического круга. У таких пациентов в результате АВВС-коррекции наблюдается снижение тревоги, депрессии и алекситимии, симметризация нейровегетативного баланса в регуляции ритма сердца, снижение повышенной активности задних отделов коры левого полушария в тета- и альфа-диапазонах ЭЭГ, нормализация количества тотальных Т-лимфоцитов (CD3) и натуральных киллеров (CD16) [7].

Целью нашей работы явилась сравнительная оценка влияния монотерапии неселективным бета-адреноблокатором пропранололом (обзиданом) и ингибитором ангиотензинпревращающего фермента эналаприлом (энапом) и комбинированной терапии указанными гипотензивными препаратами в сочетании с АВВС на показатели суточного мониторирования АД у детей и подростков с симптоматической артериальной гипертензией

(гипоталамический синдром, недифференцированный вариант мезенхимальной дисплазии соединительной ткани) и эссенциальной гипертензией в возрасте от 11 до 18 лет.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие дети и подростки с АГ в возрасте 11–18 лет ($n = 72$), средний возраст – $13,6 \pm 1,5$ года. Контрольную группу составили дети и подростки аналогичного возраста, не имеющих повышенного АД, отягощенного наследственного анамнеза по развитию сердечно-сосудистых заболеваний.

Обследованная выборка была разделена на три группы в соответствии с патогенетической формой АГ: 1) АГ на фоне синдрома недифференцированного варианта мезенхимальной дисплазии соединительной ткани (ДСТ, $n = 22$); 2) АГ на фоне гипоталамического синдрома (ГС, $n = 25$); 3) эссенциальная гипертензия (ЭГ, $n = 25$).

По методу гипотензивной терапии каждая клиническая группа была разделена на две подгруппы: а) монотерапия эналаприлом (ГС и ЭГ, прием препарата 2 раза в сутки в дозе 0,1–0,3 мкг/кг или пропранололом (ДСТ, кратность приема – 4 раза в сутки, суточная доза – 1–4 мг/кг); б) сочетание приема гипотензивного препарата и сеансов аппаратной аудио-визуально-вибротактильной стимуляции – АВВС.

Суточное мониторирование АД (СМАД) проводилось у всех пациентов дважды: при поступлении в стационар, до назначения пропранолола, эналаприла и комбинированной терапии указанными препаратами с АВВС и после 14 дней проведения данных методов терапии. СМАД проводилось в условиях кардиоревматологического отделения Детской городской клинической больницы № 1 и с применением аппарата для холтеровского мониторирования АД «Кардиотехника 4000» (Санкт-Петербург, «Инкарт»). С учетом существующих рекомендаций [6] оценивали следующие параметры: средние значения АД (систолического, диастолического) за сутки, день и ночь. Сравнение полученных значений у детей и подростков с АГ проводилось в соответствии с существующими нормативами (центильные таблицы в зависимости от пола и роста пациента); показатель «нагрузки давлением» (индекс времени гипертензии) за сутки, день и ночь позволял оценить время повышения АД в течение суток, этот показатель рассчитывался по проценту измерений, превышающих нормальные показатели АД за 24 ч или отдельно для каждого времени суток (у здоровых детей и подростков он не должен превышать 25 %); вариабельность дневного,

ночного систолического и диастолического АД, значения суточного индекса (степень ночного снижения АД) отражали разность между средними дневными и ночными значениями АД в процентах от дневной средней величины, при этом оптимальной являлась степень ночного снижения АД от 10 до 20 % по сравнению с дневными показателями.

Для АВВС использован основанный на запатентованной технологии комплекс «Sensorium» [2–4]. В процессе каждого сеанса длительностью 30 мин больной располагался на специализированном кресле в горизонтальном положении, зрительная и слуховая стимуляция осуществлялась с помощью специализированных фотодиодных очков и наушников, вибротактильная – с помощью вмонтированных в кресло сабвуферов. Перед началом каждого сеанса АВВС создавалось психотерапевтическое пространство. Программа АВВС индуцировала глубокую психическую релаксацию с длительной прогрессивной мышечной релаксацией и выходом в состояние активного бодрствования. АВВС проводилась в течение двух недель по следующей схеме: 5 дней стимуляции, 2 выходных дня (перерыв), 5 дней стимуляции.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых, с одобрения локального этического комитета и в соответствии с

этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.). Полученные данные анализировали с помощью методов параметрической (*t*-тест Стьюдента) и непараметрической (тесты Вилкоксона и Мана–Уитни) статистики с использованием лицензионного статистического пакета Statistica for Windows 5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Независимо от генеза АГ все обследованные имели исходные достоверно повышенные изучаемые показатели СМАД при сравнении со значениями аналогичных показателей контрольной группы (табл. 1, 2, 3).

Как видно из табл. 1, на 14-й день монотерапии пропранололом у больных с ДСТ сохранялись достоверные отклонения от нормы средних значений ДАД и варибельности ДАД в ночные часы, причем значения индекса времени САД и ДАД в дневные часы и индекса времени САД в ночные часы были ниже исходных показателей, в то время как в результате комбинированной терапии (пропранолол+АВВС) все изучаемые показатели нормализовались.

В табл. 2 представлены результаты СМАД на 14-й день применения эналаприла ($n = 15$) и комбинированной (эналаприл + АВВС) терапии ($n = 10$) у пациентов с ГС. Согласно этой табли-

Таблица 1

Динамика показателей СМАД в ходе применения пропранолола ($n = 12$) и пропранолола + АВВС ($n = 10$) у больных с ДСТ ($M \pm m$)

Показатель	Группа контроля ($n = 12$)	Пропранолол		Пропранолол + АВВС	
		До лечения	14 день лечения	До лечения	14 день лечения
Ср. САД сутки, мм рт. ст.	121,4 ± 4,5	132,1 ± 7,7*	120,5 ± 5,7#	129,8 ± 2,8*	122 ± 4,1#
Ср. ДАД сутки, мм рт. ст.	71,7 ± 2,1	80,3 ± 3,5*	72,3 ± 2,8#	80 ± 2,8*	72,6 ± 4,2#
Ср. САД день, мм рт. ст.	124,6 ± 2,1	138 ± 5,7*	126,6 ± 7,1#	137,1 ± 4,9*	127,6 ± 2,7#
Ср. ДАД день, мм рт. ст.	74,6 ± 1,9	89,2 ± 3,5*	79,8 ± 4,9#	88,0 ± 4,9*	76,9 ± 7,1#
Ср. САД ночь, мм рт. ст.	110,7 ± 5,4	120,8 ± 7,8*	113,3 ± 5,7#	118,9 ± 4,9*	11,9 ± 4,3#
Ср. ДАД ночь, мм рт. ст.	61,6 ± 2,0	71,9 ± 5,7*	66,3 ± 4,9*	71,8 ± 4,2*	60,2 ± 2,7#
ИВ САД день, %	20,6 ± 2,6	42,3 ± 9,2*	37,7 ± 4,2*#	42,1 ± 17,7*	19,5 ± 2,5#
ИВ ДАД день, %	21,0 ± 3,0	41,1 ± 7,1*	34,5 ± 2,8*#	38,1 ± 16,9*	23,4 ± 3,2#
ИВ САД ночь, %	19,6 ± 4,6	35,9 ± 4,9*	28,8 ± 2,9*#	33,7 ± 9,9*	20,1 ± 7,8#
ИВ ДАД ночь, %	20,7 ± 2,7	32,3 ± 3,5*	20,4 ± 4,9#	30,5 ± 8,5*	22,9 ± 4,9#
Вар. САД день, мм рт. ст.	11,8 ± 0,7	16,1 ± 1,4*	11,5 ± 2,8#	15,9 ± 1,4*	10,6 ± 2,0#
Вар. ДАД день, мм рт. ст.	11,6 ± 1,3	15,8 ± 1,4*	11,7 ± 2,8#	15,5 ± 1,4*	10 ± 0,9#
Вар. САД ночь, мм рт. ст.	10,9 ± 0,9	15,3 ± 2,1*	10,3 ± 2,8#	15,1 ± 1,4*	10,9 ± 1,5#
Вар. ДАД ночь, мм рт. ст.	9,6 ± 0,8	13,7 ± 1,4*	9,5 ± 1,4*	13,6 ± 1,4*	8,2 ± 1,1#

Примечание. Здесь и ниже: Ср. САД – средние значения систолического АД; Ср. ДАД – средние значения диастолического значения АД; ИВ – индекс времени гипертензии; Вар. – варибельность АД; * – достоверность различия при сравнении с контрольной группой по критерию Стьюдента ($p < 0,001$); # – достоверность различия при сравнении показателей до лечения и после лечения по критерию Стьюдента ($p < 0,001$).

Таблица 2

Динамика показателей СМАД в ходе применения эналаприла ($n = 15$) и эналаприла + АВВС ($n = 10$) у больных с ГС ($M \pm m$)

Показатель	Группа контроля ($n = 12$)	Эналаприл		Эналаприл + АВВС	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Ср. САД сутки, мм рт. ст.	121,4 ± 4,5	131,3 ± 4,8*	122,1 ± 5,7#	131,6 ± 9,2*	122,0 ± 4,3#
Ср. ДАД сутки, мм рт. ст.	71,7 ± 2,1	79,7 ± 8,9*	72,6 ± 8,5#	78,1 ± 18,4*	73,4 ± 8,5#
Ср. САД день, мм рт. ст.	124,6 ± 2,1	138,8 ± 6,3*	128,9 ± 7,8#	139,8 ± 7,3*	128,8 ± 4,2#
Ср. ДАД день, мм рт. ст.	74,6 ± 1,9	89,1 ± 2,8*	78,3 ± 2,4#	86,3 ± 7,1*	78,6 ± 3,2#
Ср. САД ночь, мм рт. ст.	110,7 ± 5,4	120,7 ± 9,2*	112,0 ± 7,1#	121,7 ± 8,4*	114,4 ± 7,1#
Ср. ДАД ночь, мм рт. ст.	61,6 ± 2,0	72,1 ± 2,7*	67,2 ± 3,4*	71,4 ± 14,3*	63,6 ± 2,3#
ИВ САД день, %	20,6 ± 2,6	58,0 ± 21,9*	39,8 ± 9,2*,#	57,1 ± 16,9*	23,7 ± 8,7#
ИВ ДАД день, %	21,0 ± 3,0	53,3 ± 12,6*	36,4 ± 10,1*,#	53,1 ± 10,6*	21,1 ± 7,8#
ИВ САД ночь, %	19,6 ± 4,6	45,4 ± 8,4*	32,6 ± 7,1*,#	45,6 ± 8,4*	23,1 ± 3,9#
ИВ ДАД ночь, %	20,7 ± 2,7	42,3 ± 21,2*	29,4 ± 6,7*#	44 ± 16,9*	21,6 ± 2,3#
Вар. САД день, мм рт. ст.	11,8 ± 0,7	16,5 ± 1,5*	12,0 ± 2,1*#	16,4 ± 2,6*	12,8 ± 1,5#
Вар. ДАД день, мм рт. ст.	11,6 ± 1,3	15,9 ± 2,2*	14,0 ± 1,9*	15,8 ± 1,6*	12,1 ± 0,9#
Вар. САД ночь, мм рт. ст.	10,9 ± 0,9	15,7 ± 1,3*	15,2 ± 1,3*	14,7 ± 3,6*	12,0 ± 1,3#
Вар. ДАД ночь, мм рт. ст.	9,6 ± 0,8	14,4 ± 2,1*	13,5 ± 1,9*	13,9 ± 1,2*	10,4 ± 0,9#

Таблица 3

Динамика показателей СМАД в ходе применения эналаприла ($n=15$) и эналаприла + АВВС ($n = 10$) у больных с ЭГ ($M \pm m$)

Показатель	Группа контроля ($n = 12$)	Эналаприл		Эналаприл + АВВС	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Ср. САД сутки, мм рт. ст.	121,4 ± 4,5	133 ± 5,7*	121,9 ± 7,1#	132,4 ± 5,1*	122,9 ± 4,1#
Ср. ДАД сутки, мм рт. ст.	71,7 ± 2,1	81,9 ± 4,2*	72,0 ± 2,9#	81,6 ± 3,6*	72,9 ± 5,7#
Ср. САД день, мм рт. ст.	124,6 ± 2,1	142,8 ± 7,8*	127,0 ± 8,5#	141,2 ± 8,6*	126,6 ± 5,5#
Ср. ДАД день, мм рт. ст.	74,6 ± 1,9	90,5 ± 4,9*	78,6 ± 10,6#	88,9 ± 5,6*	74,9 ± 2,1#
Ср. САД ночь, мм рт. ст.	110,7 ± 5,4	123,3 ± 1,1*	113,5 ± 7,1#	121,3 ± 5,7*	115,0 ± 9,9#
Ср. ДАД ночь, мм рт. ст.	61,6 ± 2,0	75,1 ± 12,7*	68,9 ± 8,4*	72,8 ± 4,2*	61,0 ± 2,1#
ИВ САД день, %	20,6 ± 2,6	62,4 ± 9,9*	40,8 ± 11,3*,#	64,8 ± 12,0*	22,7 ± 1,2#
ИВ ДАД день, %	21,0 ± 3,0	56,3 ± 8,6*	36,8 ± 7,1*,#	57,8 ± 11,2*	21,0 ± 6,6#
ИВ САД ночь, %	19,6 ± 4,6	48,7 ± 10,6*	32,8 ± 7,8*,#	52,4 ± 15,6*	20,1 ± 2,9#
ИВ ДАД ночь, %	20,7 ± 2,7	46,8 ± 11,3*	30,5 ± 7,5*,#	49,6 ± 18,4*	22,6 ± 3,3#
Вар. САД день, мм рт. ст.	11,8 ± 0,7	17,7 ± 1,4*	12,0 ± 0,5#	17,2 ± 1,5*	11,7 ± 3,3#
Вар. ДАД день, мм рт. ст.	11,6 ± 1,3	16,4 ± 2,2*	11,9 ± 1,7#	16,1 ± 1,4*	13,0 ± 0,9#
Вар. САД ночь, мм рт. ст.	10,9 ± 0,9	15,7 ± 2,1*	14,6 ± 4,3*	15,6 ± 1,4*	10,8 ± 1,3#
Вар. ДАД ночь, мм рт. ст.	9,6 ± 0,8	14,7 ± 2,8*	10,5 ± 1,8#	14,8 ± 2,2*	10,0 ± 1,2#

це, использование монотерапии эналаприлом привело к снижению по сравнению с исходными значениями индекса времени гипертензии, САД и ДАД в дневные и ночные часы, хотя величины указанных показателей по-прежнему значительно отличались от контроля. К норме не возвращались следующие показатели: среднее ДАД ночью, вариабельность ДАД в дневные часы и вариабельность САД и ДАД в ночные часы, значения

которых были достоверно выше показателей контрольной группы. В случае комбинированной терапии происходила нормализация всех исследуемых показателей (см. табл. 2).

В табл. 3 представлены данные СМАД, полученные в результате применения эналаприла и комбинированной (эналаприл + АВВС) терапии у больных с ЭГ. Под действием эналаприла на 14-й день терапии происходила нормализация боль-

шинства изучаемых показателей, за исключением ночного ДАД и вариабельности САД. Также можно отметить достоверное снижение индексов времени гипертензии – САД и ДАД в дневные и ночные часы, хотя значения указанных показателей по-прежнему отличались от контроля. Величины индексов времени независимо от времени суток свидетельствовали о сохраняющемся лабильном течении АГ у пациентов с ЭГ, несмотря на применение гипотензивного препарата. При использовании комбинированной терапии все исследуемые показатели возвращались к уровню значений контрольной группы (см. табл. 3).

Необходимо отметить еще одну важную тенденцию – у пациентов различных групп с обнаруженными суточными феноменами недостаточного снижения АД («non-dippers») до терапии нормализация суточного профиля с большей вероятностью происходила при комбинированной терапии (фармакологический агент + АВВС). Это требует статистических доказательств в исследовании на большей выборке пациентов.

При сравнении дозировок назначенных препаратов на момент поступления и к 14 дню терапии в стационаре выявлено значительное снижение суточной дозы гипотензивного препарата в подгруппах больных с комбинированной терапией (гипотензивный препарат + АВВС): пропранолола – в 2 раза в у пациентов с ДСТ, эналаприла – в 2,3 раза у пациентов с ГС, эналаприла – в 2 раза у пациентов с ЭГ (см. рисунок).

В выполненном исследовании впервые у детей и подростков с АГ различного генеза для коррекции повышенного АД был применен метод аппаратной аудио-визуально-вибротактильной стимуляции в комбинации с традиционными гипотензивными препаратами (эналаприл и пропранолол). В ходе исследования установлено, что сочетанное применение данного метода способствовало более эффективному использованию медикаментозных препаратов, что подтверждается результатами сравнения показателей СМАД при поступлении и на 14-й день терапии. Детальный анализ индикаторов СМАД у детей и подростков различных клиничко-патогенетических групп свидетельствует, что в отличие от монотерапии гипотензивными средствами комбинированная терапия с использованием аппаратной нейротехнологии АВВС приводит к нормализации всех изучаемых показателей СМАД и суточного профиля АД. Кроме того, комбинированная терапия позволила снизить суточные дозы гипотензивных препаратов в два раза и более. Таким образом, получены убедительные доказательства эффективного использования аппаратных нейротехнологий, основанных на принципе «навязывания» («entrainment») [3, 4, 9] ритмике мозга резонансных эффектов с помощью внешних ритмических мультимодальных (аудио-, видео- и вибротактильных) воздействий для нормализации АД у детей и подростков с АГ различного генеза.

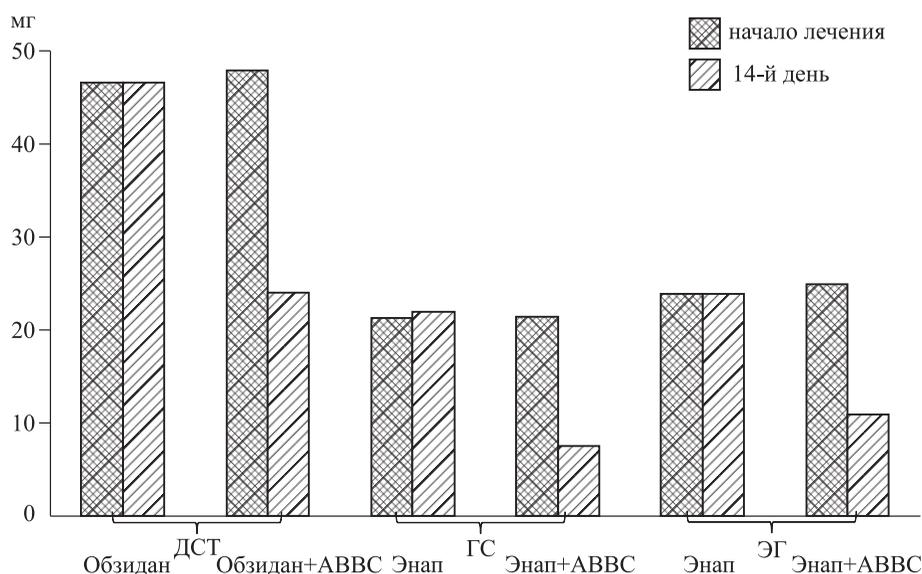


Рис. Средние значения доз обзидана и энапа в условиях монотерапии и сочетанного использования препарата с аудио-визуально-вибротактильной стимуляцией в подгруппах больных детей и подростков с тремя различными патогенетическими формами артериальной гипертензии в начале и на 14-й день терапии

ВЫВОДЫ

1. На трех клинических формах артериальной гипертензии у детей и подростков (мезенхимальная дисплазия соединительной ткани, гипоталамический синдром, эссенциальная гипертензия) установлено, что по сравнению с монотерапией фармакологическими препаратами (эналаприл, пропранолол) сочетанное использование метода аудио-визуально-вибротактильной стимуляции позволяет более эффективно нормализовать суточную динамику артериального давления, обеспечивая при этом двукратное снижение суточной дозы принимаемого антигипертензивного препарата.

2. Авторы отмечают перспективность сочетанного применения нейротехнологий оптимизации нарушенных психосоматических и нейровисцеральных взаимоотношений в комплексной терапии артериальной гипертензии различного генеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А., Нотова С.Н. Стресс, физиологические и экологические аспекты адаптации, пути коррекции. Оренбург: ОГУ, 2009. 274 с.

2. Пат. 2314132 РФ. Способ немедикаментозной коррекции психоэмоционального, нейрогормонального и иммунного статусов человека / Л.И. Афтанас, В.П. Байдужа, И.В. Гришук и др.; опубл. 10.01.2012.

3. Пат. 2466677 РФ. Способ немедикаментозной коррекции и/или оптимизации эмоционального, нейровегетативного и нейрокогнитивного статусов человека / Л.И. Афтанас, А.В. Новопашина; опубл. 20.11.2012.

4. Афтанас Л.И., Бохан Н.А., Мандель А.И. и др. Эффективность аудио-визуально-вибротактильной стимуляции для коррекции психовегетативных нарушений при женском алкоголизме на этапе формирования ремиссии // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2012. 69. (4). 47–52.

5. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В. Артериальная гипертензия: ключи к диагностике и лечению. М., 2007. 432 с.

6. Леонтьева И.В., Агапитов Л.И. Метод суточного мониторинга артериального давления в диагностике артериальной гипертензии у детей // Рос. вестн. перинатол. педиатрии. 2000. (2). 32–38.

7. Руководство по реабилитации лиц, подвергшихся стрессорным нагрузкам / Ред. В.И. Покровский. М.: Медицина, 2004. 400 с.

8. Шляхто Е.В. Патогенез гипертонической болезни (эссенциальной гипертензии) // Руководство по артериальной гипертензии / Ред. Е.И. Чазов, И.Е. Чазова. М.: Медиа Медика, 2005. 41–60.

9. Huang T., Charyton Ch. A comprehensive review of the psychological effects of brainwave entrainment // Altern. Ther. Health Med. 2008. 14. (5). 38–49.

10. Jennings J.R., Heim A.F. From brain to behavior: Hypertension's modulation of cognition and affect // Int. J. Hypertens. 2012. 2012. ID 701385.

11. Kumano H., Horie H., Kuboki T. et al. EEG-driven photic stimulation effect on plasma cortisol and beta-endorphin // Appl. Psychophysiol. Biofeedback. 1997. 22. (3). 193–208.

12. Le Scouarnec R.P., Poirier R.M., Owens J.E. et al. Use of binaural beat tapes for treatment of anxiety: a pilot study of tape preference and outcomes // Altern. Ther. Health Med. 2001. 7. (1). 58–63.

13. Oparil S., Zaman A., Calhoun D. Pathogenesis of hypertension // Ann. Intern. Med. 2003. 139. (9). 761–776.

14. Ossebaard H.C. Stress reduction by technology? An experimental study into the effects of brainmachines on burnout and state anxiety // Appl. Psychophysiol. Biofeedback. 2000. 25. (2). 93–101.

15. Salansky N., Fedotchev A., Bondar A. Responses of the nervous system to low frequency stimulation and EEG rhythms: clinical implications // Neurosci. Biobehav. Rev. 1998. 22. 395–409.

16. Siever D., Berg K. Helping the heart with audio-visual entrainment // Appl. Psychophysiol. Biofeedback. 2002. 27. (4). 313.

17. Teplan M., Krakovská A., Stolc S. Direct effects of audio-visual stimulation on EEG // Comput. Methods Programs Biomed. 2011. 102. (1). 17–24.

18. Thayer J.F., Ahs F., Fredrikson M. et al. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health // Neurosci. Biobehav. Rev. 2012. 36. (2). 747–756.

NEUROTECHNOLOGIES OF AUDIO-VISUAL-VIBROTACTILE STIMULATION IN THERAPY OF ARTERIAL HYPERTENSION IN CHILDREN AND TEENAGERS

**Lyubomir Ivanovich AFTANAS¹, Sergey Valeryevich YAROSH¹,
Janeta Valeryevna NEFEDOVA²**

¹ *Research Institute of Physiology SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

² *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

Therapeutic effects of the complex 2-weeks therapy of the three pathogenetically different forms of the arterial hypertension (AH) (mesenchymal dysplasia of connective tissue, $n = 22$; hypothalamic syndrome, $n = 25$; essential hypertension, $n = 25$) using pharmacotherapy (enalapril, propranolol) alone or combined with the audio-visual-vibrotactile stimulation (AVVS, 10 sessions of 30 min each during 14 days) in children and teenagers were studied. 24-hour arterial blood pressure measurements were made before and at the 14th day of the treatment. In comparison with the monotherapy by pharmacological preparations, the combined treatment (AVVS + pharmacotherapy) led to more efficient correction of abnormal day and night arterial blood pressure dynamics as well as to a two-fold decrease of intake doses of enalapril or propranolol. It has been suggested that AVVS combined with pharmacotherapy, make the overall treatment of arterial hypertension more efficient by improving mind-body interactions in hypertensive pathological states.

Key words: arterial hypertension, combined therapy, children, teenagers, mesenchymal dysplasia of connective tissue, hypothalamic syndrome, essential hypertension, audio-visual-vibrotactile stimulation, propranolol, enalapril.

*Aftanas L.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAMS, vice president RAMS, director,
e-mail: l.aftanas@physiol.ru*

Yarosh S.V. – researcher, e-mail: yarosh@physiol.ru

*Nefedova J.V. – doctor of medical sciences, assistant professor, deputy-dean of faculty of general medicine,
e-mail: nefedova_doc@mail.ru*

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЕГОЧНО-СЕРДЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

Татьяна Петровна КАЛАЧЕВА, Галина Михайловна ЧЕРНЯВСКАЯ,
Эльвира Ивановна БЕЛОБОРОДОВА

ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Цель исследования – комплексно изучить с помощью доплер-эхокардиографии структурно-функциональные показатели легочно-сердечной гемодинамики, а также оценить наличие и степень выраженности легочной артериальной гипертензии у больных циррозом печени различной степени тяжести и определить ее влияние на течение и прогноз основного заболевания. Установлено, что изменение структурно-функциональных показателей сердца при циррозе печени зависит от стадии компенсации портальной гипертензии и сопровождается перестройкой параметров внутрисердечной гемодинамики. Легочная артериальная гипертензия была выявлена у 11,1 % больных циррозом печени, носила умеренный характер и чаще встречалась при терминальной стадии заболевания (класс С по Чайлду – Пью), чем при начальной стадии цирроза (соответственно 21,4 и 6,3 %, $p < 0,05$). Таким образом, результаты двухлетнего наблюдения показали, что наличие легочной артериальной гипертензии клинически утяжеляет течение цирроза печени, коррелирует с уменьшением продолжительности жизни больных циррозом печени и является фактором неблагоприятного клинического прогноза для данной категории пациентов.

Ключевые слова: цирроз печени, портальная гипертензия, легочная артериальная гипертензия, легочно-сердечная гемодинамика.

Взаимосвязь между легкими и печенью известна уже более 100 лет. Печень играет главную роль в гомеостазе, поэтому ее поражение неизбежно сопровождается негативным воздействием на многие органы, включая легкие. Легочные осложнения могут развиваться в результате заболеваний печени любой этиологии и представляют собой широкую неоднородную группу состояний с различными механизмами патогенеза [5, 11, 12, 22, 24].

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) является редким, но признанным осложнением хронических заболеваний печени, среди которых наиболее частой причиной возникновения выступает цирроз печени (ЦП). За 10 лет от цирроза погибает 34–66 % страдающих им пациентов. По прогнозам ВОЗ, в ближайшие 10–20 лет число больных ЦП может увеличиться на 60 %. Например, в США ЦП занимает десятое место в качестве основной причины смерти мужского населения и двенадцатое – как главная причина

смерти женщин. В литературе сочетание ЛАГ и портальной гипертензии (ПГ) описывается под названием «портопальмональной гипертензии». Патогенетические механизмы ЛАГ у больных ЦП не вполне ясны, однако считается, что основным определяющим фактором риска для развивающейся ЛАГ является ПГ [2, 5, 6, 21, 23].

Наиболее точный метод («золотой стандарт») диагностики ЛАГ – инвазивное измерение давления в легочных сосудах с помощью их катетеризации. Тем не менее для постановки диагноза «легочная гипертензия», согласно современным рекомендациям консенсуса экспертов АСС/АНА (2009), ключевыми являются только те методы обследования, которые позволяют определить давление в легочной артерии (ЛА) [18, 25]. Это можно сделать с помощью такого неинвазивного метода, как доплер-эхокардиография [1, 4, 7, 18–20, 22, 24]. Эхокардиографический скрининг для определения ЛАГ у пациентов с заболеваниями печени применим у симптоматических больных

Калачева Т.П. – к.м.н., ассистент кафедры терапии факультета повышения квалификации и профессиональной подготовки специалистов, e-mail: talyana-kalachvova@yandex.ru

Чернявская Г.М. – д.м.н., проф. кафедры терапии факультета повышения квалификации и профессиональной подготовки специалистов, e-mail: chernyavskayag@mail.ru

Белобородова Э.И. – д.м.н., проф. кафедры терапии факультета повышения квалификации и профессиональной подготовки специалистов, e-mail: belobekaterina@yandex.ru

и/или кандидатов для трансплантации печени [6, 18, 19, 22].

К сожалению, до настоящего времени достоверные сведения о скорости прогрессирования большинства форм легочной гипертензии отсутствуют. Это связано с тем, что во многих случаях заболевание выявляется на поздней стадии [8, 9, 15]. На сегодняшний день остается крайне важным с прогностической точки зрения вопрос, оказывает ли влияние тяжесть поражения паренхимы печени на вероятность развития ЛАГ. В последнее время для уточнения прогноза при ПГ предлагается измерение гемодинамических показателей. В ряде работ показано, что предикторами плохого прогноза течения ЦП является увеличение давления в системе портальной вены более 15 мм рт. ст. и среднего давления в ЛА более 25 мм рт. ст. в покое и более 30 мм рт. ст. при физической нагрузке [1–3, 16, 27].

Цель работы – комплексно изучить с помощью доплер-эхокардиографии структурно-функциональные показатели легочно-сердечной гемодинамики, а также оценить наличие и степень выраженности ЛАГ у больных ЦП различной степени тяжести и определить ее влияние на течение и прогноз основного заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа проводилась в 2006–2009 гг. на базе отделения гастроэнтерологии Томской областной клинической больницы на кафедре терапии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России. Исследование выполнено в рамках бюджетной тематики. Обследован 81 больной с ЦП: 37 (45,7 %) мужчин и 44 (54,3 %) женщины. В исследование были включены пациенты в возрасте от 26 до 71 года (средний возраст обследованных составил $50,0 \pm 10,4$ года).

У всех пациентов, вошедших в исследование, выявлено поражение печени, диагностированное на стадии ЦП. Комплекс исследований, необходимый для достижения поставленной цели исследования, включал анализ клинико-эпидемиологических, анамнестических данных, патоморфологическое изучение биоптатов печени (при выполнении биопсии печени по показаниям), а также выполнение инструментальных методов. Диагноз ЦП подтвержден морфологически (лапароскопия с прицельной биопсией) у 12 больных, у остальных – выставлен на основании наличия признаков диффузного повреждения печени, наличия синдрома печеночно-клеточной

недостаточности, синдрома ПГ (варикозное расширение вен пищевода и желудка, асцит).

Все пациенты в зависимости от этиологии заболевания были разделены на три основные группы. Тяжесть течения заболевания у больных ЦП оценивалась в соответствии с классификацией по Чайлду – Пью. Подавляющее большинство больных ЦП (45,7 %) отнесены к классу В, 34,6 % составили класс С по Чайлду – Пью, и лишь 19,8 % соответствовали классу А. Группы пациентов были сопоставимы по полу и возрасту. По этиологии ЦП выделено 3 группы: к 1-й группе отнесены пациенты, злоупотребляющие этанолом, – 22 человека (27,2 % от числа всех обследованных больных); у них алкоголь явился «изолированным» этиологическим фактором поражения печени. Изолированное вирусное поражение печени выявлено у 20 человек (2-я группа), что составило почти четверть (24,7 %) больных. На фоне действия токсического агента и вируса на печень выделена 3-я группа пациентов – 39 человек (48 %).

Из исследования исключены пациенты с противовирусным лечением в анамнезе, пациенты с другими заболеваниями печени (болезнь Вильсона – Коновалова и Бадда – Киари, гемохроматоз, первичный амилоидоз печени, аномалии сосудов портального тракта, билиарный и кардиальный ЦП), а также с другой тяжелой сопутствующей патологией, которая могла бы оказать влияние на тяжесть поражения печени. Исключались больные, злоупотребляющие лекарственными препаратами, страдающие наркоманией, пациенты с легочной патологией (бронхоэктатическая болезнь, бронхиальная астма, туберкулез легких, хроническая обструктивная болезнь легких, интерстициальные болезни легких), с сердечной патологией (пороки сердца, патология клапанов сердца, нестабильная стенокардия, стенокардия напряжения III, IV функциональных классов (ФК), атриовентрикулярная блокада II–III степени, артериальная гипертензия III стадии), с онкопатологией, сахарным диабетом 1 и 2 типов и эндокринопатиями, патологией почек с почечной недостаточностью, больные с острыми психозами и психическими расстройствами; критериями исключения также были невозможность или нежелание дать информированное согласие на участие в исследовании или на выполнение требований к исследованию.

Из всех сопутствующих заболеваний у исследуемого контингента больных наиболее часто встречались заболевания сердечно-сосудистой системы. В 6,1 % случаев у больных ЦП была выявлена ИБС начальных ФК (стенокардия напряжения I и II ФК), а также гипертоническая болезнь I и II стадии. Учитывая возможное формирование

хронической обструктивной болезни легких у пациентов с длительным стажем курения, нами проводилась оценка вентиляционных показателей у курящих и некурящих. Сравнительный анализ в этих группах показал отсутствие каких-либо отклонений вентиляционных параметров от нормы в сравнении с должными величинами. Контрольную группу составили 20 практически здоровых пациентов (в исследовании участвовали пациенты, имеющие трикуспидальную регургитацию по данным эхокардиографии), сопоставимых по полу и возрасту.

Эхокардиография проводилась всем больным по стандартной методике Американской ассоциации эхокардиографии на аппарате Logiq-7 («General Electric», США). Оценивали общую сократимость миокарда, состояние клапанного аппарата, измеряли размеры стенок и полостей желудочков и предсердий по стандартной методике в двухмерном и одномерном режимах, а также в режимах импульсной и непрерывно-волновой доплер-эхокардиографии. По общепринятой методике из парастернального и апикального доступов в 2-, 4- и 5-камерном сечении по длинной и короткой оси камер сердца определялись следующие параметры левых отделов сердца: размер просвета корня аорты на уровне клапана (Ao, мм), диаметр полости левого предсердия (ЛП, мм), конечно-систолический размер полости левого желудочка (ЛЖ: КСР, мм), конечно-диастолический размер полости левого желудочка (ЛЖ: КДР, мм), конечный систолический объем левого желудочка (КСО, мл), конечный диастолический объем левого желудочка (КДО, мл), толщина межжелудочковой перегородки ($T_{\text{мжп}}$, мм), толщина стенки левого желудочка ($T_{\text{з.ст}}$, мм), а также правых отделов сердца: диастолический размер полости правого желудочка (ПЖ, мм), систолическое давление правого желудочка (СДПЖ, мм рт. ст.). Рассчитывались ударный объем (УО, мл), фракция выброса (ФВ, %), фракция укорочения (ФУ, %) ЛЖ. Количественную оценку степени легочной гипертензии осуществляли путем измерения диаметра основного ствола ЛА, скорости кровотока в ЛА (V в ЛА, см/с) и максимального систолического давления в ЛА (max. sist. P в ЛА, мм рт. ст.) [18, 22, 26]. Расчет max. sist. P в ЛА проводили по определению значения максимальной скорости трикуспидального систолического потока регургитации, а далее по уравнению Бернулли определяли систолический градиент давления между ПЖ и правым предсердием (ПП) ($dP = 4V^2$). К полученным значениям желудочково-предсердного градиента давления затем прибавляли величину давления в ПП (ДПП), которую рассчитывали по параметрам нижней полой вены (в норме она

составляет 5 мм рт. ст., но при дилатированной нижней полой вене, которая коллабирует на вдохе менее 50 %, равняется 10 мм рт. ст.). Полученный результат отражал max. sist. P в ЛА. При отсутствии обструкции выходного отдела ПЖ sist. P в ЛА эквивалентно СДПЖ.

На практике max. sist. P в ЛА считали нормальным, если в покое оно не превышало 25 мм рт. ст. При возрастании его до 35 мм рт. ст. легочное артериальное давление считали минимально увеличенным. Давление 36–45 мм рт. ст. свидетельствовало о небольшой степени легочной гипертензии. Умеренная ЛАГ характеризовалась повышением уровня давления до 46–55 мм рт. ст., а выраженная – более 55 мм рт. ст. [1]. Функциональные сосудистые пробы с доплерографической оценкой степени вазодилатации плечевой артерии проводили по методике Целермайера на ультразвуковой диагностической системе «ACUSON 128 XP/10» (США). Функцию эндотелия изучали на основе пробы с реактивной гиперемией и нитроглицерином. Определяли диаметр плечевой артерии и толщину комплекса «интима – медиа» (ТИМ). За норму принимали ТИМ < 1 мм. Варьирование величины ТИМ в пределах 1,0–1,1 мм включительно оценивали как утолщение интимы, и критерием бляшки было превышение значения ТИМ 1,1 мм. У всех обследованных показатель ТИМ находился в пределах 0,6–0,7 мм, что соответствует обычным значениям для данной возрастной группы. Кроме того, следует отметить, что ни у одного из обследованных не были выявлены утолщение ТИМ общей сонной артерии и атеросклеротические бляшки в ее просвете. Таким образом, у всех больных ЦП ультразвуковых признаков генерализованного атеросклероза обнаружено не было.

При проведении статистической обработки фактического материала проверку групп на нормальность распределения признаков выполняли с помощью теста Колмогорова – Смирнова, а также графического представления выборок на фоне кривой Гаусса. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего (Q_1) и верхнего (Q_3) квартилей. Статистическую значимость при сравнении двух независимых количественных переменных при распределении признака, отличающегося от нормального, оценивали, используя U -тест Манна – Уитни. Для определения взаимосвязи между переменными при несоответствии нормальному закону распределения или балльных оценках вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Множественные сравнения проводили с применением многофакторного дисперсионного анализа (для независимых переменных) [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что ЦП – системное заболевание организма с наличием гипердинамической внутриорганной циркуляции как проявления ПГ, которая приводит к полиорганным нарушениям [6, 9, 13, 19]. Печеночная гемодинамика чрезвычайно чувствительна к любому воздействию на организм, а ее первичные нарушения могут влиять на функцию сердца, являясь причиной формирования ЛАГ [4, 13, 21, 26].

Как показало наше исследование, у больных ЦП происходят изменения структурно-функциональных показателей сердца, и динамика некоторых из них зависит от стадии компенсации заболевания (табл. 1).

Из представленных данных видно, что размер просвета корня аорты на уровне клапана не превышал нормальные значения и при сравнении не различался у пациентов, отнесенных к разным классам ЦП, а также не отличался от величины показателя лиц контрольной группы. Диаметр полости ЛП у больных классов А и В имел нормальные значения в отличие от пациентов класса С, у которых перегрузка объемом малого круга кровообращения привела к дилатации ЛП. Дилатация ЛП нарастала с утяжелением ЦП ($r = 0,14$; $p = 0,01$) от класса А к классу С.

Таким образом, проведенный эхокардиографический анализ параметров левых отделов сердца показал, что уже на начальных стадиях ЦП происходит дилатация ЛП по сравнению с контрольной группой (в целом общее количество больных ЦП с дилатацией ЛП составило 35,8 %). Так, если у большинства больных ЦП класса А (87,5 %) размеры ЛП не превышали нормальных

значений, то в классе В количество больных с дилатированным ЛП увеличилось до 37,8 %, и почти у половины (46,4 %) пациентов класса С этот показатель был выше установленной нормы (более 41 мм) (см. табл. 1). Далее на стадии С происходит увеличение показателей ЛЖ: КСР и ЛЖ: КДР, а также КСО и КДО левого желудочка. Возрастание ЛЖ: КДР отмечено только у пациентов в 3-й группе, что указывает на дилатацию полости ЛЖ, тогда как значения данного параметра в 1-й и 2-й группах соответствовали нормальным. Необходимо отметить, что при анализе величины данного показателя в зависимости от класса ЦП статистически значимые отличия от величины параметра группы контроля были выявлены только для класса С ($p < 0,01$). ЛЖ: КСР у пациентов всех классов ЦП не превышал нормативные показатели, однако статистически значимо различался у больных классов А и С ($p = 0,02$), а также у пациентов класса С и лиц контрольной группы ($p < 0,01$). В целом увеличение ЛЖ: КСР было выявлено только у одной пациентки в классе С.

Параметры, отражающие объемы левого желудочка (КДО и КСО), не превышали нормальные значения, в то же время были существенно увеличены у больных класса С по сравнению с лицами группы контроля ($p < 0,01$), а КДО – также и у пациентов класса В ($p < 0,05$). В целом среди всех больных ЦП увеличение КДО выявлено у 22,2 % пациентов, КСО – лишь в 7,4 % случаев. Что касается морфометрических параметров левых отделов сердца, $T_{\text{мжп}}$ и $T_{\text{з.ст}}$ то они не отличались ни от нормативных показателей, ни при межгрупповом сравнении. ФВ не только не уменьшалась при утяжелении ЦП, но во всех трех классах отмечена тенденция к ее повышению в сравнении с

Таблица 1

Структурно-функциональные показатели левого отдела сердца у больных циррозом печени, Ме (Q_1 ; Q_3)

Параметр	Больные ЦП			Группа контроля ($n = 20$)
	Класс А ($n = 16$)	Класс В ($n = 37$)	Класс С ($n = 28$)	
Аорта, мм	34 (32; 35)	33 (31; 34)	32 (30; 35)	31 (28; 34)
ЛП, мм	37** (36; 39)	38** (34; 40)	43** (35; 45)	33 (30; 37)
ЛЖ: КДР, мм	52 (45; 53)	53 (47; 54)	56** (48; 59)	47 (46; 49)
ЛЖ: КСР, мм	29# (28; 32)	31 (29; 33)	33** (31; 35)	29 (28; 31)
КДО, мл	129 (95; 141)	125* (111; 144)	140** (112; 156)	112 (99; 118)
КСО, мл	33 (31; 42)	38# (32; 46)	43** (38; 58)	35 (32; 37)
$T_{\text{мжп}}$, мм	10 (9; 10)	10 (9; 10)	10 (9; 10)	10 (9; 10)
$T_{\text{з.ст}}$, мм	10 (9; 10)	9 (9; 10)	10 (9; 10)	9 (9; 10)
ФВ, %	68 (63; 75)	69 (65; 70)	69 (67; 71)	64 (60; 68)

Примечание. Здесь и в табл. 2 знаком * обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей лиц группы контроля (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$), знаком # – пациентов класса С ($p < 0,05$).

группой контроля, что может свидетельствовать о склонности к гипердинамическому состоянию кровотока, отмеченному в ряде исследований. Среди всех больных ФВ была ниже нормы только у двух пациентов, что составило всего 2,5 % случаев. В соответствии с классификацией Гану на основании критерия относительной толщины стенки (ОТС) миокарда, рассчитанной по формуле: $ОТС = (T_{\text{мжп}} + T_{\text{з,ст}} \text{ ЛЖ}) / \text{КДР}$, выделялись следующие типы геометрической модели гипертрофии левого желудочка – концентрическая (если ОТС больше или равен 0,45) и эксцентрическая (если ОТС меньше 0,45). Результаты статистического исследования показали, что у подавляющего большинства (91,4 %) больных ЦП выявлена эксцентрическая модель ремоделирования ЛЖ и лишь у 7 (8,6 %) пациентов – концентрическая.

Как показали полученные нами данные, у больных ЦП отсрочены изменения структурно-функциональных показателей правых отделов сердца (табл. 2). На фоне снижения компенсации заболевания у пациентов класса С присоединяется дилатация ПЖ (ее диастолический размер превышает и нормативный показатель, 27 мм, и соответствующее значение лиц контрольной группы, $p = 0,03$), у больных классов А и В данный параметр не отличался ни от нормальных значений, ни при межгрупповом сравнении. Среди всех больных ЦП дилатация ПЖ выявлена у 27,2 % человек, в том числе у 39,3 % пациентов класса С. Уже на начальной стадии ЦП (класс А) отмечены более высокие значения показателей СДПЖ и max. sist. P в ЛА по сравнению с группой контроля ($p < 0,01$). Выявлено, что параметр СДПЖ нарастал с утяжелением ЦП ($r = 0,30$; $p = 0,02$). Показатель, отражающий диаметр основного ствола ЛА, увеличивался соответственно степени тяжести ЦП ($r = 0,30$; $p = 0,02$), однако статистически значимо не отличался от величины соответствующего показателя в группе контроля. Аналогичные результаты были получены по величине скорости кровотока в ЛА. Общее количество больных со скоростью кровотока в ЛА более 120 см/с со-

ставляло 4,9 % случаев, чаще в классе С (7,1 %). В целом у всех пациентов без учета степени тяжести и этиологии медиана артериального давления составила 120/75 мм рт. ст., частоты сердечных сокращений – 75 ударов в минуту. Следует сказать о том, что анализ выполнялся без учета пола, а также без учета величины артериального давления в группах сравнения, что могло повлиять на полученные значения параметров центральной гемодинамики.

Основным параметром, позволяющим диагностировать наличие и степень выраженности ЛАГ, является max. sist. P в ЛА. Выявлено, что его величина нарастала с утяжелением ЦП ($r = 0,09$; $p = 0,05$). Анализ эхокардиографических признаков ЛАГ показал, что увеличение max. sist. P в ЛА наблюдалось у 11,1 % пациентов: у одного больного с начальной стадией ЦП, что составило 6,3 %, в классе В признаки ЛАГ выявлены в 5,4 % случаев, и чаще всего (21,4 %) ЛГ была зарегистрирована у пациентов с терминальной стадией ЦП. Таким образом, встречаемость ЛАГ у больных класса С была значительно выше, чем у пациентов класса А (21,4 и 6,3 % соответственно, $p < 0,05$). ЛАГ у больных ЦП была умеренной степени, т.е. max. sist. P в ЛА не превышало 50 мм рт. ст.

Таким образом, изменения внутрисердечной гемодинамики зависят от степени тяжести ЦП и проявляются на его начальной стадии в виде дилатации ЛП, нарастания СДПЖ и max. sist. P в ЛА, на поздней стадии – в виде увеличения объемов ЛЖ, его ремоделирования, а также дилатации ПЖ. Одной из возможных причин дилатации ЛП у больных с терминальной стадией ЦП (класс С) может быть гиперволемиа малого круга кровообращения, связанная с портопупмональным шунтированием, которое приводит к увеличению притока крови к ЛП. Наиболее частыми причинами дилатации ЛП могут быть также пол, возраст, наличие ИБС, алкогольное поражение сердца, метаболические нарушения в организме пациента и др.

Таблица 2

Структурно-функциональные показатели правого отдела сердца у больных циррозом печени, Me (Q_1 ; Q_3)

Параметр	Группа наблюдения			Группа контроля (n = 20)
	Класс А (n = 16)	Класс В (n = 37)	Класс С (n = 28)	
ПЖ, мм	22 (19; 24)	24 (21; 26)	27* (21; 28)	22 (19; 24)
СДПЖ, мм рт. ст.	15,8**.# (14,5; 17,1)	16,6** (14,8; 19,2)	19,1** (15,7; 30,0)	12,7 (12,1; 14,7)
Легочный ствол, мм	22 (20; 23)	24 (22; 26)	28 (25; 29)	22 (21; 23)
V в ЛА, м/с	95 (80; 100)	99 (94; 104)	105 (87,8; 110)	95 (84,8; 102)
Max. sist. P в ЛА, мм рт. ст.	14** (8; 21)	18** (8; 25)	25** (15; 38)	5,1 (3,8; 7,5)

Для характеристики тяжести ЛАГ, ассоциированной с ПГ, согласно современным рекомендациям Европейского общества кардиологов и Европейского респираторного общества по диагностике и лечению ЛАГ (новая версия 2009), нами использовался модифицированный вариант классификации по NYHA (модификация Нью-Йоркской ассоциацией кардиологов в соответствии с рекомендациями ВОЗ 1998 г.) [18, 19]. Среди всех больных ЦП с выявленной ЛАГ с помощью эхокардиографии были выделены ФК II, ФК III и ФК IV.

По данным большинства исследований, представленных в литературе, для оценки течения ЦП применяются многочисленные критерии прогноза выживаемости. К прогностически неблагоприятным факторам летального исхода при ЦП относят старший возраст, этиологию, клинические (асцит, гепато- и спленомегалия), инструментальные данные (эхокардиографические параметры, показатели ультразвуковой доплерографии, динамической гепатобилисцинтиграфии), лабораторные показатели (гиперурикемия, уровень эндотелина-1 в плазме и т. д.) и другие [10, 13, 27].

Влияние возраста больных ЦП на выживаемость было изучено в нашем исследовании путем определения корреляции между возрастом и временем до наступления летального исхода. Поскольку больные находились на разных стадиях заболевания, для корректной оценки влияния возраста на выживаемость была проведена стратификация больных по классам Чайлда – Пью и корреляция изучалась внутри каждого класса ЦП. Не получено статистически значимых зависимостей между возрастом больных и временем до наступления летального исхода для класса А ($p = 0,99$), класса В ($p = 0,63$) и класса С ($p = 0,47$). Группы умерших и выживших больных по всем периодам наблюдения были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$), что также свидетельствует об отсутствии влияния возраста на выживаемость при ЦП. С возрастом компенсаторные возможности организма уменьшаются, но не в такой степени, чтобы влиять на выживаемость, что следует из результатов настоящего исследования.

Поскольку в нашем исследовании имелось 8 этиологических вариантов ЦП, не сопоставимых по тяжести заболевания (классам по Чайлду – Пью), сравнение показателей выживаемости между больными ЦП различной этиологии проводилось внутри каждого класса. Данная задача решалась построением таблиц сопряженности этиологических вариантов ЦП и его исходов (выживания или летального исхода) для изученных периодов наблюдения. Не получено статистически значимых различий по выживаемости между

группами различных этиологических вариантов ЦП по всем оценочным периодам. При проведении сравнения выживаемости больных ЦП классов А, В и С по Чайлду – Пью между группами алкогольной, вирусной и смешанной этиологии статистически значимых различий также не выявлено. Исходя из этого можно сделать вывод, что выживаемость больных ЦП вирусной и алкогольной этиологии в меньшей степени определяется конкретным этиологическим вариантом ЦП.

По результатам нашего исследования статистически значимых различий в группах умерших и выживших больных ЦП по наличию гепатомегалии, определяемой методом УЗИ (переднезадний размер правой доли более 130 мм, левой – более 70 мм), не обнаружено. Спленомегалия (длинник более 120 мм), выявляемая методом УЗИ, по нашим данным, также не ассоциировалась с увеличением летальности больных ЦП. Таким образом, гепатомегалия и спленомегалия, выявляемые по нашим критериям, не ассоциируются с выживаемостью больных ЦП [4, 8, 15, 24].

Анализ отобранной в процессе поиска информации показал, что на сегодняшний день отсутствуют данные о том, насколько формирование ЛАГ является прогностически неблагоприятным фактором развития у больных ЦП. Определение ФК на сегодняшний день является мощным прогностическим фактором выживаемости. При отсутствии медикаментозной коррекции больных с различными формами ЛАГ данные литературы свидетельствуют о средней выживаемости в течение 6 месяцев при ФК IV, 2,5 лет при ФК III и 6 лет при ФК I и II [14, 16, 20].

Исследование являлось одномоментным проспективным с оценкой конечной твердой точки – вероятности наступления летального исхода от ЦП или его осложнений. Период наблюдения составил 2 года (24 мес.). За все время наблюдения умерли 36 человек из 81. Всем госпитализированным больным после выписки были даны рекомендации и ежемесячно проводились консультации по телефону. В случае необходимости пациенты вновь госпитализировались в стационар. Данные о смерти лиц, которые более трех месяцев не обращались за консультативной помощью, были получены по результатам телефонных опросов родственников. Все больные ЦП были разделены на 2 группы (группа умерших и группа выживших) по периодам – 6 мес. (умер 21 человек, выжили – 60), 12 мес. (умерли 30, выжили 51), 18 мес. (умерли 36, выжили 45). Группы умерших и выживших больных ЦП по указанным периодам были сопоставимы по полу и возрасту.

Согласно приведенным литературным данным, нами проанализирована продолжитель-

Таблица 3

Продолжительность жизни умерших больных ЦП с наличием и отсутствием легочной артериальной гипертензии

Группа наблюдения	Умершие больные ЦП с наличием ЛАГ (n = 9)			Умершие больные ЦП без признаков ЛАГ (n = 27)			p
	Me (25; 75)	min	max	Me (25; 75)	min	max	
Продолжительность жизни больных ЦП (мес.)	2,8 (1; 3,5)	0,5	12	6,5 (4; 13)	1	29	0,003

ность жизни среди умерших больных ЦП с наличием и отсутствием ЛАГ (табл. 3). Оказалось, что у больных ЦП с признаками ЛАГ медиана продолжительности жизни была существенно меньше, чем у пациентов без ее наличия ($p = 0,003$).

Проанализирована также выживаемость больных ЦП в этих же группах в различные временные интервалы в течение двух лет наблюдения (см. рисунок). Выявлено, что у всех умерших больных ЦП с признаками ЛАГ в отличие от пациентов без ЛАГ смерть зафиксирована в течение первого года наблюдения, причем больше половины больных ЦП с наличием ЛАГ (55,6 %) умерло в течение первого месяца с момента включения в исследование ($p = 0,0005$). В целом при сравнении групп умерших больных ЦП с наличием и отсутствием ЛАГ также отмечена статистически значимая разница в частоте летальных исходов за последующие периоды 3, 6 и 12 мес.

Таким образом, наличие ЛАГ не только клинически утяжеляет течение ЦП, но и влияет на прогноз заболевания, о чем свидетельствуют данные о продолжительности жизни больных ЦП.

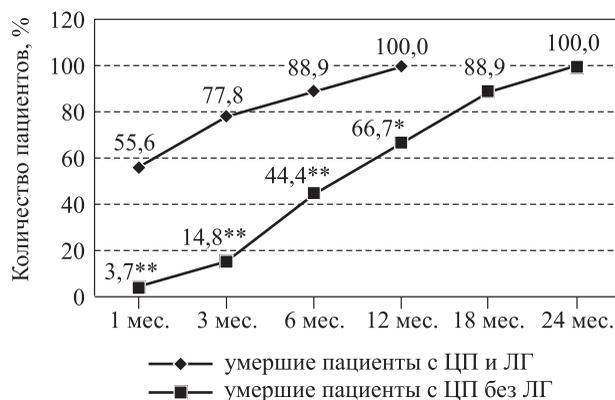


Рис. Продолжительность жизни умерших больных циррозом печени с наличием и отсутствием легочной артериальной гипертензии в течение двух лет наблюдения (знаком * обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей лиц с ЛАГ, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частотный анализ эхокардиографических признаков ЛАГ у обследованных нами пациентов показал, что увеличение max. sist. P в ЛА выявлено у 11,1 % больных ЦП всех классов по Чайлду – Пью. ЛАГ была умеренной степени тяжести (max. sist. P в ЛА не превышало 50 мм рт. ст.), причем встречалась у больных класса С значительно чаще, чем у пациентов класса А (21,4 и 6,3 % соответственно, $p < 0,05$). Наличие ЛАГ клинически утяжеляет течение цирроза, коррелирует с уменьшением продолжительности жизни больных ЦП и является фактором неблагоприятного клинического прогноза для данной категории пациентов. Полученные данные нашего исследования ориентированы на использование в практическом здравоохранении и могут быть полезными в оценке тяжести и прогнозировании развития нарушений легочно-сердечной гемодинамики у больных ЦП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаев Р.Я., Никонов В.В. Ультразвуковое исследование при диагностике легочной гипертензии и способ определения ее тяжести // Медицина неотложных состояний. 2006. 2. (3). 77–79.
2. Батыралиев Т.А., Махмутходжаев С.А., Экинси Э. и др. Легочная гипертензия и правожелудочковая недостаточность. Часть VII. Эпидемиология, факторы риска и патогенез первичной (идиопатической) легочной артериальной гипертензии // Кардиология. 2007. (2). 44–56.
3. Батыралиев Т.А., Махмутходжаев С.А., Экинси Э. и др. Легочная гипертензия и правожелудочковая недостаточность. Часть VIII. Диагностика, течение и прогноз первичной легочной гипертензии // Кардиология. 2007. (3). 69–78.
4. Берестень Н.Ф., Нельга О.Н. Кардиосовместимая доплерография портального кровообращения печени // SonoAce-Ultrasound. 2001. (9). 1–14.
5. Гарбузенко Д.В. Портопьюльмональная гипертензия и гепатопьюльмональный синдром у больных циррозом печени // Пульмонология. 2006. (1). 103–106.

6. Гарбузенко Д.В. Мультиорганные гемодинамические нарушения при циррозе печени // Терапевт. арх. 2007. (2). 73–77.
7. Демьянченко С. Легочная гипертензия: новые рекомендации ESC (2009) // Научно-практич. журн. Medicine Review. 2009. (4). 32–33.
8. Zubovskiy G.A. Лучевая и ультразвуковая диагностика заболеваний печени и желчных путей. М., 1988. 112 с.
9. Игнатенко Г.А., Мухин И.В., Такташов Г.С. и др. Легочная артериальная гипертензия: современный взгляд на проблему // Практич. ангиол. 2011. 3. (42). 9–15.
10. Колос И.П., Перлей В.Е. Легочная артериальная гипертензия // Клинические рекомендации. Пульмонология. М., 2007.
11. Куликов В.Е. Системные изменения гемодинамики у больных с хроническими заболеваниями печени с проявлениями портальной гипертензии : автореф. дис. ... докт. мед. наук. Великий Новгород, 2008.
12. Курсов С.В., Михневич К.Г., Лизогуб Н.В. и др. Гепатопульмональный синдром // Медицина неотложных состояний. 2009. 5. (24). 6–12.
13. Мехтиев С.Н., Кравчук Ю.А., Мехтиева О.А. Портальная гипертензия – современное понимание проблемы // Гепатологич. форум. 2008. (1). 11–15.
14. Невзорова В.А., Пестрикова Т.Л., Кочеткова Е.А. и др. Печеночно-легочный синдром и особенности его проявлений при циррозе печени, сочетающемся с хронической обструктивной болезнью легких // Терапевт. арх. 2009. 70. (3). 19–23.
15. Неклюдова Г.В., Калманова Е.Н. Роль эхокардиографии в диагностике легочной гипертензии // Болезни сердца и сосудов. 2006. 2. (2). 1–18.
16. Прибылов С.А. Дисфункция миокарда у больных циррозом печени: клиническое значение предшественника мозгового натрийуретического пептида // Кардиология. 2006. 7. (2). 67–72.
17. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2002.
18. Ратманова А. Легочная гипертензия. Консенсус экспертов АСС и АНА (2009) // Научно-практич. журн. Medicine Review. 2009. (4). 22–31.
19. Руководство по диагностике и лечению легочной артериальной гипертензии. Рабочая группа по диагностике и лечению легочной артериальной гипертензии Европейского общества кардиологов // Пульмонология. 2006. (6). 5–12.
20. Шостак Н.А., Рябкова А.Т., Бабадаева Н.Н. и др. Легочная гипертензия как междисциплинарная проблема // Врач. 2007. (9). 9–14.
21. Benjaminov F.S., Prentice M., Sniderman K.W. et al. Portopulmonary hypertension in decompensated cirrhosis with refractory ascitis // Gut. 2003. 52. (9). 1355–1362.
22. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension (new version 2009) // Eur. Heart J. 2009. 30. 2493–2537.
23. Hoepfer M.M., Krowka M.J., Strassburg C.P. Portopulmonary hypertension and hepatopulmonary syndrome // Lancet. 2004. 363. 1461–1468.
24. Krowka M.J., Edwards W.D. A spectrum of pulmonary vascular pathology in portopulmonary hypertension // Liver Transplant. 2000. 6. (2). 241–242.
25. McLaughlin V.V., Archer S.L., Badesch D.B. et al. ACCF/AHA. ACCF/AHA 2009 Expert Consensus Document on Pulmonary Hypertension. A Report Of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents and the American College of Chest Physicians, American Thoracic Society, Inc., and the Pulmonary Hypertension Assotiation // Circulation. 2009. 119. 2250–2294.
26. Noquestra J., Monraco L., Morales V. et al. Arterial hypertension and the right heart. A haemodynamic and echocardiographic study // Rev. Port. Cardiol. 1991. 10. 837–843.
27. Pilatis N.D., Jacobs L.E., Rerkpattanapipat P. et al. Clinical predictors of pulmonary hypertension in patients undergoing liver transplantant evaluation // Liver Transplant. 2000. 6. (1). 85–91.

ULTRASOUND ASSESSMENT AND PROGNOSTIC IMPORTANCE OF INDICATORS OF CARDIOPULMONARY HEMODYNAMICS IN HEPATIC CIRRHOSIS

Tatyana Petrovna KALACHEVA, Galina Mikhailovna CHERNYAVSKAYA, Elvira Ivanovna BELOBORODOVA

*Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia
634050, Tomsk, Moskovskiy trakt, 2*

The research objective is to conduct an integrated study of structural and functional indicators of cardiopulmonary hemodynamics by Doppler echocardiography, as well as to assess presence and intensity of pulmonary arterial hypertension in patients with hepatic cirrhosis of various severity and to determine its influence on the course and forecast of the underlying disease. Results. It was established that changes in the structural and functional cardiac indicators in hepatic cirrhosis depend on the stage of portal hypertension compensation and are accompanied by alteration of intracardiac hemodynamics parameters. Pulmonary arterial hypertension was detected in 11.1 % of patients with hepatic cirrhosis; it was moderate and occurred in patients with the terminal stage of the disease (class C according to Child – Pugh) in contrast to the early stage of cirrhosis (21.4 % as opposed to 6.3 %, thus, $p < 0.05$). Conclusion. The results of 2-year examination showed that presence of pulmonary arterial hypertension makes the clinical course of hepatic cirrhosis more severe, correlates with a decrease in life expectancy of cirrhotic patients and is a factor of unfavourable clinical forecast for this group of patients.

Key words: hepatic cirrhosis, portal hypertension, pulmonary arterial hypertension, cardiopulmonary hemodynamics.

***Kalacheva T.P.** – candidate of medical sciences, assistant of the chair of skill improvement and professional retraining faculty, e-mail: talyana-kalachvova@yandex.ru*

***Chernyavskaya G.M.** – doctor of medical sciences, professor of the chair of skill improvement and professional retraining faculty, e-mail: chernyavskayag@mail.ru*

***Beloborodova E.I.** – doctor of medical sciences, professor of the chair of skill improvement and professional retraining faculty, e-mail: belobekaterina@yandex.ru*

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ТЯЖЕСТИ ПОРАЖЕНИЯ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

Игорь Вячеславович КУЛИКОВ², Наталья Геннадьевна ЛОЖКИНА¹,
Владимир Николаевич МАКСИМОВ^{2,3}, Павел Сергеевич ОРЛОВ^{2,3},
Андрей Дмитриевич КУИМОВ¹, Михаил Иванович ВОЕВОДА^{2,3}

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² ФГБУ НИИ терапии СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

³ ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

Изучена ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), идентифицированных в недавних полногеномных ассоциативных исследованиях с одно- и многососудистым поражением коронарных сосудов у больных с острым коронарным синдромом (ОКС). Обследованы больные острым коронарным синдромом, поступившие в блок интенсивной терапии городской клинической больницы № 1 г. Новосибирска (2009–2010 гг.), в том числе 175 мужчин, средний возраст $56,2 \pm 5,2$ года, и 105 женщин, средний возраст $62,1 \pm 5,3$ года. Диагноз ОКС устанавливался по совокупности критериев, разработанных Европейским обществом кардиологов и Американской коллегией кардиологов (2000). Вентрикулокоронарографию проводили на 1–3 сутки от развития симптомов ОКС. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы-производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA). В исследование были взяты следующие ОНП: rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637. Для rs10757278 и rs1333049 выявлена ассоциация с многососудистым поражением коронарных артерий у пациентов с ОКС как в общей группе, так и при разделении по полу, для rs499818 – только в общей группе. Ассоциация rs2549513 со степенью поражения коронарных артерий показана только у мужчин. Впервые на российской популяции показана ассоциация ОНП rs10757278, rs499818, rs2549513, rs1333049 со степенью поражения коронарных артерий. В перспективе эти генетические маркеры могут быть использованы в составе рискметра для оценки риска развития осложнений у пациентов с ОКС в российской популяции.

Ключевые слова: острый коронарный синдром (ОКС), тяжесть поражения коронарных артерий, rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

Высокая распространенность и смертность от острого коронарного синдрома в мире и в России обуславливают актуальность изучения данной проблемы. После установления диагноза острого коронарного синдрома (ОКС) необходимо оценить тяжесть состояния (прогноз) больного. Определение риска неблагоприятных исходов ОКС необходимо для выбора тактики лечения (медикаментозное, инвазивное или их сочетание), сроков пребывания больного в стационаре,

разработки индивидуальных программ реабилитации и вторичной профилактики. Внедрение математических методов моделирования прогноза исходов заболевания значительно облегчило задачу практическим врачам. Эти методы довольно легко воспроизводимы и специфичны в отношении той или иной нозологии. С другой стороны, чтобы прогностическая модель соответствовала поставленным задачам, она должна содержать наиболее значимые факторы, определяющие не-

Куликов И.В. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: 248945@mail.ru

Ложкина Н.Г. – к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии, e-mail: lozhkina.n@mail.ru

Максимов В.Н. – д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: medik11@mail.ru

Орлов П.С. – младший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ генетики животных, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Куимов А.Д. – д.м.н., проф., зав. кафедрой факультетской терапии, e-mail: terapia@mail.ru

Воевода М.И. – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, директор, e-mail: mvovoda@ya.ru

благоприятный исход заболевания. Что касается острого коронарного синдрома, то среди отдельных маркеров риска неблагоприятных исходов ОКС выделяются фракция выброса левого желудочка, «масса некроза миокарда», наследственная предрасположенность к ИБС, ранее выявленный 50 % и более стеноз коронарной артерии, отклонение сегмента ST, два приступа стенокардии и более в предыдущие 24 ч, повышенный уровень биомаркеров некроза миокарда и воспаления в сыворотке крови и некоторые другие [14].

Оценка такого важного фактора, как наследственность, долгое время ограничивалась лишь указанием на ее наличие. Позже стали проводиться ассоциативные исследования. Для анализа обычно отбирались ОНП (от единичных до нескольких десятков, иногда сотен) в функционально значимых генах [1]. Один из существенных недостатков такого подхода заключается в исключении из анализа участков ДНК, содержащих неидентифицированные гены, а также генов, продукты которых по современным представлениям не участвуют в развитии заболевания. В последние годы, благодаря быстрому совершенствованию технологий массового генотипирования, получили распространение полногеномные ассоциативные исследования. Принципиальными общими особенностями этих исследований являются анализ больших выборок пациентов и соответствующих контрольных групп (несколько тысяч индивидов), обязательное реплицирование анализа ассоциаций на независимо обследованных выборках и использование высоко разрешающих методов генотипирования, как правило, высокоплотных чипов для генотипирования по нескольким сотням тысяч генетических маркеров. Попыток выявить ассоциативные связи молекулярно-генетических маркеров с ближайшим и отдаленным прогнозом острого коронарного синдрома в мире, и особенно в России, пока недостаточно. Последнее обстоятельство ставит под сомнение правомочность имеющегося в настоящее время безоговорочного перенесения на нашу популяцию закономерностей развития патологических процессов, установленных при изучении популяций, отличающихся по этническому составу, характеру питания, занятости населения, ряду других факторов, и разработанных на их основе диагностических и лечебных рекомендаций. Все эти обстоятельства подчеркивают чрезвычайную актуальность проверки информативности генетических маркеров, отобранных в ходе полногеномного анализа, как дополнительных показателей риска неблагоприятного прогноза острого коронарного синдрома на нашей популяции. В связи с этим мы поставили цель изучить ассоциацию

8 ОНП с маркером неблагоприятного прогноза ОКС в виде одно- и многососудистого поражения коронарных сосудов (по данным венгеролюко- коронарографии, выполненной по экстренным показаниям у больных с острым коронарным синдромом).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 280 больных острым коронарным синдромом, поступивших в блок интенсивной терапии городской клинической больницы № 1 г. Новосибирска в период с 1 апреля 2009 г. по 30 марта 2010 г., в том числе 180 пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST (117 мужчин и 63 женщины) и 100 человек с ОКС без подъема сегмента ST (58 мужчин и 42 женщины). Средний возраст больных $59,1 \pm 6,1$ года (мужчин – $56,2 \pm 5,2$ года, женщин – $62,1 \pm 5,3$ года). Диагноз ОКС устанавливался по совокупности критериев, разработанных Европейским обществом кардиологов и Американской коллегией кардиологов (2000 г.), включающих: а) типичный болевой приступ; б) изменения ЭКГ в двух и более последовательных отведениях (высокоамплитудный Т, отрицательный Т, подъем сегмента ST, патологический Q, депрессия сегмента ST, наличие QR); в) динамические изменения в уровне ферментов (креатинкиназа, креатинкиназа MB, сердечный тропонин Т и сердечный тропонин I). При дифференциальной диагностике между инфарктом миокарда без подъема сегмента ST и нестабильной стенокардией ориентировались на уровень кардиоспецифических маркеров. Q-позитивный инфаркт миокарда (ИМ) диагностирован у 219 больных (61 %), Q-негативный – у 39 больных (11 %), нестабильная стенокардия (НС) – у 78 человек (28 %), в том числе у мужчин соответственно в 68,8 % (80 человек), в 10,3 % (13 человек) и в 20,9 % (24 человека) случаев, у женщин – в 33,9 % (21 человек), в 30,9 % (20 человек) и в 35,2 % (22 человека) случаев. Венгеролюко- коронарографию проводили по методике Judkins M., 1967 и Sones F.M., 1959 на 1–3 сутки от развития симптомов ОКС.

Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции [2]. Генотипирование проводилось методом ПЦР в реальном времени (зонды TaqMan, Applied Biosystems, США) на приборе ABI 7900HT (Applied Biosystems) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. В исследование были взяты следующие ОНП: rs499818 (хромосома 6), rs619203 гена *ROS1*, rs10757278 и rs1333049 (хромосома 9), rs1376251 гена *TAS2R50*, rs2549513 (хромосома 16), rs4804611 гена *ZNF627* и

rs17465637 гена *MIAF3*. Они были отобраны по результатам исследований, подтвердивших ассоциацию этих ОНП с инфарктом миокарда.

Ассоциация ОНП со степенью поражения коронарного русла по данным венгеро-коронарографии (одно- и многососудистого) проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. В случае четырехпольных таблиц для сравнения выборок по частотам генотипов и аллелей применяли точный двусторонний критерий Фишера. Относительный риск поражения коронарных артерий по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов (ОШ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

rs10757278 локализован на 9-й хромосоме, данные ряда исследований по ассоциации данного генетического маркера с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) противоречивы [5, 16].

При анализе полиморфизма rs10757278 без разбиения по полу были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$) за счет меньшего объема поражения коронарных артерий у гомозигот по мутантному аллелю по сравнению с носителями двух других генотипов (табл. 1). Риск иметь поражение двух и более коронарных артерий у лиц с генотипами AA и AG в 7,8 раза выше, чем у носителей генотипа GG (ОШ = 7,8, 95-процентный доверительный интервал (95 %

ДИ) 2,89–21,23). При разбиении общей группы по полу у мужчин и женщин в отдельности данная зависимость сохраняется, соответственно $p = 0,001$ и $p = 0,014$.

rs499818 расположен на 6-й хромосоме. В Фрамингемском исследовании показана разная степень достоверных ассоциаций данного ОНП с рядом ССЗ [7], в исследовании [6] выявлена его этносpezifичность (отсутствие ассоциации у афроамериканцев и разная степень и более выраженная степень ассоциации с ИБС в молодом возрасте (< 55 лет)).

В нашем исследовании частоты генотипов данного ОНП достоверно различаются за счет преобладания большего объема атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с генотипом AA относительно носителей аллеля G ($p = 0,046$). Однако при разделении группы по полу статистической достоверности не выявлено за счет уменьшения объема анализируемой выборки (табл. 2).

Большинство исследований указывает на ассоциацию rs1333049, расположенного на 9-й хромосоме, с сердечно-сосудистыми заболеваниями и атеросклеротическим поражением [8, 12]. У пациентов с генотипом CC снижена реакция на вазодилататоры [1]. В исследовании [10] показана ассоциация C-аллеля с количеством бляшек в коронарных артериях, но не с утолщением комплекса «интима-медиа». По данным мета-анализа [11], в который было включено более 22 000 случаев ИМ и 60 000 контролей, выявлена высоко-

Таблица 1

Частоты генотипов *Rs10757278* в группах с одно- и многососудистым поражением коронарных артерий

Генотип	Без разделения по полу, n/%		p	Женщины, n/%		p	Мужчины, n/%		p
	1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа	
AA	9/22,5	29/39,2	< 0,001	4/30,8	1/5,9	0,014	5/18,5	28/49,1	< 0,001
AG	13/32,5	38/51,4		4/30,8	14/82,4		9/33,3	24/42,1	
GG	18/45,0	7/9,4		5/38,4	2/11,7		13/48,2	5/8,8	

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 1-я группа – однососудистое поражение, 2-я группа – многососудистое поражение; p – уровень значимости.

Таблица 2

Частоты генотипов *rs499818* в группах с одно- и многососудистым поражением коронарных артерий

Генотип	Без разделения по полу, n/%		p	Женщины, n/%		p	Мужчины, n/%		p
	1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа	
AA	0/0	7/9,6	0,134	0/0	3/17,6	0,137	0/0	4/7,1	0,185
AG	13/33,3	23/31,5		2/16,7	4/23,5		11/40,7	19/33,9	
GG	26/66,7	43/58,9		10/83,3	10/58,9		16/59,3	33/59,0	

Таблица 3

Частоты генотипов rs1333049 в группах с одно- и многососудистым поражением коронарных артерий

Генотип	Без разделения по полу, n/%		p	Женщины, n/%		p	Мужчины, n/%		p
	1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа	
GG	16/40,0	8/11,0	<0,001	4/30,8	1/5,9	0,058	12/44,4	7/12,5	0,002
CG	9/22,5	40/54,8		4/30,8	12/70,6		5/18,5	28/50,0	
CC	15/37,5	25/34,2		5/38,4	4/23,5		10/37,1	21/37,5	

Таблица 4

Частоты генотипов rs2549513 в группах с одно- и многососудистым поражением коронарных артерий

Генотип	Без разделения по полу, n/%		p	Женщины, n/%		p	Мужчины, n/%		p
	1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа		1-я группа	2-я группа	
AA	31/77,5	45/60,8	0,106	9/69,2	13/76,5	0,698	22/81,5	32/56,1	0,045
AC	9/22,5	27/36,5		4/30,8	4/23,5		5/18,5	23/40,4	
CC	0/0	2/2,7		0/0	0/0		0/0	2/3,5	

кая степень ассоциации rs1333049 с ССЗ, в том числе увеличение риска ИМ на 29 %. В другом мета-анализе [9] у 9961 мужчины и женщины, реплицированных на 6032 обследуемых, показана ассоциация данного ОНП со степенью кальцификации коронарных артерий. Определение степени кальцификации коронарных артерий методом компьютерной томографии является неинвазивным методом детекции коронарного атеросклероза, но не дает представления о локализации и степени вовлеченности коронарных артерий. Еще один проспективный мета-анализ подтверждает ассоциацию rs1333049 с ССЗ [13]. Однако в исследовании [16] не было найдено его ассоциации с повторным ИМ, реваскуляризацией и смертностью от ССЗ.

Нами показана ассоциация данного ОНП со степенью поражения коронарных артерий по результатам коронарной ангиографии ($p < 0,001$) в группе без разделения по полу за счет наименьшего поражения у гомозигот GG по сравнению с носителями аллеля С (ОШ = 5,4, 95% ДИ 2,1–14,3). У мужчин данная ассоциация более выражена (ОШ = 5,6, 95 % ДИ 1,8–16,7), у женщин не достигает уровня статистической значимости (табл. 3).

rs2549513 расположен на 16-й хромосоме. Согласно данным Фрамингемского исследования [7], этот ОНП ассоциирован с ИБС (ИМ, фатальная ИБС). В последней работе 2011 г. [6] показана ассоциация данного ОНП с коронарной болезнью сердца. В нашем исследовании обнаружена ассоциация rs2549513 со степенью поражения коронарных артерий только у мужчин ($p = 0,045$) за

счет большего объема поражения у носителей мутантного аллеля (ОШ = 3,4, 95 % ДИ 1,1–10,4). Для группы в целом и у женщин статистически значимых различий не выявлено (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в России изучена ассоциация одного из известных маркеров неблагоприятного прогноза острого коронарного синдрома – многососудистого поражения коронарных сосудов с ОНП, которые, по данным литературы, ассоциированы с ССЗ (rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637). Для rs10757278 и rs1333049 выявлена ассоциация с многососудистым поражением коронарных артерий у пациентов с ОКС как в общей группе, так и при разделении по полу, для rs499818 – только в общей группе. Ассоциация rs2549513 со степенью поражения коронарных артерий показана только у мужчин.

В перспективе эти генетические маркеры могут быть использованы в составе дифференциального рискметра для оценки риска осложнений у пациентов с ОКС российской популяции.

Исследование поддержано грантом РФФИ (проект № 11-04-01875а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Мелентьев А.С. и др. Связь I/D-полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента с наследственной предрасположенностью к инфаркту миокарда // Клини. мед. 2002. 80. (8). 25–29.

2. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // Анализ генома / Ред. К. Дейвис; пер. с англ. М.: Мир, 1990. 58–94.
3. Aschauer S., Mittermayer F., Wagner C.C. et al. Forearm vasodilator reactivity in homozygous carriers of the 9p21.3 rs1333049 G > C polymorphism // Eur. J. Clin. Invest. 2010. 40. (8). 700–705.
4. Biros E., Cooper M., Palmer L.J. et al. Association of an allele on chromosome 9 and abdominal aortic aneurysm // Atherosclerosis. 2010. 212. (2). 539–542.
5. Deka R., Koller D.L., Lai D. et al. FIA Study Investigators. The relationship between smoking and replicated sequence variants on chromosomes 8 and 9 with familial intracranial aneurysm // Stroke. 2010. 41. (6). 1132–1137.
6. Franceschini N., Carty C., Bůzková P., Reiner A. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multiethnic cohorts: the PAGE study // Circ. Cardiovasc. Genet. 2011. 4. (6). 661–672.
7. Larson M.G., Atwood L.D., Benjamin E.J. et al. Framingham Heart Study 100K project: genome-wide associations for cardiovascular disease outcomes // BMC Med. Genet. 2007. 8. (Suppl. 1). S5.
8. Mendonça I., dos Reis R.P., Pereira A. et al. Independent association of the variant rs1333049 at the 9p21 locus and coronary heart disease // Rev. Port. Cardiol. 2011. 30. (6). 575–591.
9. O'Donnell C.J., Kavousi M., Smith A.V. et al. Genome-wide association study for coronary artery calcification with follow-up in myocardial infarction // Circulation. 2011. 124. (25). 2855–2864.
10. Plichart M., Empana J.P., Lambert J.C. et al. Single polymorphism nucleotide rs1333049 on chromosome 9p21 is associated with carotid plaques but not with common carotid intima-media thickness in older adults. A combined analysis of the Three-City and the EVA studies // Atherosclerosis. 2012. 222. (1). 187–190.
11. Preuss M., König I.R., Thompson J.R. et al. Design of the Coronary ARtery Disease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Study: A Genome-wide association meta-analysis involving more than 22 000 cases and 60 000 controls. CARDIoGRAM Consortium // Circ. Cardiovasc. Genet. 2010. 3. (5). 475–483.
12. Scheffold T., Kullmann S., Hüge A. et al. Forschungsverbund Herz-Kreislauf in NRW (Research Consortium Heart and Circulation in North Rhine-Westphalia). Six sequence variants on chromosome 9p21.3 are associated with a positive family history of myocardial infarction: a multicenter registry // BMC Cardiovasc. Disord. 2011. 11. doi:10.1186/1471-2261-11-9.
13. Schunkert H., Götz A., Braund P. et al. Cardiogenics Consortium. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease // Circulation. 2008. 117(13). 1675–1684.
14. Tang E.W., Wong C.K., Herbison P. Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) hospital discharge risk score accurately predicts long-term mortality post acute coronary syndrome. // Am. Heart J. 2007. 153. (1). 29–35.
15. The chromosome 9p21 region and myocardial infarction in a European population // Atherosclerosis. 2011. 217. (1). 220–226.
16. Virani S.S., Brautbar A., Lee V.V. et al. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multi-ethnic cohorts. The PAGE Study // Circ. Cardiovasc. Genet. 2011. 4. (6). 661–772.

GENETIC MARKERS OF SEVERITY OF CORONARY VESSELS STENOSIS IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Igor Vyacheslavovich KULIKOV², Natalya Gennadevna LOZHKINA¹,
Vladimir Nikolaevich MAKSIMOV², Pavel Sergeevich ORLOV³,
Andrey Dmitrievich KUIMOV¹, Mikhail Ivanovich VOEVODA²

¹ *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

² *Institute of Internal Medicine, SB of RAMS*
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

³ *Institute of Cytology and Genetics, SB of RAS*
630090 Novosibirsk, Lavrentyev av., 10

To investigate the association of SNP (identified in recent GWAS) with single and multi-vessel coronary arteries damage in patients with acute coronary syndrome (ACS). Two hundred eighty patients with ACS have been admitted to the intensive care unit at City Clinical Hospital № 1 (Novosibirsk). 175 men (mean age 56.2 ± 5.2 years), and 105 women (mean age – 62.1 ± 5.3 years) were examined. The diagnosis of ACS was defined according to the set of criteria developed by the European Society of Cardiology and American College of Cardiology (2000). Ventriculo-coronarography was performed in 1–3 days after ACS symptoms onset. Genomic DNA was extracted from venous blood by phenol-chloroform extraction. Polymorphism of genes tested by real-time PCR according to the protocol producer firms (probes TaqMan, Applied Biosystems, USA). The following SNPs: rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637 were taken for investigation. The association was found between rs10757278 and, rs1333049 and multivessel coronary artery disease in patients with ACS both in the total group and in case of gender differentiation. For rs499818 – only in the total group. The association of rs2549513 with degree of coronary artery lesions was revealed only for men. For the first time the association of SNPs rs10757278, rs499818, rs2549513, rs1333049 with the degree of coronary artery disease was detected in Russian population. In the future, these genetic markers can be used as a part of risk measuring research to assess the risk of complications in patients with ACS in Russian population.

Key words: acute coronary syndrome (ACS), coronary arteries damage, rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

Kulikov I.V. – candidate of medical sciences, senior researcher of the laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: 248945@mail.ru

Lozhkina N.G. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair of internal diseases, e-mail: lozhkina.n@mail.ru

Maksimov V.N. – doctor of medical sciences, head of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: medik11@mail.ru

Orlov P.S. – junior researcher of the laboratory of molecular basis of animal genetics, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Kuimov A.D. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair of internal diseases, e-mail: terapia@mail.ru

Voevoda M.I. – doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAMS, director, e-mail: mvoevoda@ya.ru

ОПЫТ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ АТРОФИЧЕСКОГО ГАСТРИТА В ТЕКУЩЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Анна Владимировна БЕЛКОВЕЦ¹, Светлана Арсентьевна КУРИЛОВИЧ^{1,2},
Олег Вадимович РЕШЕТНИКОВ¹, Юлия Игоревна РАГИНО¹,
Лилия Валерьевна ЩЕРБАКОВА¹

¹ ФГБУ НИИ терапии СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Неинвазивная диагностика атрофического гастрита как основного предракового состояния проведена у 818 человек, последовательно обратившихся в клинко-диагностическое отделение поликлиники самостоятельно или по направлению врача. Использовали наборы для ИФА «ГастроПанель» (Biohit, Финляндия), позволяющие определять содержание пепсиногена I, пепсиногена II и гастрин-17. Опыт использования биомаркеров желудочной атрофии в текущей клинической практике демонстрирует высокую частоту выявления фундальной и антральной атрофии (суммарно не менее 40 % и наибольшую в возрастном диапазоне 50–69 лет).

Ключевые слова: атрофический гастрит, рак желудка, ГастроПанель, неинвазивная диагностика, пепсиногены, гастрин-17.

Хронический атрофический гастрит (АГ), ассоциированный с инфекцией *H. pylori*, является предраковым состоянием и играет важную роль в развитии интестинальной формы рака желудка [5, 12]. Взаимосвязь между АГ и риском неоплазий слизистой оболочки желудка основана на том, что *H. pylori* инициирует воспаление и атрофические изменения, меняет процессы контроля за пролиферацией и дифференцировкой эпителиальных клеток [8, 16]. Сложность ранней диагностики АГ заключается в том, что на начальных этапах и в течение длительного времени он может протекать бессимптомно или иметь неяркие клинические проявления. У лиц с тотальной атрофией (АГ в антральном отделе и в теле, выраженный мультифокальный атрофический гастрит) независимо от присутствия или отсутствия инфекции *H. pylori* риск развития рака повышается в 90 раз в сравнении с риском для субъектов с нормальной слизистой оболочкой [12]. Результатом атрофических изменений слизистой

оболочки желудка является уменьшение выделения соляной кислоты и пепсиногенов [14]. Для неинвазивной диагностики фенотипа гастрита (язвенного, ракового, аутоиммунного) десять лет назад был разработан комплекс диагностических тестов, так называемый «ГастроПанель» (Biohit, Финляндия), с помощью которого выполняется параллельная оценка содержания в сыворотке крови пепсиногена I (ПГ I), пепсиногена II (ПГ II) и их соотношения, а также концентрации гастрин-17. Данный комплекс тестов является «панелью биомаркеров» и позволяет оценить степень атрофии различных отделов желудка при наличии или отсутствии антител к *H. pylori*. Так, при прогрессировании атрофии тела желудка будет наблюдаться снижение содержания ПГ I и отношения ПГ I/ПГ II. Низкий плазменный уровень гастрин-17 и ПГ II позволяет идентифицировать пациентов с атрофическим антральным гастритом. Уменьшение всех составляющих «ГастроПанели» – свидетельство мультифокальной

Белковец А.В. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии,
e-mail: belkovets@gmx.de

Курилович С.А. – д.м.н., проф., зав. лабораторией гастроэнтерологии, зав. курсом гастроэнтерологии кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: kurilovich@yandex.ru

Решетников О.В. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии,
e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru

Рагино Ю.И. – д.м.н., проф., зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований,
e-mail: ragino@mail.ru

Щербакова Л.В. – ведущий научный сотрудник лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, e-mail: sherbakova@iimed.ru

атрофии, а низкое содержание ППГ в сочетании с увеличенной концентрацией гастрина предполагает наличие изолированного атрофического фундального гастрита [3, 14]. Высокая чувствительность и специфичность коммерческого набора «ГастроПанель» показана в ряде российских и зарубежных исследований [15, 17]. Так, при эндоскопическом и гистологическом контроле «ГастроПанель» применена у 404 пациентов с диспепсией и в популяционном исследовании с участием около 1000 субъектов из Северной Европы. Ее чувствительность и специфичность для диагностики атрофического гастрита составили 89 % (95-процентный доверительный интервал (95 % ДИ) 81–97) и 93 % (95 % ДИ 86–100) соответственно, а для диагностики нормальной, «здоровой» слизистой оболочки желудка (отсутствие инфицирования *H. pylori* и гастрита, в том числе атрофического) – 89 % (95 % ДИ 86–92) и 92 % (95 % ДИ 90–95) соответственно [15]. Поэтому не случайно эту методологию назвали «серологической биопсией» [6].

Цель настоящего исследования – анализ показателей «ГастроПанели» среди лиц, последовательно обратившихся в клинику-диагностическое отделение поликлиники самостоятельно или по направлению врача для неинвазивной диагностики фенотипа гастрита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 818 человек, которые самостоятельно или по направлению врачей обратились в клинику-диагностическое отделение НИИ терапии СО РАМН для диагностики фенотипа гастрита. Средний возраст обследованных составил $48,4 \pm 0,5$ года (от 18 до 80 лет), женщин было 68,4 %, мужчин – 31,6 %. Распределение мужчин и женщин по возрастным декадам представлено в табл. 1.

Кровь забирали из локтевой вены натощак, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15 мин. Полученные сыворотки замораживали и хранили при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для тестирования образцов сыворотки использовали набор диагностикомов компании Biohit Plc (Финляндия) для иммуно-

ферментного анализа содержания ППГ, ППГ, гастрина-17 и антител IgG к *H. pylori*. За верхнюю границу нормы (в соответствии с инструкцией к наборам) принимали уровень ППГ 130 мкг/л. Фундальную атрофию определяли как выраженную, если содержание ППГ было меньше 30 мкг/л, концентрация ППГ меньше 3 мкг/л также оценивалась как низкая. Кроме того, учитывали соотношение ППГ/ППГ (критерий атрофии – значение менее 3). О выраженной антральной атрофии говорили при уровне гастрина-17 ниже 2 пмоль/л. Мультифокальную атрофию определяли в том случае, если содержание ППГ не превышало 30 мкг/л, а гастрина-17 – 2 пмоль/л. Об умеренно выраженной фундальной атрофии говорили при значениях ППГ в пределах 30–50 мкг/л. Тест на наличие IgG-антител к *H. pylori* считали пограничным при их содержании в пределах 34–42 EIU и положительным – при уровне > 42 EIU. Дополнительно анализировали наличие антител к CagA-белку *H. pylori*, выявляемых с помощью тест-системы «Хелико-Бест антитела» (Вектор-Бест, Новосибирск). В этой тест-системе в качестве антигена на подложке и в конъюгате использован рекомбинантный белок CagA, что определяет ее высокую чувствительность и специфичность.

Программа исследования была рассмотрена и одобрена на заседании комитета по биомедицинской этике в НИИ терапии СО РАМН. Каждый обследованный подписал бланк информированного согласия на участие в исследовании.

Статистический анализ включал проверку характера распределения показателей. При наличии распределения, отличного от нормального, использовался непараметрический метод Манна – Уитни. Дескриптивный анализ числовых характеристик признаков включал определение средних значений (M), стандартной ошибки (m), медианы (Me), межквартильного размаха (25–75 процентиль). Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r). Достоверность различий между средними оценивали по критерию ANOVA, использовали также критерий χ^2 . Критерием статистической достоверности был уровень $p < 0,05$.

Таблица 1

Распределение мужчин и женщин по возрастным декадам, %

Пол	Возраст, лет				
	< 30	30–39	40–49	50–59	> 60
Мужчины	17,6	18,9	21,6	25,1	16,7
Женщины	7,9	16,7	17,9	34,3	23,2

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В анализируемой группе антитела к *H. pylori* были выявлены в 69,1 % случаев, без существенных различий в зависимости от пола, т.е. реже, чем получено в эпидемиологическом исследовании у жителей Новосибирска 25–64 лет (у 90,4 % мужчин и у 86,4 % женщин [1, 2]). Среди ин-

фицированных *H. pylori* лиц цитотоксический CagA-позитивный штамм обнаружен у 69,5 % обследованных, что соответствовало данным приведенного эпидемиологического исследования. Инфекция *H. pylori* давно признана основной причиной развития АГ в Европе, в том числе и в случаях, когда атрофия ограничена телом желудка и при аутоиммунном фенотипе АГ [11]. CagA-позитивность увеличивает риски серьезных исходов *H. pylori*-инфекции (в том числе рака желудка), однако не имеет нозологической специфичности. Поэтому в нашем исследовании логично было ожидать высокой частоты атрофических гастритов, по крайней мере, в старших возрастных группах. В случае активного гастрита, ассоциированного с инфекцией *H. pylori*, плазменный уровень ПГII имеет тенденцию повышаться. Более того, это является дополнительным индикатором продолжающейся инфекции и указывает на ее «активность» [6]. В настоящем исследовании уровни пепсиногенов были достоверно выше при наличии IgG-антител к *H. pylori*, а также антител к CagA-белку (табл. 2, 3).

Снижение кислотной продукции, уменьшение содержания в сыворотке крови ПГI и соотношения ПГI/ПГII являются наиболее надежными биомаркерами АГ в теле желудка, что подтверждается гистологически или пентагастриновым тестом [7, 9, 14]. Выраженная корпусная (фундальная) атрофия выявлена у 65 пациентов (7,9 %), а уменьшение соотношения ПГI/ПГII – у 99 (12,1 %). У 50 человек (6,1 %) оба показателя

(содержание ПГI и отношение ПГI/ПГII) оказались сниженными, что более надежно свидетельствует об атрофии слизистой оболочки тела желудка. Обращает на себя внимание тот факт, что еще в 10,9 % случаев выявлена умеренная атрофия, обратное развитие которой возможно при успешной эрадикации *H. pylori*. Атрофические изменения в антральном отделе слизистой оболочки желудка, сопровождающиеся снижением и исчезновением гастрин-синтезирующих и секреторирующих G-клеток, проявляются в снижении уровня гастрин-17 [14]. Признаки антральной атрофии были выявлены у 211 человек (25,8 %). Мультифокальная атрофия, что ассоциировано с самым высоким риском рака желудка, отмечена у 13 человек (1,6 %). При оценке риска развития рака желудка на основании показателей биомаркеров в 10-летнем исследовании с включением 5209 асимптомных японцев среднего возраста повышение содержания антител к *H. pylori* и уменьшение концентрации ПГI и/или отношения ПГI/ПГII предсказывают риск рака желудка: относительный риск составляет 3,5 (95 % ДИ 2,0–6,4) при низком уровне ПГI (не более 30 мкг/л) и 3 (95 % ДИ 2,5–7,3) при низком отношении ПГI/ПГII (не более 3) [18].

Заболееваемость раком желудка увеличивается с возрастом. Однако в мультивариантном анализе, проведенном P. Sipponen с соавт., возраст оказался не независимым фактором риска для рака желудка, а только суррогатным маркером [12]. В настоящем исследовании в группе лиц с

Таблица 2

Содержание биомаркеров «ГастроПанели» в сыворотке крови пациентов в зависимости от инфицирования *H. pylori*

Биомаркер	<i>H. pylori</i> –		<i>H. pylori</i> +		p
	M ± m	Me (25–75 %)	M ± m	Me (25–75 %)	
Пепсиноген I, мкг/л	81,9 ± 3,2	72,6 (50,5–100,9)	111,8 ± 2,6	102,0 (67,3–146,8)	0,0001
Пепсиноген II, мкг/л	10,7 ± 0,7	7,5 (5,1–11,8)	19,8 ± 0,6	15,9 (9,2–25,7)	0,0001
ПГI/ПГII	10,4 ± 0,5	9,9 (6,0–12,9)	8,9 ± 1,6	6,6 (4,4–9,6)	0,0001
Гастрин-17, пмоль/л	11,7 ± 1,3	3,3 (1,3–10,4)	13,8 ± 0,7	7,4 (2,9–17,7)	0,0001

Таблица 3

Содержание биомаркеров «ГастроПанели» в сыворотке крови пациентов в зависимости от CagA-позитивности

Биомаркер	CagA–		CagA+		p
	M ± m	Me (25–75 %)	M ± m	Me (25–75 %)	
Пепсиноген I, мкг/л	93,3 ± 5,4	81,6 (52,0–116,6)	107,7 ± 3,6	100,5 (64,2–146,5)	0,005
Пепсиноген II, мкг/л	12,8 ± 1,02	9,2 (6,1–14,6)	20,5 ± 1,01	14,9 (8,6–28,2)	0,0001
ПГI/ПГII	15,5 ± 6,4	9,5 (4,9–12,6)	7,3 ± 0,3	6,3 (4,1–9,2)	0,0001
Гастрин-17, пмоль/л	11,3 ± 1,7	3,7 (1,4–11,6)	13,1 ± 1,02	6,7 (2,4–16,2)	0,001

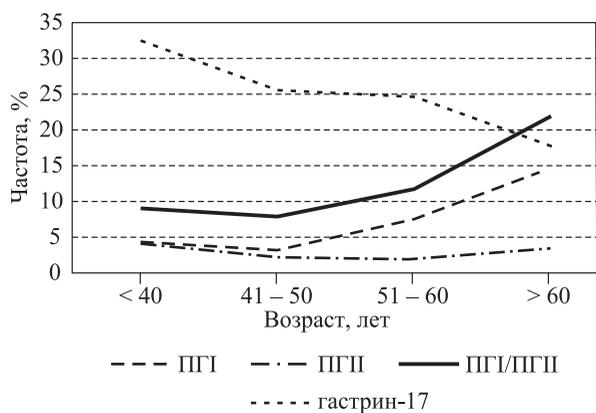


Рис. Частота выявления сниженного уровня биомаркеров АГ у лиц обоего пола в разных возрастных группах

признаками атрофии тела желудка 78,8 % случаев приходится на старшие возрастные группы (50 лет и более). Это наблюдается и в отношении пониженного соотношения ПГИ/ПГИИ (67,9 %). Однако среди пациентов с признаками антральной атрофии представительство возрастной группы 30–39 лет и старше 50 лет оказалось одинаковым (50,1 и 50,1 % соответственно).

При проведении корреляционного анализа выявлена также слабая положительная связь между содержанием гастрин-17 в сыворотке крови и возрастом ($r = 0,173$; $p = 0,0001$) и отрицательная зависимость между величиной отношения ПГИ/ПГИИ и возрастом ($r = -0,096$; $p = 0,011$). Частота выявления сниженного уровня биомаркеров АГ у лиц обоего пола в разных возрастных группах показана на рисунке. Величины основных показателей, характерных для фундальной атрофии, увеличиваются с возрастом. Напротив, с возрастом низкий уровень гастрин-17 встречается реже. Известно, что содержание гастрин-17 в сыворотке крови отражает нормальную физиологию механизма его обратной связи с продукцией соляной кислоты в суточном контроле секреции последней и является чувствительным ко всем физиологическим стимулам, лекарствам и диетам. Длительный прием ингибиторов протонного насоса поднимает плазменный уровень

гастрина-17 в среднем в 2–5 раз в зависимости от дозы [4]. При АГ, ограниченном в теле желудка, он всегда заметно увеличен [10]. При низком содержании ПГИ и/или отношения ПГИ/ПГИИ высокий уровень гастрин-17 в плазме подтверждает, что АГ ограничен телом и дном желудка и у пациента нет мультифокального АГ. У лиц, принимающих ингибиторы протонного насоса, низкий или нормальный плазменный уровень гастрин-17 предполагает антральную атрофию [13].

Во всем мире связанная с возрастом заболеваемость раком желудка интестинального типа приблизительно в два раза выше у мужчин, чем у женщин. Есть предположение, что это различие является следствием протективного действия эстрогенов у женщин [14]. В настоящем исследовании содержание ПГИ и отношение ПГИ/ПГИИ у мужчин оказались выше, а гастрин-17 – ниже, чем у женщин (табл. 4). Возможно, это связано с тем, что в нашем исследовании количество мужчин моложе 30 лет было в два раза больше, чем женщин (соответственно 17,6 и 7,9 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Атрофический гастрит является общепризнанным основным предраковым заболеванием желудка. Опыт неинвазивной диагностики атрофического гастрита в текущей терапевтической практике в условиях поликлинического отделения с помощью исследования комплекса биомаркеров, объединенных в тест-панель, демонстрирует высокую частоту выявления фундальной и антральной атрофии и необходимость более широкого использования «ГастроПанели» в медицинских и профилактических учреждениях.

Методология открывает новые возможности в профилактике и ранней диагностике рака желудка, позволяет идентифицировать (с высокой чувствительностью и специфичностью) пациентов с умеренно выраженной фундальной атрофией, прогрессия которой может быть остановлена успешной эрадикацией *H. pylori*, и пациентов с выраженным АГ, которые нуждаются в дальнейшем эндоскопическом обследовании с проведе-

Таблица 4

Содержание биомаркеров «ГастроПанели» в сыворотке крови пациентов в зависимости от пола

Биомаркер	Мужчины		Женщины		p
	M ± m	Me (25–75 %)	M ± m	Me (25–75 %)	
Пепсиноген I, мкг/л	108,2 ± 4,1	97,6 (69,6–135,3)	97,5 ± 2,8	83,2 (57,4–125,3)	0,005
Пепсиноген II, мкг/л	16,2 ± 0,9	11,2 (7,3–20,4)	16,5 ± 0,7	12,0 (6,7–22,3)	0,925
ПГИ/ПГИИ	9,2 ± 0,5	8,0 (4,8–11,3)	7,96 ± 0,2	7,2 (4,6–10,8)	0,053
Гастрин-17, пмоль/л	10,2 ± 0,9	4,7 (1,6–12,6)	13,9 ± 0,9	5,9 (2,2–15,8)	0,021

нием обязательной множественной биопсии для установления степени и стадии атрофического гастрита, а также профилактических вмешательств в зависимости от выявленных изменений. При таком подходе параллельно появляется возможность диагностики раннего рака желудка и его своевременного лечения. Кроме того, представленная неинвазивная технология показывает пути более рационального использования эндоскопической аппаратуры с переносом основной нагрузки с визуальной оценки состояния желудка на полноценное обследование (с выполнением мультифокальных биопсий и морфологическим анализом степени и стадии гастрита по современной системе «OLGA»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курилович С.А., Решетников О.В., Кротов С.А. и др. Синдром диспепсии: от изучения эпидемиологии к канцерпревенции // Бюл. СО РАМН. 2006. (4). 74–79.
2. Курилович С.А., Решетников О.В. Эпидемиология заболеваний органов пищеварения в Западной Сибири. Новосибирск, 2000. 71 с.
3. Пюреева К.В., Лапина Т.Л., Ивашкин В.Т. и др. Значение сывороточных пепсиногенов и гастрин-17 в диагностике атрофического гастрита // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2005. (5). 48–51.
4. Agréus L., Storskrubb T., Aro P. et al. Clinical use of proton-pump inhibitors but not H2-blockers or antacid/alginate raises the serum levels of amidated gastrin-17, pepsinogen I and pepsinogen II in a random adult population // Scand. J. Gastroenterol. 2009. 44. 564–570.
5. Correa P., Haenszel W., Cuello C. et al. Gastric precancerous process in a high risk population: cohort follow-up // Cancer Res. 1990. 50. 4737–4740.
6. Di Mario F., Moussa A.M., Caruana P. et al. ‘Serological biopsy’ in first-degree relatives of patients with gastric cancer affected by *Helicobacter pylori* infection // Scand. J. Gastroenterol. 2003. 38. 1223–1227.
7. Dinis-Ribeiro M., da Costa-Pereira A., Lopes C. et al. Validity of serum pepsinogen I/II ratio for the diagnosis of gastric epithelial dysplasia and intestinal metaplasia during the follow-up of patients at risk for intestinal-type gastric adenocarcinoma // Neoplasia. 2004. 6. 449–456.
8. Kuipers E.J., Uytterlinde A.M., Peña A.S. et al. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis // Lancet. 1995. 345. 1525–1528.
9. Miki K., Fujishiro M., Kodashima S., Yahagi N. Long-term results of gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method among an asymptomatic middle-aged Japanese population // Dig. Endosc. 2009. 21. 78–81.
10. Pasechnikov V.D., Chukov S.Z., Kotelevets S.M. et al. Possibility of non-invasive diagnosis of gastric mucosal precancerous changes // World J. Gastroenterol. 2004. 10. 3146–3150.
11. Sande N., Nikulin M., Nilsson I. et al. Increased risk of developing atrophic gastritis in patients infected with CagA+ *Helicobacter pylori* // Scand. J. Gastroenterol. 2001. 36. 928–933.
12. Sipponen P., Kekki M., Haapakoski J. et al. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data // Int. J. Cancer. 1985. 35. 173–177.
13. Sipponen P., Vauhkonen M., Helske T. et al. Low circulating levels of gastrin-17 in patients with Barrett’s esophagus // World J. Gastroenterol. 2005. 11. 5988–5992.
14. Sipponen P., Ranta P., Helske T. et al. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study // Scand. J. Gastroenterol. 2002. 37. 785–791.
15. Storskrubb T., Aro P., Ronkainen J. et al. Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population: the Kalixanda study // Scand. J. Gastroenterol. 2008. 43. 1448–1455.
16. Valle J., Valle J., Kekki M. et al. Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. Results of a 32-year follow-up study // Scand. J. Gastroenterol. 1996. 31. 546–550.
17. Väänänen H., Vauhkonen M., Helske T. et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicentre study // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2003. 15. 885–891.
18. Yanaoka K., Oka M., Yoshimura N. et al. Risk of gastric cancer in asymptomatic, middle-aged Japanese subjects based on serum pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody levels // Int. J. Cancer. 2008. 123. 917–926.

THE EXPERIENCE OF THE NON-INVASIVE DIAGNOSIS OF ATROPHIC GASTRITIS IN CURRENT CLINICAL PRACTICE

**Anna Vledimirovna BELKOVETS¹, Svetlana Arsentjevna KURILOVICH^{1,2},
Oleg Vadimovich RESHETNIKOV¹, Yulija Igorevna RAGINO¹,
Lilija Valerjevna SHCHERBAKOVA¹**

¹ *Institute of Internal Medicine of SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

² *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

Non-invasive diagnostics of atrophic gastritis as a main premalignant condition was carried out in 818 people which consistently applied to polyclinic on their own or according to the physician recommendation. «GastroPanel» sets for enzyme-linked immunoassay (Biohit, Finland), which allow measuring pepsinogen I, pepsinogen II and gastrin 17, have been used. Experience of use of gastric atrophy biomarkers in the current clinical practice shows high frequency of detection of fundus and antral atrophy (totally not less than 40 % and the highest frequency — at the 50–69 years of age range).

Key words: atrophic gastritis, gastric cancer, GastroPanel, non-invasive diagnostics, pepsinogens, gastrin-17.

*Belkovets A.V. – candidate of medical sciences, researcher of laboratory of gastroenterology,
e-mail: belkovets@gmx.de*

*Kurilovich S.A. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of gastroenterology,
head of gastroenterology course, e-mail: kurilovich@yandex.ru*

*Reshetnikov O.V. – doctor of medical sciences, leading researcher of laboratory of gastroenterology,
e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru*

*Ragino Yu.I. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of clinical-population
and preventive investigations of therapeutic and endocrine diseases, e-mail: ragino@mail.ru*

*Shcherbakova L.V. – leading researcher of laboratory of clinical-population and preventive researches
of therapeutic and endocrine diseases, e-mail: sherbakova@iimed.ru*

МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ СОЧЕТАНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО И КИШЕЧНОГО БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НИЖНЕГО ЭТАЖА ПОЛОВОГО ТРАКТА И ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ДИСФУНКЦИЕЙ ЯИЧНИКОВ

**София Марковна ПОПКОВА, Елена Борисовна РАКОВА,
Елена Евгеньевна ХРАМОВА, Ирина Николаевна ДАНУСЕВИЧ,
Наталья Михайловна ШАБАНОВА, Людмила Викторовна СЕРДЮК,
Ульяна Михайловна НЕМЧЕНКО, Елена Иннокентьевна ИВАНОВА**

*ФГБУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН
664025, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16*

Изучено влияние дисбиотических изменений кишечной микробиоты на микробиоценоз влагалища и оценена эффективность комплексной коррекции дисбиотических изменений одновременно в двух биотопах, влагалище и кишечнике, на фоне стандартной этиотропной терапии у женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта. В исследование были включены 205 пациенток: 60 девочек-подростков с дисфункцией яичников (13–15 лет) и 145 женщин репродуктивного возраста (25–45 лет) с неспецифическими воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта, которые, в свою очередь, были разделены еще на 2 группы сравнения: 59 пациенток получили стандартную этиотропную терапию с коррекцией нарушений микробиоты влагалища, 55 пациенткам дополнительно проводилась коррекция дисбиотических изменений в кишечном биотопе. Стандарт обследования включал клинико-лабораторный метод, бактериоскопический, молекулярно-биологический (ПЦР), культуральный методы – посев из влагалища до и после проведения терапии, а также исследование микробиоты кишечника. Зарегистрирован высокий уровень индикации клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) в вагинальном биотопе у девочек-подростков без воспалительных заболеваний и у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий на фоне резко выраженного дефицита бифидобактерий и лактобацилл (от 64 до 90 % лиц) и высокого содержания УПМ в кишечном биотопе (до 85 % лиц). Комплексная коррекция дисбиотических нарушений в обоих биотопах показала выраженную эффективность в лечении больных по сравнению с монокоррекцией.

Ключевые слова: вагинальный микробиоценоз, кишечный биотоп, коррекция, дисбиотические изменения.

В структуре акушерско-гинекологической заболеваемости во всем мире первое место занимают инфекционно-воспалительные заболевания влагалища, которые являются одной из актуальных проблем детской и подростковой гинекологии. Распространенность вульвовагинитов, по данным различных авторов, составляет от 48,1 до 58 % [10]. Е.Ф. Кира [4] сообщает о размахе их частоты в различных популяциях женщин от 30 до 80 %. Инфекции влагалища увеличивают риск неблагоприятного исхода беременности, развития эндометрита родильниц и т.д. Наиболее

частыми нозологическими формами в структуре гинекологической патологии являются вагиниты и бактериальные вагинозы, которые в настоящее время большинство исследователей рассматривают как форму дисбиоза [2]. При этом, как отмечает М.В. Майоров [6], число инфекций влагалища, протекающих с участием микроорганизмов из состава его нормальной микрофлоры, имеет тенденцию к росту. Наблюдаемое увеличение распространения дисбиотических состояний и, как следствие, увеличение частоты и тяжести неспецифических воспалительных заболеваний

Попкова С.М. – д.б.н., зав. лабораторией микроэкологии, e-mail: smpopkova@gmail.com

Ракова Е.Б. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории микроэкологии, e-mail: lenova_@mail.ru

Храмова Е.Е. – к.м.н., зав. отделением подростковой гинекологии клиники, e-mail: aelita-82@mail.ru

Данусевич И.И. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории гинекологии и эндокринологии клиники, e-mail: irinaemails@gmail.com

Шабанова Н.М. – младший научный сотрудник лаборатории микроэкологии, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

Сердюк Л.В. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории микроэкологии, e-mail: radugarose@yandex.ru

Немченко У.М. – младший научный сотрудник лаборатории микроэкологии, e-mail: lav0467@mail.ru

Иванова Е.И. – младший научный сотрудник лаборатории микроэкологии, e-mail: ivanova.iem@gmail.com

вульвы у девочек, вероятно, обусловлены сочетанием множества факторов: снижением общего и местного иммунитета, неоправданно широким использованием антибиотиков и т. д.

При дисбиозе влагалища отмечается уменьшение количества лактофлоры и увеличение числа условно-патогенных микроорганизмов: представителей рода *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. epidermidis*), семейств Streptococcaceae (*S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. intermedius*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*), Enterobacteriaceae (*Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Hafnia alvei*, *Serratia odorifera*). Указанные микроорганизмы, будучи потенциальными патогенами, играют ведущую роль в возникновении воспалительных заболеваний женской репродуктивной системы [3]. С современных позиций нормальную микрофлору человека рассматривают как совокупность микробиоценозов. Микроорганизмы состоят между собой в разнообразных взаимоотношениях. Изменение численности того или иного вида микроорганизмов в определенном биотопе или возникновение не свойственного данному месту обитания вида служит сигналом для адаптационных или необратимых изменений в соответствующем звене микрoэкологической системы [16]. Одним из эндогенных факторов, влияющих на дисбиотические процессы в вагинальном биотопе, является изменение состава микробиоты желудочно-кишечного тракта (резервуар микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом). Микрoэкологические нарушения в этом биотопе предрасполагают к развитию хронических заболеваний органов малого таза и впоследствии ухудшают прогноз в отношении репродуктивной функции, становясь причиной бесплодия, эктопической беременности, невынашивания беременности и внутриутробного инфицирования.

Изучение состояния кишечного биоценоза у девочек-подростков с невоспалительными заболеваниями репродуктивной сферы с целью превентивной коррекции микрофлоры и у женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта (НЭПТ) для мотивации комплексного подхода к лечению имеет большое значение [9]. Во-первых, в связи с тем, что желудочно-кишечный тракт – это важнейший элемент иммунной системы, дисбаланс в котором создает условия для развития иммунодефицитных состояний, являющихся фоном для развития хронических воспалительных заболеваний половых органов и их рецидивов; во-вторых, анатомическая близость двух биотопов способствует проникновению микроорганизмов

из кишечника во влагалище. Как правило, у 6 из 10 женщин, имеющих нарушение вагинальной микробиоты, обнаруживается также дисбиоз кишечника, а у 71 % женщин, страдающих бактериальным вагинозом, выявляется дисбиоз желудочно-кишечного тракта, т.е. эти два биотопа взаимосвязаны, и следует предположить единый дисбиотический процесс в организме с доминирующим проявлением в том или ином биотопе [1, 4, 7, 11–13].

Таким образом, данные о состоянии кишечной микрофлоры служат информативными показателями здоровья женщины, а существенные изменения в составе кишечного биоценоза требуют адекватной коррекции [9, 11, 14–16].

Цель исследования – изучить влияние дисбиотических изменений кишечной микробиоты на микробиоценоз влагалища и установить эффективность комплексной коррекции дисбиотических изменений одновременно в двух биотопах, влагалище и кишечнике, на фоне стандартной этиотропной терапии у женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 205 пациенток: 60 девочек-подростков с дисфункцией яичников и 145 женщин репродуктивного возраста с неспецифическими воспалительными заболеваниями НЭПТ, которые, в свою очередь, были разделены еще на 2 группы сравнения: 59 пациенток получили стандартную этиотропную терапию с коррекцией нарушений микробиоты влагалища, 55 пациенткам дополнительно проводилась коррекция дисбиотических изменений в кишечном биотопе. Выполненная работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучие субъектов исследования, осуществлена с информированного согласия пациентов согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 № 266, соответствует этическим нормам Хельсинкской декларации (2000 г.). Стандарт обследования включал клинико-лабораторный метод, бактериоскопический, молекулярно-биологический (ПЦР) методы и культуральный – посев из влагалища до и после проведения терапии, а также исследование микробного пейзажа толстого кишечника. Осмотр пациенток, заполнение карт обследования (жалобы, анамнез, объективные симптомы) осуществлялись врачом-гинекологом. Обследованию подлежали только пациентки, у которых после микроскопии вагинальных мазков (у женщин и у девочек-подростков), исследования отделяемого цервикального канала (только у

женщин) методами ПЦР и прямой иммунофлуоресценции на наличие инфекций, передаваемых половым путем, было исключено наличие специфической генитальной инфекции [13]. Дисфункция яичников у обследованных девочек-подростков проявлялась нарушением менструального цикла: задержкой месячных свыше 35 дней либо нерегулярными частыми менструациями через разные промежутки времени (менее 21 дня).

Бактериологическое исследование осуществлялось методом посева и выделения чистых культур микроорганизмов, что является «золотым стандартом» микробиологической диагностики. Выделенные микроорганизмы идентифицировали по общепринятым методикам с использованием классических методов и коммерческих тест-систем: СТАФИ-тест, СТРЕПТО-тест, ЭНТЕРО-тест, НЕФЕРМ-тест, АНАЭРО-тест производства «Pliva Lachema», Чехия. Оценка показателей качественного и количественного состава микрофлоры вагинального биотопа проводилась с учетом ее этиологической значимости [5]. Микробиоценоз влагалища оценивали как нормобиоз, промежуточный тип, дисбиоз, вагинит, а качественный и количественный состав основной микрофлоры толстого кишечника – по степени дисбиотических изменений в соответствии с Отраслевым стандартом [8]. Анализ комплексного микробиологического обследования двух биотопов (вагинального и кишечного) осуществлялся по наличию или отсутствию дисбиозов с определением этиологически значимых микроорганизмов и по обнаружению связей между показателями двух исследованных биотопов.

Статистическая обработка данных произведена при помощи лицензированных прикладных программ «MS Excel for Windows» и «Statgraphics» с учетом конкретных целей решавшейся задачи при критическом значении уровней значимости $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$. Состояние биоценоза оценивали показателем коэффициента постоянства (C). $C = (p \times 100)/P$, где p – число выборок, содержащих изучаемый вид, P – общее число выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты комплексного микробиологического обследования показали, что у 60,7 % обследованных девочек-подростков и у 73,3 % женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями НЭПТ репродуктивного возраста обнаруживались изменения как вагинального, так и кишечного биоценоза, эубиоз зарегистрирован только у 17,8 и 13,3 % соответственно, остальные (21,5 и 13,4 % соответственно) имели отклонения от общепринятых физиологиче-

ских норм по микробиологическим показателям в том или ином изучаемом биотопе [5, 8]. Таким образом, почти 90 % всех обследованных пациенток имели нарушения микробиоценоза кишечника, общие тенденции которых выражались в снижении плотности бифидобактерий (менее 10^8 КОЕ/г), лактобацилл (менее 10^6 КОЕ/г) при высокой обсемененности условно-патогенными микроорганизмами (более 10^4 КОЕ/г). При этом в группе взрослых женщин число лиц с диагностически значимым обсеменением исследуемого материала толстого кишечника УПМ достигало 59 % (85 чел.). Следует отметить высокое значение коэффициента постоянства (70 % случаев) по дефициту лактобацилл, сопровождающегося индикацией УПМ (более 10^4 КОЕ/г) у девочек-подростков, у которых в 20,1 % случаев (12) была установлена I степень, а в 40,6 % (24) – II степень дисбиоза кишечника. При сопоставлении двух микробиоценозов (вагинального и кишечного) мы сочли возможным ограничиться анализом наиболее важных микроорганизмов, чаще всего встречающихся в вагинальной микробиоте. В кишечном биотопе девочек-подростков и женщин с воспалительными заболеваниями НЭПТ регистрировался дисбиоз, характеризующийся дефицитом бифидобактерий, лактобацилл, нормальной кишечной палочки, суммарным выявлением УПМ, невысокой частотой высеваемости грибов рода *Candida* и коагулазонегативных стафилококков (рис. 1).

Установлено, что нарушения микробиоценоза влагалища не всегда сопровождались кишечным дисбиозом, тогда как у пациенток с дисбактериозом кишечника в 100 % случаев обнаруживались изменения вагинальной микрофлоры. Нормоценоз и промежуточный тип вагинального биоценоза чаще всего сопровождались эубиотическим состоянием кишечной микробиоты (у 22 % девочек-подростков и у 15 % женщин с воспалительными заболеваниями НЭПТ).

Негативные тенденции, характеризующие вагинальный микробиоценоз, проявлялись на фоне кишечного дисбиоза у девочек-подростков без признаков воспаления НЭПТ и усиливались у женщин с воспалением. Так, дефицит лактофлоры, регистрируемый у девочек в небольшом проценте случаев, резко возрастает у женщин (в 8 раз), суммарная выявляемость УПМ увеличивается почти в 2 раза, грибы рода *Candida* продолжают определяться у каждой пятой пациентки. Кроме того, у женщин более чем в 2 раза по сравнению с девочками повышается индикация коагулазонегативного стафилококка, являющегося важнейшим возбудителем мочевых инфек-

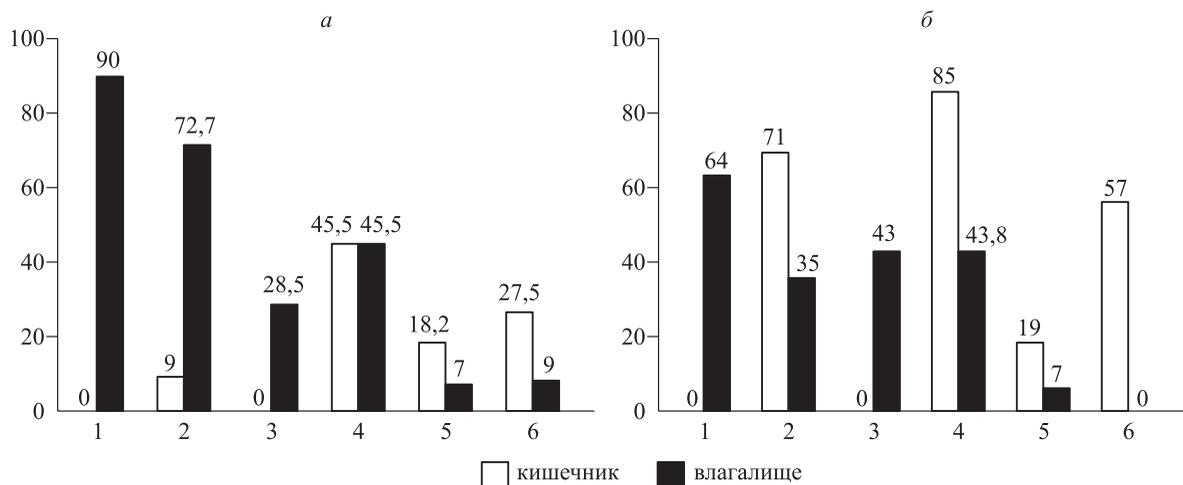


Рис. 1. Микрoэкологический профиль двух биотопов у девочек-подростков (образ жизни – «неактивный») с патологией органов репродукции (дисфункция яичников) (а) и женщин с неспецифическими воспалительными процессами репродуктивной сферы (б). 1 – дефицит бифидобактерий; 2 – дефицит лактобактерий; 3 – дефицит нормальной кишечной палочки; 4 – условно-патогенная микрофлора суммарно; 5 – грибы рода *Candida*; 6 – коагулазонегативные стафилококки



Рис. 2. Алгоритм комплексной оценки микрoэкологических нарушений и их коррекции у пациенток с неспецифическими воспалительными процессами репродуктивной сферы

ций у молодых женщин, ведущих половую жизнь (см. рис. 1).

Итак, результаты проведенного исследования у пациенток с воспалительной патологией нижних отделов полового тракта показывают изменения в двух изучаемых биотопах, связанные с контаминацией УПМ как кишечника, так и влагалища, снижением активности нормальной микрофлоры влагалища (лактобациллы), дефицитом основных симбионтов кишечника: бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью. Следует предположить существование прямого и опосредованного воздействия дисбиотических изменений в кишечном биотопе на микробиоту вла-

галища и, следовательно, значительное влияние этих изменений на этиологию и патогенез воспалительных заболеваний женской половой сферы. Таким образом, микрoэкологическая ситуация в вагинальном биотопе – следствие нарушений микробиоценоза кишечника, что свидетельствует о едином дисбиотическом процессе в организме и обуславливает максимальный риск возникновения осложнений у пациенток, имеющих сочетание дисбактериоза кишечника и бактериального вагиноза. В связи с этим алгоритм обследования и лечения больных с воспалительными заболеваниями НЭПТ должен включать исследование и адекватную коррекцию дисбиозов кишечника (рис. 2).

Прикладное значение данного алгоритма подтверждается анализом результатов лечения 145 пациенток репродуктивного возраста (20–45 лет) с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта: хронические цервициты (27 %), кольпиты (68 %), неспецифические вульвовагиниты (5 %) (по МКБ: N 72 – воспалительная болезнь шейки матки и N 76 – другие воспалительные болезни влагалища и вульвы).

Первой группе женщин проводилась местная терапия с учетом антибиотикочувствительности к неомизину, входящему в состав применяемого комбинированного препарата тержинана (тернидазол, нистатин), обладающего широким спектром противомикробного и противогрибкового действия, а также противовоспалительным и противоаллергическим эффектом за счет наличия в составе препарата преднизолона. Тержинан назначался по 1 вагинальной таблетке в сутки перед сном в течение 10 дней.

Женщинам второй группы (2) проводилась комбинированная терапия, включающая в себя местное лечение препаратом тержинан в сочетании с использованием *per os* препарата бифиформ, регулирующего равновесие кишечной микрофлоры, по 3 капсулы в день в течение 14 дней. Бактерии, входящие в состав препарата, активно колонизируют тонкую и толстую кишку и обладают заведомо высоким уровнем антибиотикорезистентности. После завершения противо-

воспалительной терапии для восстановления влагалищного микробиоценоза всем женщинам назначался препарат экофемин по 1 вагинальной капсуле дважды в сутки в течение 6 дней перед началом или сразу после окончания менструации.

Оценку эффективности диагностических и лечебных мероприятий проводили с учетом динамики субъективных жалоб, данных объективного осмотра, результатов лабораторных методов и периода ремиссии после окончания лечения женщин в сравниваемых группах (осмотр через 3 и 6 мес.; бактериологическое исследование – через 6 мес.). Так, при гинекологическом осмотре через 3 мес. у женщин с коррекцией дисбиоза кишечника жалобы сохранились только в 2 % случаев, в группе без коррекции дисбиоза кишечника – в 32 % ($p < 0,01$) (табл. 1). Кроме того, у женщин второй группы не было обнаружено признаков воспаления, в то время как у пациенток первой группы таковые регистрировались в 10 % случаев ($p < 0,01$). Через 6 мес. после проведенного лечения жалобы предъявляли 5 % женщин в группе с коррекцией дисбиоза и 43 % – в группе без коррекции ($p < 0,01$) (см. табл. 1). В основе быстрого возврата клинических проявлений в ряде случаев лежит длительное восстановление структуры тканей, связанное с иммунопатологией. Отсутствие длительной ремиссии свидетельствует о том, что учтены не все патогенетические механизмы патологического процесса.

Таблица 1

Клинические проявления у женщин с патологией нижних отделов полового тракта и эффективность лечения

Жалобы	Количество пациенток с жалобами до лечения, %/абсолютное количество	Эффективность лечения, исчезновение симптомов, %			
		Через 3 мес. после лечения		Через 6 мес. после лечения	
		1-я группа, n = 73	2-я группа, n = 72	1-я группа, n = 67	2-я группа, n = 63
Бели	91,7/133	100	100	61	92
Боли, отечность тканей НЭПТ	73,1/106	100	100	94	100
Диспареуния	35,1/51	92	100	90	100
Тяжесть внизу живота	40/58	90	100	47	100
Жжение	86,8/126	100	100	90	100
Чувство дискомфорта	17,9/26	87	100	51	98
Зуд в области НЭПТ	60,6/88	100	100	100	100
Сухость слизистой влагалища	9,6/14	92	100	34	100
Общий итог (остаточные симптомы):					
жалобы		68	98**	57	95**
признаки воспаления		90	100**	100	100

Примечание. Здесь и в табл. 2 отличие от величины соответствующего показателя группы 1 статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

Таблица 2

Микробиологические показатели вагинального биоценоза у женщин с патологией нижних отделов полового тракта и эффективность лечения

Показатель	Количество пациенток с жалобами, n = 145		
	До лечения, %/абсолютное количество	Через 6 мес. после лечения, %	
		1-я группа, n = 59	2-я группа, n = 55
Дефицит лактобацилл	71/103	20,3	7,2*
УПМ	84,8/123	16,9	0**

Примечание. УПМ – *Staphylococcus haemolyticus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Candida* spp., *Streptococcus pyogenes*, *S. oralis*.

Результаты лечения демонстрируют помимо клинического выздоровления и нормализацию влагалищного биоценоза у пациенток обеих групп. Увеличилось количество молочно-кислой микрофлоры, уменьшилось содержание представителей УПМ. При бактериологическом исследовании через 6 мес. после лечения у большинства женщин во второй группе (с коррекцией дисбиоза кишечника) отмечено увеличение плотности нормальной микрофлоры и снижение количества лиц с ее дефицитом. В первой группе дефицит лактобацилл оставался на уровне 20,3 % ($p < 0,05$). Кроме того, у пациенток второй группы не было зарегистрировано случаев превышения нормативных показателей высеваемости УПМ, а в первой группе оппортунистические микроорганизмы регистрировались в 16,9 % случаев ($p < 0,01$) (табл. 2).

Представленные данные убедительно свидетельствуют о положительной динамике клинического выздоровления и нормализации микробиологических показателей вагинального биотопа у пациенток, получавших дополнительную коррекцию кишечного дисбиоза. Лечение на основании результатов предлагаемого алгоритма обследования имеет высокую эффективность, так как позволяет учесть основные звенья патогенетического механизма развития инфекционного процесса нижних отделов полового тракта, благодаря чему повышается эффективность лечения в достижении стойкого лечебного эффекта. При этом осуществляется более корректный подбор лекарственных препаратов, в результате не требуется проведения второго этапа лечения – заместительной терапии эубиотиками. Все это позволяет сократить частоту рецидивов заболеваний, риск

хронизации воспалительного процесса и развития осложнений (в том числе репродуктивных – невынашивание беременности, бесплодие), а также снизить материальные затраты для пациентов и сроки лечения.

Таким образом, показана целесообразность исследования кишечного биотопа для своевременной превентивной коррекции микрoэкологических нарушений у девочек-подростков для профилактики воспалительных заболеваний репродуктивной сферы в дальнейшем, а единовременная комплексная коррекция вагинального и кишечного микробиоценозов при наличии этих заболеваний у женщин будет способствовать улучшению репродуктивного здоровья. Концепция комплексного подхода, сочетающего микробиологическую диагностику дисбиотических процессов в кишечном и вагинальном биотопах, своевременную коррекцию микрoэкологических нарушений одновременно в двух биотопах, профилактику дисбиозов кишечника у девочек в пубертатном периоде, позволит снизить частоту инфекционно-воспалительных заболеваний и различные акушерские осложнения, ассоциированные с ними.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуртовой Б.Л., Кулаков В.И., Воропаева С.Д. Применение антибиотиков в акушерстве и гинекологии. М.: Триада-Х, 2004. 176 с.
2. Данилова О.П., Пономаренко В.А. Микробиоценоз женских гениталий. СПб., 2000. 70 с.
3. Данусевич И.Н., Попкова С.М., Неронова Н.А. и др. Влагалищный биоценоз у женщин с репродуктивными нарушениями и вирусносительством // Санкт-Петербургские дерматологические чтения: Тез. V Рос. научно-практич. конф. с междунар. участием / Ред. Е.В. Соколовский, А.В. Самцов, К.И. Разнатовский. СПб.: Человек и его здоровье, 2011. 47–48.
4. Кира Е.Ф. Инфекции и репродуктивное здоровье (части 1–3) // Журн. акушерства и женских болезней. 1999. (2). 71–78.
5. Краснопольский В.И., Логотова Л.С., Серова О.Ф. и др. Бактериальный вагиноз. Информационно-методическое письмо. М., 2005. 24 с.
6. Майоров М.В. Бактериальный вагиноз: «что в имени тебе моем?» // Провизор. 2002. (18). http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N18/art_39.php
7. Мунбаева С.А. Оптимизация восстановительного лечения больных с бактериальным вагинозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007.
8. Отраслевой стандарт 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».

9. Попкова С.М., Ракова Е.Б., Кичигина Е.Л. Микрoэкологические сочетания вагинального и кишечного биотопов у женщин с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта // Междунар. междисциплинарный форум «Шейка матки и вульвовагинальные болезни». М.: Изд-во журнала StatusPraesens, 2012. 68–70.
10. Уварова Е.В., Латыпова Н.Х., Плиева З.А. Результаты применения Лактогина для устранения дисбиотических состояний кишечника и влагалища у девочек с хроническим вульвовагинитом // Репродуктивное здоровье детей и подростков. 2008. (4). 67–79.
11. Цизина Е.А. Микрофлора влагалища женщин при бактериальном вагинозе // Новые задачи современной медицины: Мат. междунар. заочной науч. конф. Пермь: Меркурий, 2012. 38–40.
12. Costello E., Lauber C., Hamady M. et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time // Science. 2009. 326. 1694–1697.
13. Cribby S., Taylor M., Reid I., Hindawi G. Vaginal microbiota and the use of probiotics // Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. 2008. 2008. PMID PMC2662373.
14. de Vrese M., Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2008. 111. 1–66.
15. Kinross J.M., von Roon A.C., Holmes E. et al. The human gut microbiome: implications for future health care // Curr. Gastroenterol. Rep. 2008. 10. (4). 396–403.
16. Pallen M.J. The human microbiome and host-pathogen interactions // Metagenomics of the Human Body / Ed. K.E. Nelson. Springer. 2011. 43–61.

MICROECOLOGICAL COMBINATIONS OF VAGINAL AND INTESTINAL BIOTOPES IN WOMEN WITH LOWER FEMALE REPRODUCTIVE TRACT INFLAMMANTORY DISEASES AND IN ADOLESCENTS GIRLS WITH OVARIAN DYSFUNCTION

**Sofiya Markovna POPKOVA, Elena Borisovna RAKOVA,
Elena Evgen'evna KHRAMOVA, Irina Nikolaevna DANUSEVICH,
Natal'ya Mikhajlovna SHABANOVA, Lyudmila Viktorovna SERDYUK,
Ul'yana Mikhajlovna NEMCHENKO, Elena Innokent'evna IVANOVA**

*Scientific Centere of the Family Health and Human Reproduction Problems of SB RAMS
664025, Irkutsk, Timiryazev str., 16*

Objective – to study the influence of dysbiotic changes of intestinal microbiota on vaginal microbiocenosis and to evaluate the effectiveness of complex correction of dysbiotic changes simultaneously in two biotopes: intestine and vagina on a background of basic therapy in women with nonspecific inflammatory of the lower female reproductive tract diseases. The study included 205 patients: 60 adolescent girls with ovarian dysfunction (13–15 years old) and 145 women of reproductive age (25–45 years) with nonspecific lower female reproductive tract inflammatory, which in turn were divided into 2 comparison groups: 59 patients received the standard etiotropic therapy with the correction of imbalance in the vaginal microbiocenosis; additionally the correction of dysbiotic changes in intestine was added to ongoing therapy of 55 patients. The examination included standard clinical and laboratory methods: bacterioscopic, molecular biology (PCR), vaginal discharge culture study before and after therapy, and study of the intestine microbiota. The high detection rate of clinically important opportunistic microorganisms in the vaginal biotopes in the cases of profound bifido- and lactobacterias deficiency in intestinal biotopes has been registered. The combined intestinal and vaginal biocenosis correction has shown the expressed effectiveness of the patients' treatment in comparison with the mono-correction.

Key words: vaginal microbiocenosis, intestinal biotope, correction, dysbiotic changes.

*Popkova S.M. – doctor of biological sciences, head of the laboratory for microecology,
e-mail: smpopkova@gmail.com*

*Rakova E.B. – candidate of biological sciences, researcher of the laboratory for microecology,
e-mail: lenova_@mail.ru*

*Khramova E.E. – candidate of medical sciences, head of department of adolescent gynecology,
e-mail: aelita-82@mail.ru*

*Danusevich I.N. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of endocrinology and gynecology,
e-mail: irinaemails@gmail.com*

Shabanova N.M. – junior researcher of the laboratory for microecology, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

*Serdjuk L.V. – candidate of biological sciences, researcher of the laboratory for microecology,
e-mail: radugarose@yandex.ru*

Nemchenko U.M. – junior researcher of the laboratory for microecology, e-mail: lav0467@mail.ru

Ivanova E.I. – junior researcher of the laboratory for microecology, e-mail: ivanova.iem@gmail.com

МОЧЕВАЯ КИСЛОТА И ЖЕЛЕЗО СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Иван Михайлович ПОЗДНЯКОВ, Анна Владимировна ШИРИНСКАЯ

ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

ГБУЗ НСО Новосибирский городской перинатальный центр
630089, г. Новосибирск, ул. Лежана, 32

Показано, что при беременности, осложненной артериальной гипертензией, происходит повышение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови, максимальные величины которого наблюдались при тяжелой преэклампсии. Обнаружено повышение содержания мочевой кислоты во время родов, что трактуется как возможный защитный антиоксидантный механизм, противодействующий родовому стрессу. При сравнении концентраций мочевой кислоты и железа в сыворотке крови матери и ребенка по величине первого показателя различий не обнаружено, в то время как содержание железа было выше у новорожденных, чем у матерей. Все это указывает на возможность активного переноса данных соединений от матери через плаценту к плоду. Соотношение концентраций мочевой кислоты и железа может являться показателем антиоксидантной активности урата.

Ключевые слова: мочевая кислота, железо, артериальная гипертензия, преэклампсия.

Открытие новых свойств мочевой кислоты (МК) как эндогенного сигнала опасности [10], обладающего функцией эндогенного адьюванта, распознаваемого иммунной системой [14], дало импульс для расширения спектра исследований в этой области, в том числе и в акушерстве. Оказалось, что мочевая кислота играет определенную роль при кардиоваскулярных заболеваниях [4], заболеваниях почек [11], а увеличение ее содержания в сыворотке крови может быть связано с повышенным риском развития артериальной гипертензии [12]. Артериальная гипертензия и повреждение почек – часто наблюдаемые осложнения при беременности [1]. Мочевая кислота может образовывать комплексы с железом, что сказывается на проявлении ее биологической и, в частности, антиоксидантной активности [8].

Оказалось также, что мочевая кислота наряду с антиоксидантным может оказывать и провоспалительное действие [2] – в частности, за счет активации опосредованного ядерным фактором каппа В сигнального пути [16]. Выяснение условий, при которых МК может оказывать то или иное действие, является важной научно-практической задачей. В связи с этим целью исследования послужило изучение уровня мочевой кислоты и железа при беременности, осложненной разными формами артериальной гипертензии (АГ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 117 беременных женщин в возрасте от 21 года до 30 лет третьего триместра и 30 новорожденных детей. Было выделено несколько групп, в которые вошли женщины с гипертензией I степени, развившейся до беременности ($n = 10$); женщины с гипертензией в сочетании с протеинурией (преэклампсия – 20 человек с преэклампсией средней тяжести и 14 – с тяжелой преэклампсией согласно критериям американского общества акушеров и гинекологов [17] и МКБ-10); женщины с гипертензией I степени в сочетании с ожирением II степени ($n = 10$); у 41 женщины определяли тестируемые показатели во время и после родов, а также в пуповинной крови. Контрольную группу ($n = 22$) составляли женщины с нормально протекающей беременностью третьего триместра. При определении уровня мочевой кислоты и железа (Fe^{3+}) в сыворотке крови детей эти показатели параллельно определялись и у их матерей. Обследование женщин и детей проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека»; все лица, участвующие в исследовании, дали информированное согласие на обследование.

Поздняков И.М. – д.м.н., проф., главный врач

Ширинская А.В. – врач-акушер-гинеколог женской консультации

Содержание мочевой кислоты и железа определялось с использованием стандартных наборов Bioson и Fluitest (Германия) соответственно на биохимическом анализаторе Architect C8000 (США). Перед этим проводилось полное клинико-лабораторное и ультразвуковое обследование беременных женщин. Тяжелую гиперурикемию диагностировали при превышении уровня мочевой кислоты в моче 714 мкмоль/л [15].

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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контроле, при нормально развивающейся беременности, уровень мочевой кислоты в сыворотке крови женщин в третьем триместре составлял $235,0 \pm 8,8$ мкмоль/л. При артериальной гипертензии, развившейся до беременности, статистически значимого увеличения величины показателя обнаружено не было ($289,4 \pm 48,3$ мкмоль/л). В то же время при преэклампсии средней степени тяжести содержание МК было выше, чем в контроле, в 1,5 раза ($355,0 \pm 20,4$ мкмоль/л, $p < 0,05$), а при тяжелой преэклампсии – в 2,2 раза ($507 \pm 44,5$ мкмоль/л, $p < 0,05$), т.е. степень увеличения концентрации МК может быть связана с тяжестью преэклампсии. В подтверждение этого также можно отметить, что только при тяжелой преэклампсии в 14 % случаев отмечалась тяжелая гиперурикемия. Наиболее выраженная гиперурикемия (854 мкмоль/л) при тяжелой преэклампсии сочеталась с очень высокой протеинурией, достигающей 12,62 г/л; анамнестически у данной пациентки первая и вторая беременности осложнились преэклампсией. При беременности, осложненной АГ в сочетании с ожирением, также наблюдалось повышение уровня МК относительно величины показателя женщин контрольной группы ($306,0 \pm 21,5$ мкмоль/л, $p < 0,05$). По современным понятиям для ожирения характерно низкоуровневое воспаление [5]. Отражением этого и является компенсаторно повышенный уровень МК как эндогенного антиоксиданта.

Для подтверждения последнего положения был измерен уровень МК во время родов, которые также трактуются как локальная воспалительная реакция. Оказалось, что во время родов содержание мочевой кислоты в сыворотке крови также повышается по сравнению с предродовыми показателями (рис. 1). Уровень мочевой кис-

лоты был увеличен также через 2 суток после родов, снижаясь только через 7 суток. Возрастание концентрации МК во время родов подтверждает высказанное выше положение о родах как о воспалительном процессе, увеличение же показателя через 2 суток после родов говорит о том, что продукция МК не связана с плацентой (иначе ее уровень быстро снизился бы после родоразрешения, а также на ее материнское происхождение. Содержание МК во время и после родов может быть объективным критерием состояния низкомолекулярной антиоксидантной системы, защищающей ткани от прооксидантов, в частности от пероксинитрита, связывая и удаляя который мочевая кислота предупреждает неблагоприятное действие на ткани. Кроме того, выявленное повышение продукции мочевой кислоты может свидетельствовать об противовоспалительном механизме ее действия, служащем для защиты организма матери от возможных осложнений воспалительного характера после родов.

Существуют данные, указывающие на возможность трансплацентарного перехода мочевой кислоты [7], в связи с чем было изучено ее содержание, а также параллельно уровень трехвалентного железа в сыворотке крови матери и ребенка. Оказалось, что матери и их дети по величине первого показателя не различаются, в то время как концентрация железа у новорожденных была выше (рис. 2). Полученные результаты подтверждают возможность МК проходить через плаценту, при этом, поскольку индивидуальные показатели у новорожденных иногда были выше, чем у их матерей, вероятно, обратного переноса от ребенка к матери нет. Повышенное же содержание Fe^{3+} у младенцев отражает более высокий по сравнению с материнским уровень эритропоэза.

Учитывая, что мочевая кислота способна образовывать комплексы с железом, было проанализировано содержание Fe^{3+} при высоких и низких

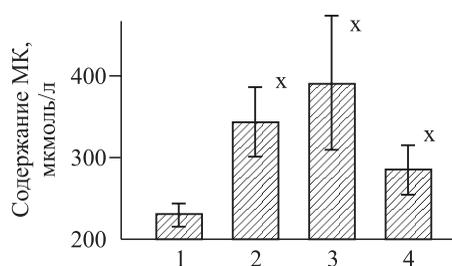


Рис. 1. Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови женщин до родов (1, $n = 22$), во время родов (2, $n = 20$), через 2 суток после родов (3, $n = 10$) и через 7 суток после родов (4, $n = 10$). $x - p < 0,05$ по сравнению с содержанием до родов

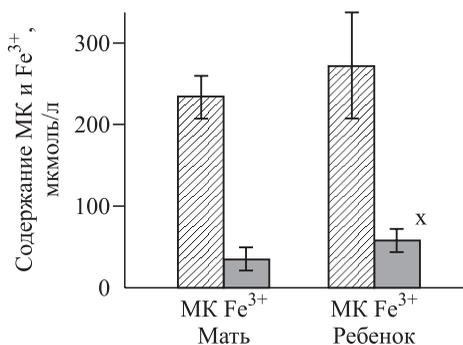


Рис. 2. Содержание мочевой кислоты и железа в сыворотке крови женщин ($n = 10$) и их детей ($n = 10$). $x - p < 0,05$

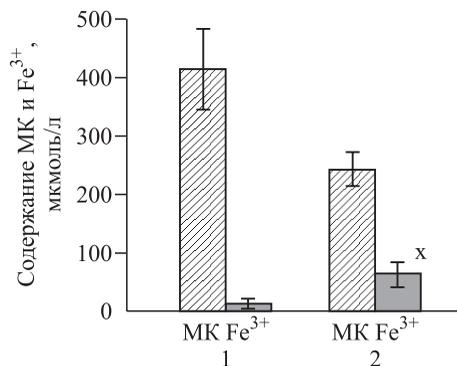


Рис. 3. Содержание железа в сыворотке крови женщин при высокой (1, $n = 10$) и низкой концентрации мочевой кислоты (2, $n = 10$). $x - p < 0,05$

концентрациях мочевой кислоты (соответственно выше и ниже нормативных показателей для нормальной беременности [3]). Оказалось, что показатели находятся в реципрокных взаимоотношениях (рис. 3). Это подтверждает способность мочевой кислоты выступать в качестве хелатора железа при беременности.

Известно, что хелаторы железа, например дефероксамин, обладают противовоспалительным действием [13] за счет ингибирования ядерного фактора каппа В, снижения экспрессии адгезионной молекулы клеток сосудов 1, а также уменьшения продукции супероксид-аниона и перекиси водорода. Поскольку дефероксамин, нагруженный железом, не тормозил вышеописанные реакции и воспаление, очевидно, что связывание железа является ключевым моментом для противовоспалительного действия хелаторов, к классу которых относится и мочевая кислота. Здесь же отметим, что связывание железа улучшает функционирование эндотелия [9], нарушения которого сопровождаются как артериальную гипертензию, так и преэклампсию [6].

Данные, указывающие на то, что не во всех случаях АГ, предшествующей беременности, наблюдалось повышение содержания МК, свидетельствуют о гетерогенности этого заболевания. Уровень МК при данной патологии может являться самостоятельным индикатором тяжести состояния, что подтверждается его нарастанием по мере утяжеления артериальной гипертензии. Возможно и то, что повышение концентрации МК может говорить о сочетанности АГ с другой патологией: так, сочетание АГ с протеинурией или с ожирением сопровождается увеличением содержания МК. Определение уровня мочевой кислоты при беременности может быть полезным для дифференцировки материнской и плацентарной патологии, что очень важно для понимания

течения беременности. Отсутствие снижения концентрации МК после родоразрешения говорит в пользу ее материнского происхождения, несмотря на то, что плацента способна образовывать МК благодаря наличию ксантиноксидоредуктазы – вероятно, ее вклад в синтез общего пула МК невелик.

Увеличение уровня МК в сыворотке крови матери при учете способности соединения проходить через плаценту к плоду [7] позволяет предполагать, что ее повышенное содержание в крови плода может вести к нарушению в системе про- и антиоксидантов, хотя нельзя исключить, что это может быть и защитным механизмом для плода.

ВЫВОДЫ

1. Повышенный уровень мочевой кислоты в сыворотке крови при беременности, осложненной артериальной гипертензией, может служить самостоятельным показателем этой патологии.
2. Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови может быть одним из показателей тяжести преэклампсии.
3. Концентрация мочевой кислоты в сыворотке матери во время и после родов характеризует состояние системы водорастворимых антиоксидантов.
4. Соотношение концентраций мочевой кислоты и железа может служить показателем антиоксидантной активности мочевой кислоты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гурьев Д.Л., Охапкин М.Б., Карпов Н.Ю., Блинов Д.В. Течение и исходы беременности, осложненной преэклампсией, в зависимости от типа центральной материнской гемодинамики // Акушерство и гинекология. 2011. (7-2). 14–19.

2. Тутов В.Н., Дмитриев В.Ф., Гуцина О.В. и др. Физико-химическая активность мочевой кислоты. Гиперурикемия – нарушение биологических функций эндоэкологии и адаптации, биологических реакций экскреции, воспаления и гидродинамического артериального давления // Успехи соврем. биол. 2011. 131. (5). 483–502.
3. Bellomo G. Serum uric acid and pre-eclampsia: an update // Expert Rev. Cardiovasc. Ther. 2012. 10. 701–705.
4. Bergamini C., Cicoira M., Rossi A., Vassanelli C. Oxidative stress and hyperuricaemia: pathophysiology, clinical relevance, and therapeutic implications in chronic heart failure // Eur. J. Heart Fail. 2009. 11. (5). 444–452.
5. Bruun J.M., Helge J.W., Richelsen B., Stallknecht B. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2006. 290. (5). E961–E967.
6. Chambers J.C., Fusi L., Malik I.S. et al. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia // J. Amer. Med. Assoc. 2001. 285. (12). 1607–1612.
7. Chang F.M., Chow S.N., Huang H.C. et al. The placental transfer and concentration difference in maternal and neonatal serum uric acid at parturition: comparison of normal pregnancies and gestosis // Biol. Res. Pregnan. Perinatol. 1987. 8. 35–39.
8. Davies K.J., Sevanian A., Muakkassah-Kelly S.F., Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant function of uric acid // Biochem. J. 1986. 235. (3). 747–754.
9. Duffy S.J., Biegelsen E.S., Holbrook M. et al. Iron chelation improves endothelial function in patients with coronary artery disease // Circulation. 2001. 103. 2799–2804.
10. Ghaemi-Oskouie F., Shi Y. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation // Curr. Rheumatol. Rep. 2011. 13. (2). 160–166.
11. Han H.J., Lim M.J., Lee J.H. et al. Uric acid inhibits renal proximal tubule cell proliferation via at least two signaling pathways involving PKC, MAPK, cPLA2, and NF- κ B // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2007. 292. (1). F373–F381.
12. Johnson R.J., Feig D.I., Herrera-Acosta J., Kang D.H. Resurrection of uric acid as a causal risk factor in essential hypertension // Hypertension. 2005. 45. 18–20.
13. Li L., Frei B. Iron chelation inhibits NF- κ B-mediated adhesion molecule expression by inhibiting p22 phox protein expression and NADPH oxidase activity // Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol. 2006. 26. 2638–2643.
14. Martinon F. Detection of immune danger signals by NALP3 // J. Leukoc. Biol. 2008. 83. (3). 507–511.
15. Messerli F.H., Frochlich E.D., Dreslinski G.R. et al. Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement // Ann. Intern. Med. 1980. 93. (6). 817–821.
16. Pennington K.A., Schlitt J.M., Jackson D.L. et al. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease // Dis. Model. Mech. 2012. 5. (1). 9–18.
17. Yang Z., Xiaohua W., Lei J. et al. Uric acid increases fibronectin synthesis through upregulation of lysyl oxidase expression in rat renal tubular epithelial cells // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2010. 299. (2). F338–F346.

URIC ACID AND IRON IN BLOOD SERUM AT ABNORMAL PREGNANCY WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Ivan Mikhaylovich POZDNAYKOV, Anna Vladimirovna SHIRINSKYA

*Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

*Novosibirsk Municipal Perinatal Centre
630089, Novosibirsk, Lezhen str., 32*

Increase of uric acid content, maximum value of which was observed at severe preeclampsia is shown at abnormal pregnancy with arterial hypertension. Increase of uric acid as antioxidant during delivery, considered to be protective mechanism against delivery stress is detected. While comparing uric acid and iron contents in mothers and newborns, approximately identical uric acid contents are observed. Iron content was higher in newborns. It can be caused by active transfer of these blood components through maternal placenta to fetus. The ratio of uric acid/iron can be considered as antioxidant activity index of urate.

Key words: uric acid, iron, arterial hypertension, preeclampsia.

*Pozdnyakov I.M. – doctor of medical sciences, professor, chief medical officer
Shirinskaya A.V. – obstetrics and gynecology doctor*

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ КОГНИТИВНЫЕ ДИСФУНКЦИИ В КАРДИОХИРУРГИИ: ПАТОГЕНЕЗ, МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КОРРЕЛЯТЫ, ДИАГНОСТИКА

Евгений Андреевич ЛЕВИН, Вадим Георгиевич ПОСТНОВ,
Анна Геннадьевна ВАСЯТКИНА, Ольга Викторовна ЖУКОВА

ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина
Минздрава России
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

В обзоре рассматриваются современные представления о патогенетических механизмах и морфофункциональных коррелятах послеоперационных когнитивных дисфункций (ПОКД) у кардиохирургических больных, анализируются преимущества и недостатки различных подходов к их диагностике. Показано увеличение относительного вклада в патогенез ПОКД общехирургических факторов и имеющихся у пациентов факторов риска. На основе анализа методов диагностики ПОКД предложены основные принципы, которых следует придерживаться при ее проведении, показана актуальность включения в тестовые батареи «правополушарных» тестов и анализа показателей, отражающих функции лобных долей.

Ключевые слова: послеоперационная когнитивная дисфункция, кардиохирургия, патогенетические механизмы, факторы риска, диагностика, нейропсихологические тесты, R300.

Совершенствование хирургической техники и методик искусственного кровообращения (ИК), а также развитие методов нейропротекции позволили за последние десятилетия существенно снизить уровень летальности и грубых неврологических осложнений даже при проведении сложных кардиохирургических операций. В связи с этим все большее внимание уделяется проблеме послеоперационных когнитивных дисфункций (ПОКД), которые, являясь более мягким проявлением неврологических нарушений, приводят, тем не менее, к значительному ухудшению качества жизни пациентов [64]. Общепринятого определения и четких диагностических критериев ПОКД до настоящего времени не выработано; их клиническими проявлениями считаются нарушения внимания, памяти, речи и других когнитивных функций, диагностируемых, как правило, с помощью нейропсихологического тестирования [3, 11, 72]. В настоящем обзоре будут рассмотрены современные представления об особенностях патогенетических механизмов развития ПОКД у кардиохирургических больных, их морфофункциональных и нейропсихологических коррелятах, а также наиболее распространенные подходы к диагностике ПОКД.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПОКД У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Факторы, влияющие на вероятность возникновения ПОКД у кардиохирургических пациентов, можно разделить на следующие основные группы [43]:

– дооперационные факторы, включая возраст, существующие заболевания, уровень образования, когнитивные функции до операции, генетическую предрасположенность, наличие депрессивных расстройств;

– факторы, связанные с операцией и периоперационным периодом, в том числе вид оперативного вмешательства, длительность ИК, эмболическая нагрузка, длительность и тип анестезии, температурный режим, интра- и периоперационные осложнения;

– послеоперационные факторы, такие как воспаление, почечно-печеночная и дыхательная недостаточность, послеоперационная боль, нарушения цикла «сон – бодрствование», использование опиоидов для анальгезии.

Кроме этого можно отметить и роль факторов, связанных с нахождением в лечебном уч-

Левин Е.А. – к.б.н., старший научный сотрудник группы нейрореаниматологии, e-mail: e.a.levin@gmail.com

Постнов В.Г. – д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель группы нейрореаниматологии, e-mail: v_postnov@nricp.ru

Васяткина А.Г. – к.м.н., научный сотрудник группы нейрореаниматологии, e-mail: a_vasyatkina@nricp.ru

Жукова О.В. – младший научный сотрудник группы нейрореаниматологии, e-mail: o_zhukova@nricp.ru

реждении – смена привычной обстановки, длительность нахождения в стационаре, частичная депривация сна (из-за шума и медицинских процедур).

Наиболее интенсивно изучались факторы операционного периода и дооперационные факторы риска, тогда как роль послеоперационных и госпитальных факторов изучена слабо.

Дооперационные факторы. *Возраст* указывается в качестве значимого фактора риска практически во всех исследованиях, где он включался в анализ [25, 38, 50, 64, 86]. К числу немногих работ, в которых эффект возраста не выявлен, относится публикация М. Woodhwan и соавторов [20]. Однако, судя по приведенным авторами данным, обследованная группа была слишком однородна по возрасту ($68,3 \pm 0,3$ года), чтобы проявился его эффект. Увеличение рисков для пожилых пациентов связывают с наличием сопутствующих заболеваний, взаимодействием анестетиков с препаратами, применяемыми для их лечения, возрастными изменениями фармакокинетики и другими факторами [11].

К *патологиям, существенно увеличивающим риск ПОКД*, относят низкую фракцию выброса левого желудочка [64, 20], хроническую почечную недостаточность [38], диабет [38, 50, 77]. Различные виды имеющихся до операции кардиоваскулярных и церебральных нарушений, а также повторность проведения кардиохирургической операции также являются предикторами повышенного риска ПОКД [10, 15]. Кроме этого существуют генетические факторы, определяющие различия в предрасположенности к ПОКД. К их числу относятся вариации генов, связанных с регуляцией воспалительного ответа (ген С-реактивного белка) и агрегации тромбоцитов (ген Р-селектина) [55]. Имелись также данные о негативной роли некоторых аллелей гена аполипопротеина Е [47], однако исследования других авторов [21, 80] не обнаружили эффекта этого гена.

Высокий уровень образования, как правило, оказывается фактором, снижающим риск развития ПОКД [64]. Обычно этот факт интерпретируется в рамках концепции когнитивного резерва [83], однако некоторую роль может играть и «эффект верхней границы» («потолка»), когда до операции обследуемые с высоким уровнем образования получают максимально возможные в тестах баллы, а послеоперационное ухудшение недостаточно сильно выражено, чтобы снизить эти показатели. В аналогичном ключе недостаточной чувствительности тестов, только уже из-за «эффекта нижней границы» («пола»), можно объяснить кажущиеся парадоксальными результаты

ряда исследований [54, 64, 70], в которых высокие дооперационные показатели в когнитивных тестах оказались предиктором послеоперационного когнитивного снижения, а также данные [20], согласно которым высокий уровень образования был связан с более сильным снижением когнитивных функций. В этих случаях у пациентов с исходно низким когнитивным уровнем показателям оказывалось уже «некуда» снижаться.

Факторы операционного периода. *Тун операции* – коррекция врожденных или приобретенных пороков сердца, операции на дуге аорты, аортокоронарное шунтирование (АКШ), эндоваскулярные вмешательства – определяет вероятность возникновения и выраженность целого ряда патогенетических факторов операционного периода, в том числе продолжительность самой операции, наличие и длительность ИК и циркуляторного ареста, риск эмболической нагрузки, продолжительность и тип анестезии и другие. Соответственно, такие операции, как клапанное протезирование и операции на дуге аорты, считаются сопряженными с наибольшим риском ПОКД, тогда как АКШ и эндоваскулярные операции относятся к менее рискованным вмешательствам [8].

Использование ИК, его длительность и количество связанных с его проведением эмболов долгое время рассматривались как одни из важнейших факторов риска для неврологических осложнений и ПОКД после кардиохирургических операций [26, 69, 86]. Однако ряд исследований последних лет не выявляет такой связи ни для длительности ИК [20], в том числе при разных типах операций [63], ни для числа эмболов, зарегистрированных в мозговых артериях [50, 63, 75]. С одной стороны, это может объясняться тем, что операции на сердце стали более «технологичными» и разброс в параметрах их проведения стал небольшим. С другой стороны, прогресс в технологиях ИК позволил снизить относительную роль связанных с ним факторов, повышая тем самым вклад общехирургических факторов риска (нестабильность гемодинамики во время операции, общая кровопотеря, труднокорректируемые ацидоз или алкалоз, электролитный и осмотический дисбаланс, продолжительность и тип анестезии, повторность операции). Действительно, ряд исследований, сравнивавших процедуры аортокоронарного шунтирования, проводившиеся с использованием и без использования ИК, не выявили достоверных различий в частоте ПОКД между этими двумя группами пациентов [50, 79] либо обнаружили такие различия только для ранней ПОКД, но не через 6 недель и 6 мес. [60]. В исследовании более 1000 пациентов, подвергавшихся

ся операциям не на сердце, проводившимся без применения ИК [59], ПОКД были обнаружены у 35,9 % из них, в том числе из подвергавшихся полостным (торакальным и абдоминальным) операциям – у 59,9 %, ортопедическим – у 40,8 %, лапароскопическим и поверхностным реконструктивным – у 10,3 %. Исследование с участием более 600 пациентов, которым выполнялось либо АКШ, либо тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава (ТЭТС), либо коронарная ангиография, и контрольной группы [25] также не выявило различий между пациентами в частоте ПОКД через 3 мес. после операции, хотя имелась тенденция к большей частоте ранней (через 7 дней после операции) ПОКД после АКШ, чем после ТЭТС. Таким образом, частота ПОКД после проводимых без применения ИК полостных и ортопедических операций, а также ангиографических процедур, оказывается близкой к частоте ПОКД после кардиохирургических вмешательств, из-за чего некоторые авторы ставят под сомнение ведущую роль связанных с ИК факторов в патогенезе ПОКД при современном технологическом уровне его осуществления. Это, однако, не означает отсутствия такой роли вообще. Так, мета-анализ исследований, сравнивавших осложнения после операций АКШ, проводившихся с использованием и без использования ИК [12] (в общей сложности более 7000 пациентов), показал, что в среднем риск инсульта во втором случае оказывается на 30 % меньше, чем в первом.

При сложных и длительных кардиохирургических операциях, таких как протезирование аортального клапана, количество эмболов и длительность ИК остаются значимыми предикторами ПОКД [87]. Следует заметить, что в данном исследовании длительность ИК варьировала от 37 до 124 минут, а среднее число зарегистрированных эмболов различалось в подгруппах пациентов более чем в 10 раз. Таким образом, для того чтобы эффект этих факторов достоверно проявился в относительно небольших группах пациентов, необходимы кратные различия в значениях соответствующих показателей.

Основными патофизиологическими механизмами возникновения повреждений мозга, связанными с выполнением ИК и приводящими к когнитивным дисфункциям, считаются эмболический и гипоперфузионный [4, 8]. Газовые, жировые и материальные эмболы и микроэмболы приводят, в зависимости от длительности блокирования кровотока и размеров, к транзиторным или перманентным, крупно- или мелкоочаговым церебральным повреждениям (отметим, что благодаря совершенствованию артериальных фильтров частота интраоперационных ишемических

инсультов, связанных с крупными эмболами, за последние десятилетия значительно снизилась). Помимо ишемии, вызванной блокированием кровотока, прохождение эмболов, как газовых, так и жировых, может приводить к повреждениям эндотелия и локальному нарушению целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), вызывающему воспаление и отек, что еще больше усугубляет ишемические повреждения [84]. Гипоперфузия во время кардиохирургической операции действует как фактор острой глобальной ишемии мозга, повреждающему воздействию которого в наибольшей мере подвержены конечные сосудистые регионы мозга – так называемые «зоны водораздела» [8]. Ишемический и гипоперфузионный механизмы взаимно усиливают действие друг друга: патогенетические эффекты (микро)эмболов сильно зависят от скорости их вымывания из кровеносного русла; гипоперфузия существенно снижает эту скорость, поэтому сочетание эмболизма и гипоперфузии во время кардиохирургической операции особенно опасно в отношении риска возникновения ПОКД и неврологических осложнений [22].

Применение методики диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии [74] показало, что повреждения мозга после кардиохирургических операций возникают гораздо чаще, чем предполагалось на основании данных компьютерной и стандартной (перфузионно-взвешенной) магнитно-резонансной томографии: в зависимости от вида операции мелкоочаговые повреждения могут обнаруживаться у от 30 до 86 % пациентов [16, 39]. В то же время такие поражения, как правило, не связаны с фокальными неврологическими дефицитами, тогда как данные относительно их связи с ПОКД противоречивы: одни авторы [39, 41] такую связь не выявляют, другие [16] считают ее вполне достоверной. Данное противоречие может объясняться как различиями между группами пациентов (разные операции, разные кардиохирургические центры), так и расхождениями в использовавшихся методах диагностики и критериях ПОКД (см. ниже).

Температурный режим операции. Обсуждение вопроса о влиянии интраоперационной гипотермии на центральную нервную систему продолжается уже несколько десятилетий [6, 7, 32, 33]. С одной стороны, снижение температуры замедляет метаболизм, сокращает потребность в кислороде, уменьшает интенсивность перекисного окисления липидов и образования свободных радикалов, ослабляет воспалительные реакции и снижает выброс возбуждающих нейромедиаторов, тем самым защищая мозг от воздействия патогенетических факторов, вызывающих ише-

мические повреждения и позволяя доводить длительность остановки кровообращения до 60 мин [6]. С другой стороны, гипотермия имеет и ряд побочных эффектов, таких как нарушение электролитного баланса, гиповолемию, изменение динамики выведения лекарственных препаратов и иммуносупрессия, увеличивающая риск инфекций [66]. Кроме того, патогенетический эффект имеют и процессы, сопровождающие согревание, особенно если оно выполняется в быстром режиме [32]. Таким образом, ответ на вопрос о применении гипотермии зависит от баланса между повреждающими воздействиями на мозг самой гипотермии и потенциальными патогенетическими эффектами оперативного вмешательства и связанных с ним факторов. К настоящему времени технологическое обеспечение кардиохирургических операций существенно снизило влияние последних, поэтому глубокая (18–20 °С) и углубленная (22–26 °С) гипотермическая защита применяется только если для выполнения операции необходима остановка кровообращения; в то же время режим мягкой гипотермии (34–35 °С), по видимому, более предпочтителен, чем нормотермия, особенно при наличии факторов риска неврологических осложнений.

Об этом свидетельствует мета-анализ влияния температурного режима операции на послеоперационные нейрокогнитивные показатели, который проведен в обзоре А.М. Grigore и соавторов [32]. Он основан на данных опубликованных в период 1994–2007 гг. 15 рандомизированных исследований (всего более 4000 пациентов) влияния температурного режима во время операционного и периоперационного периода на вероятность неврологических осложнений и нейрокогнитивные функции пациентов после операции. Различия между группами с нормо- и гипотермией в 10 из них не были выявлены, в 4 наблюдалось больше неврологических осложнений или нейрокогнитивных дисфункций в нормотермических группах и в одном отмечалось (на уровне тенденции) большая доля неврологических осложнений в группе с глубокой гипотермией (20 °С) по сравнению с группами с нормотермией и умеренной гипотермией (32 °С). Основываясь на результатах мета-анализа и собственном опыте работы, авторы дают следующие рекомендации относительно контроля температурного режима кардиохирургических операций в современных условиях: 1) необходим мониторинг назофарингеальной и тимпанальной температуры и температуры притекающей артериальной крови; 2) следует применять мягкую гипотермию (34–35 °С) при операциях у пациентов из групп с высоким риском неврологических осложнений; 3) в случае

применения гипотермии должен использоваться медленный режим согревания с отключением ИК еще в условиях мягкой гипотермии; 4) необходимо не допускать эпизодов гипертермии, особенно церебральной, в интра- и периоперационном периоде.

Гипергликемия может быть фактором риска ПОКД, поскольку усиливает повреждающие эффекты ишемии за счет активации приводящего к ацидозу лактат-продуцирующего анаэробного метаболизма [91] и усиления выброса глутамата [49], обладающего эксайтотоксическим действием, а также обостряет воспалительные реакции, в том числе за счет стимуляции выработки активных форм кислорода лейкоцитами [58]. Это является одной из причин, по которым диабет считается фактором риска ПОКД, однако интраоперационная гипергликемия часто встречается и у пациентов без диабета.

В наиболее масштабном из опубликованных на данный момент исследований эффектов гипергликемии [70] было обследовано 525 пациентов, которым проводилось АКШ, из них 145 страдали диабетом. Интраоперационная гипергликемия наблюдалась у 393 человек, отсутствовала у 132 больных, группы имели небольшие, но достоверные различия по времени ИК и пережатия аорты и числу графтов (все показатели больше у группы с гипергликемией). Обследования проводились до операции и через 6 недель после нее с использованием теста памяти Рандта, субтестов запоминания числовых рядов и шифровки цифр шкалы интеллекта Векслера, теста соединения точек (часть В) и модифицированного теста Векслера на зрительную память. На основании результатов факторного анализа показателей в тестах вычислялся индекс когнитивных функций. В качестве первичной конечной точки бралась разность между значениями этого индекса до и после операции. Кроме этого (вторичная конечная точка) рассматривался бинарный показатель «наличие/отсутствие когнитивной дисфункции», определявшийся по наличию ухудшения более чем на величину одного стандартного отклонения хотя бы по одному из когнитивных доменов. Показано, что у пациентов без диабета гипергликемия во время операции достоверно связана со снижением когнитивного индекса: доля пациентов с ПОКД составляет 40 и 29 % у больных с гипергликемией и без нее соответственно ($p = 0,017$). Для пациентов с диабетом связь между ПОКД и интраоперационной гипергликемией не выявлена.

Следует учитывать, что описанное исследование являлось наблюдательным, а не проспективным, и поэтому не позволяет сделать выводов о

наличии причинной связи между гипергликемией и ПОКД: оба явления могут являться следствием некоторых общих причин. Действительно, при сравнении исходов кардиохирургических операций, в которых использовался либо традиционный подход (введение инсулина начиналось только при превышении концентрации глюкозы 11,1 ммоль/л), либо интенсивный контроль уровня глюкозы (целевые значения в пределах 4,4–5,6 ммоль/л), не было выявлено позитивных эффектов последнего [30]. Более того, летальность и частота инсультов в послеоперационном периоде были выше в группе с интенсивным контролем глюкозы. Возможно, такой результат объясняется слишком агрессивным контролем, который мог приводить к гипокалиемии; при этом традиционный подход уже мог обеспечивать приемлемый (хотя и повышенный) уровень глюкозы. Согласно современным рекомендациям [45], желательнее придерживаться тактики «мягкого контроля»: не допускать превышения уровня гликемии 10 ммоль/л, но и не стремиться опустить ее до величины 4,5–6,5 ммоль/л.

Влияние препаратов, применяемых в периоперационном периоде. Целый ряд исследований был посвящен изучению возможных нейропротективных эффектов различных анестетиков, антиконвульсантов, препаратов с противовоспалительным и седативным действием, однако во многих случаях выявить такие эффекты не удавалось либо разные исследования давали противоречивые результаты. Так, не были обнаружены различия между группами пациентов, принимавших препарат и плацебо в проспективных рандомизированных исследованиях нейропротективного действия клонетиазола [42] и простаглицина [27]; по нимодипину имелись позитивные результаты, полученные на малой группе пациентов [29], однако последующее рандомизированное исследование [46] не подтвердило их, выявив при этом существенные побочные эффекты; для относительно малых групп пациентов [93] обнаруживались выраженные нейропротекторные свойства лидокаина, однако более масштабное рандомизированное исследование [54] не выявило таких свойств на общегрупповом уровне, хотя для малых доз в подгруппе не-диабетиков некоторый нейропротективный эффект наблюдался; в исследованиях на животных [36] показано нейропротективное действие аprotинина, но в многоцентровом сравнительном исследовании нескольких антифибринолитиков [52] аprotинин дал наибольший процент энцефалопатий, а также почечных и кардиологических осложнений.

Нейропротективные эффекты были выявлены при использовании таких анестетиков, как

тиопентал [65], S(+)-кетамин [62] и ксенон [24], а также при применении (в кардиопротективных целях) бета-адреноблокаторов [14]. В то же время вопрос об оптимальной комбинации анестетиков пока не имеет однозначного ответа, что стимулирует продолжение исследований в этой области [18].

Послеоперационные факторы. Послеоперационные осложнения, способствующие возникновению ПОКД в кардиохирургии, в значительной мере совпадают с таковыми после других операций, относящихся к «большой хирургии». В их число входят дыхательная недостаточность, почечно-печеночная недостаточность, послеоперационная боль, нарушения цикла «сон – бодрствование» и системные воспалительные реакции (СВР). В то же время вероятность возникновения таких осложнений, как дыхательная недостаточность и СВР, после кардиохирургических операций выше, чем после большинства других хирургических вмешательств.

Послеоперационная боль в качестве фактора, способствующего развитию нейрокогнитивных осложнений, не может изучаться в рандомизированных исследованиях по этическим соображениям, однако известно, что хроническая боль, активируя парасимпатическую систему, вызывает существенное повышение уровня ацетилхолина в крови. Это, в свою очередь, приводит к увеличению проницаемости ГЭБ [57] и облегчает возникновение нейровоспалительных и нейротоксических реакций. Препараты опиоидной группы, наиболее часто применяемые для купирования болевого синдрома, могут увеличивать возбудимость нейронов и приводить к нарушениям эксцитотоксического типа, однако в целом, согласно результатам немногочисленных проводившихся исследований, использование для послеоперационной анальгезии достаточных доз морфина, фентанила, или гидроморфона (но не меперидина) снижает вероятность возникновения делирия и ПОКД, особенно в старшей возрастной группе [28]. В то же время при интерпретации нейропсихологических показателей пациентов с болевым синдромом следует учитывать, что само по себе наличие боли снижает концентрацию внимания и может вследствие этого ухудшать результаты тестов, даже если сами тестируемые функции не нарушены [35].

Цикл «сон – бодрствование» после кардиохирургических операций может нарушаться вследствие длительности периода общей анестезии, сильных послеоперационных болей и сопряженного с ними использования сильнодействующих анальгетиков, обладающих седативным эффектом. В ряде работ выявлена связь между наруше-

ниями этого цикла и увеличением вероятности возникновения ПОКД. В частности, Rasmussen и соавторы [73] показали, что у пациентов с ПОКД наблюдается достоверно более «плоский» циркадианный паттерн секреции кортизола по сравнению с пациентами без ПОКД.

Системные воспалительные реакции провоцируются любыми масштабными хирургическими вмешательствами; в кардиохирургии к общеперационным факторам добавляются провоспалительные эффекты взаимодействия крови с контуром ИК. Показано, что уровень маркеров воспаления (С-реактивный белок, интерлейкины 1 β и 10) достоверно выше у пациентов с ПОКД, чем без нее; при этом у первых выше и уровень тау-протеина в сыворотке крови, что позволяет предположить значительную роль аксональных повреждений в патогенетических механизмах, связывающих воспаление и ПОКД [71]. Полностью эти механизмы еще не изучены, однако известно, что наличие в крови маркеров воспаления сопровождается увеличением активности клеток нейроглии, прежде всего астроцитов, что повышает экспрессию провоспалительных цитокинов и медиаторов. Развивающаяся нейровоспалительная реакция приводит к нарушениям на синаптическом и нейрональном уровнях, вплоть до гибели нейронов в результате апоптоза и, вследствие этого, к нейрокогнитивным дисфункциям [23]. Фактором, усиливающим нейровоспалительный ответ, является повышенная проницаемость ГЭБ, а также возрастные нейроваскулярные изменения [90]. Поскольку все возрастающая доля кардиохирургических пациентов относится к старшей возрастной группе, а увеличение проницаемости ГЭБ – одно из характерных гипоксических и постгипоксических изменений, системные воспалительные реакции являются значительным фактором риска ПОКД, а их предотвращение в периоперационном периоде играет важную роль в церебропротекции.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КОРРЕЛЯТЫ И НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКАЯ ФЕНОМЕНОЛОГИЯ ПОКД

Нам не удалось обнаружить исследований, посвященных прямым сопоставлениям областей мозга, в которых выявлены повреждения после кардиохирургической операции, и послеоперационных нейрокогнитивных дисфункций. Более того, даже работы, описывающие анатомическое распределение церебральных повреждений после операций на сердце, немногочисленны и, как правило, выполнены на небольшом числе пациентов.

По имеющимся данным [16, 39], повреждения мозга после операций на сердце с приблизительно одинаковой частотой выявляются в регионах, снабжаемых средней и передней мозговыми артериями и вертебробазилярной системой. При этом у пациентов с множественными повреждениями они, как правило, обнаруживаются одновременно в нескольких сосудистых территориях [16]. В то же время в обзоре Л.А. Бокерии и соавторов [4] приводятся результаты работ, свидетельствующие о том, что послеоперационные повреждения эмболического и гипоперфузионного генеза в наибольшей мере затрагивают височные и задние, но не лобные отделы головного мозга. Этот вывод, впрочем, в значительной мере основан на косвенных свидетельствах, в частности на ухудшении результатов нейропсихологических тестов, «нагружающих» соответствующие области. Однако поскольку лобные доли полифункциональны и надмодальны, анализ их функций представляет собой более сложную задачу, чем тестирование таких когнитивных модальностей, как память, речь, зрительное восприятие и т.д., проявляющихся в тестах «непосредственно», а информативность общепринятых показателей (число ошибок, скорость выполнения заданий) может быть недостаточной для ее решения. Такой анализ, выполненный по методу А.Р. Лурии в исследовании В.Г. Постнова и соавторов [9], показал, что симптомокомплексы, характерные для нейропсихологических дисфункций фронтального генеза, встречаются у большинства обследованных кардиохирургических пациентов, перенесших эпизоды длительного ИК; у этих же пациентов наблюдались мозжечковые и глубинные субкортикальные дисфункции. Таким образом, учитывая данные вышеуказанных нейровизуализационных исследований, можно скорее говорить о неспецифичности регионов кровоснабжения относительно церебральных нарушений, связанных с проведением кардиохирургических операций. При этом считается, что «зоны водораздела» между мозговыми артериями более подвержены ишемическим повреждениям в интра- и периоперационном периоде, чем остальные области мозга [8]. Патология таких повреждений долгое время оставалась предметом дискуссий, однако работы последних лет [53, 94] свидетельствуют, что инфаркты в корковых «зонах водораздела» наиболее часто имеют (микро) эмболическую природу, тогда как инфаркты в подкорковых областях смежного кровоснабжения преимущественно связаны с гипоперфузией, вызванной как гипотензией, так и окклюзиями нижележащих артерий. И эмболизация, и гипо-

перфузия – одни из важнейших факторов риска при операциях на сердце в условиях ИК, поэтому можно предположить, что нарушения памяти, пространственных функций, произвольного внимания и волевого контроля возникают в результате повреждений в являющихся зонами смежного кровоснабжения областях парагиппокампальной извилины, теменно-височно-затылочного сочленения, латеральной фронтальной коры и полюсов лобных долей соответственно.

По данным некоторых исследований, имеется связь между преимущественной латерализацией повреждающих факторов и развитием ПОКД. В частности, у пациентов с ПОКД скорость кровотока до операции была ниже в левой, чем в правой средней мозговой артерии, тогда как у лиц без ПОКД таких различий не было [17]. Кроме того, психомоторные и исполнительные функции оказались чувствительными к числу микроэмболов в левой, но не правой средней мозговой артерии [95]. Возможно, однако, что обнаруженная связь вызвана преимущественной «левополушарностью» самих использованных тестов: в указанных работах использовалась батарея, состоящая из теста соединения точек (варианты А и В), теста памяти с интерференцией, теста Джекобса на запоминание рядов цифр и фонематического теста на беглость речи. Действительно, по данным Л.А. Бокерии и соавторов [19], левополушарная эмболическая нагрузка связана с ухудшением вербальной, а правополушарная – невербальной памяти, которая в вышеописанных исследованиях не тестировалась. Для прояснения этого вопроса требуются исследования на больших выборках и с использованием расширенных наборов тестов, охватывающих как «левополушарные», так и «правополушарные» когнитивные модальности.

Дополнительная информация о морфофункциональных особенностях ПОКД после операций на сердце может быть получена также с помощью синдромологического анализа результатов комплексного нейропсихологического обследования пациентов по А.Р. Лурия. Такие исследования проводились в Новосибирском НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина В.Г. Постновым и соавторами [8]. Изменения высших психических функций (ВПФ) были разделены на модально-неспецифические и модально-специфические. Первые носят характер, присущий любым повреждениям мозга, в патогенезе которых присутствует фактор ишемии. Вторые более характерны для больных, перенесших острую глобальную ишемию мозга, в частности, при использовании экстракорпорального кровообращения длительностью свыше

120 мин. Модально-неспецифические изменения ВПФ детерминированы работой структур I блока мозга (ствол, медиальная височная и лобная кора, а также субкортикальные структуры и их связи). Они характеризовались сочетанием модально-неспецифических нарушений ВПФ, например, памяти, с нарушениями нейродинамики во всех сукцессивно (последовательно) организованных ВПФ. Модально-специфические расстройства максимально проявлялись в пробах на динамический праксис и ментальных пробах по механизму снижения программирования и контроля за протеканием деятельности (лобные структуры), а также в тактильных и зрительно-конструктивных дисфункциях по лево- и/или правополушарному типу (зона височно-теменно-затылочного стыка, парietoальные структуры).

В исследованиях Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева [3] также применялся набор нейропсихологических тестов – на зрительно-пространственные функции, психомоторную скорость, вербальную память и префронтальные функции. По данным этих авторов, в раннем послеоперационном периоде были выявлены нарушения, свойственные поражениям височно-теменно-затылочных областей коры мозга, в том числе снижение вербальной памяти, а также (после операций на открытом сердце) дефицитарность зрительно-пространственного конструирования и невербальной памяти. У пожилых пациентов наблюдалось также ухудшение нейродинамических показателей. Тесты на префронтальные функции не выявили послеоперационных нарушений. В отдаленном послеоперационном периоде (1–2 года) когнитивные нарушения полностью регрессировали у большинства пациентов. В целом в описанных работах получены сходные результаты; имеющиеся расхождения могут объясняться различиями в использовавшихся наборах тестов.

Таким образом, нейропсихологическая симптоматика ПОКД характеризуется, во-первых, модально-неспецифическими нарушениями, в первую очередь нейродинамической составляющей, связанными с дисфункциями I блока мозга, и, во-вторых, модально-специфическими дисфункциями, которые наиболее часто представлены когнитивными модальностями, связанными с височно-теменно-затылочными областями коры, но могут относиться и к другим когнитивным доменам и вызываться поражениями различных корковых зон. Можно предположить также, что для первой группы нарушений более характерна гипоперфузионная этиология, тогда как для второй – эмболическая.

ДИАГНОСТИКА ПОКД

Наиболее распространенным методом диагностики ПОКД являются различные тесты из арсенала нейропсихологии и поведенческой неврологии. Однако, несмотря на то, что проблема когнитивных нарушений после операций на сердце обсуждается специалистами уже несколько десятилетий, до сих пор нет общепринятого методического подхода к оценке когнитивных функций кардиохирургических пациентов. Попытка сформировать такой подход была предпринята в середине 1990-х гг.; в итоговой публикации «Утверждение консенсуса по вопросу оценки нейрокогнитивных последствий операций на сердце» [61] (далее – Консенсус) было обозначено 14 основных пунктов, которые следует учитывать при планировании исследований. В частности, подчеркивалась необходимость проводить обследования не только после, но и до операции (для учета возможных предоперационных нарушений), но при этом учитывать эффект практики, желательность включения в исследования контрольных групп, не подвергавшихся кардиохирургическому воздействию, необходимость использования тестов для разных когнитивных модальностей, учитывая при этом физические возможности пациентов и не делая тестирования слишком изматывающими. В качестве основных нейропсихологических тестов были предложены тест Рея на слухоречевое заучивание, тест соединения точек Рейтана (варианты А и Б), тест «штекерная панель» (grooved pegboard test). Однако и эти положения не стали общепризнанным руководством и подвергались критике, в том числе с точки зрения невозможности в достаточной мере учесть эффект практики при повторных тестированиях, недостаточной чувствительности предложенного минимального набора тестов [68], с одной стороны, и чрезмерной чувствительности расширенных наборов тестов, приводящей к частым ложноположительным результатам [48], с другой.

Кроме того, остается предметом дискуссий вопрос о том, какую величину изменений показателей нужно считать пороговой для заключения о наличии когнитивной дисфункции. Этот вопрос осложняется тем, что послеоперационные нарушения могут охватывать различные когнитивные модальности в зависимости от того, какие именно области мозга поражены в наибольшей степени. Поскольку, как говорилось выше, морфофункциональная специфичность нейрокогнитивных нарушений по отношению к факторам операционного периода невысока, как правило, используются различные варианты комбинированных

характеристик. К наиболее распространенным из них относятся следующие.

1. Критерий «20/20», при котором считается, что у пациента имеется ПОКД, если наблюдается ухудшение показателей не менее чем на 20 % в не менее чем 20 % тестов [51].

2. Критерий, использующий величину стандартного отклонения (SD) от группового среднего по каждому показателю, измеренному до операции. Результат теста считается достоверно ухудшившимся, если величина ухудшения превышает одно SD. Если таких тестов два или более, считается, что имеет место когнитивная дисфункция [69].

3. Усредненные показатели по отдельным когнитивным доменам или всем тестам. Для усреднения показателей, имеющих разные размерности, их предварительно нормируют. С этой целью обычно применяется z-статистика, которая вычисляется как разность между текущим показателем пациента и среднегрупповым показателем при дооперационном тестировании, деленная на величину группового SD до операции. Полученные показатели могут использоваться как для дисперсионного анализа межгрупповых различий и/или изменений при последовательных тестированиях, так и для выявления пациентов, имеющих когнитивные дисфункции, с помощью одного из описанных выше критериев [56]. В последнем случае, поскольку число доменов обычно не превышает пяти, признаком дисфункции считается ухудшение хотя бы по одному домену.

4. Статистически выявляемые факторы, соответствующие когнитивным доменам. В отличие от предыдущего варианта комбинированные характеристики и вносящие в них вклад показатели определяются не априорно, а с помощью методов факторного анализа данных, полученных в обследуемой группе пациентов [54]. Для дальнейшего анализа, проводимого аналогично описанному в предыдущем пункте, используются либо непосредственно выявленные факторы, интерпретируемые в соответствии с имеющими в них наибольшее статистические веса показателями [64], либо усредненные величины, полученные из этих показателей с использованием z-статистики.

Каждый из этих методов имеет свои недостатки и также подвергается критике. Критерий «20/20» считается слишком мягким и дающим большое число ложноположительных заключений о наличии ПОКД. Действительно, при анализе с помощью критерия «20/20» тестирование 112 здоровых добровольцев [40] по программе, аналогичной применявшейся до этого в исследовании OSTOPUS для пациентов, выявило «когнитивные дисфункции» при повторных тести-

рованиях у 28 % обследованных. Это значение мало отличалось от показателей SD, полученных в вышеуказанном исследовании в группах пациентов, подвергавшихся операции аортокоронарного шунтирования (всего 281 чел.). Поэтому при описании отдаленных результатов того же исследования [89] использовался как изначально планировавшийся критерий 20/20, так и индекс достоверных изменений (см. ниже), причем последний показатель рассматривался как основной.

Критерий «ухудшение на 1 SD не менее чем в двух тестах» также подвергается критике, в частности из-за неизбежных различий в его величине для разных исследований, поскольку для вычисления SD при этом используются разные выборки [72]. Кроме того, он подвержен «эффекту нижней границы»: возможны ситуации, когда у пациента с низкими дооперационными показателями этим критерием в принципе не может быть выявлено их ухудшение, поскольку для этого они должны принять отрицательное значение. Кроме того, оба вышеуказанных критерия не учитывают эффект практики.

Для преодоления этих недостатков при проведении Международного исследования послеоперационной когнитивной дисфункции (ISPOCD) было предложено [72] использовать «индекс достоверных изменений» (reliable change index, RCI) [37], **основная идея которого состоит** в том, что изменения показателей пациентов должны сравниваться с изменениями показателей при повторных тестированиях сопоставимой контрольной группы. С этой целью по каждому тесту для каждого пациента и контрольного испытуемого вычисляется разность между показателями в первичном и повторном обследованиях ($\Delta X = X_2 - X_1$). Затем проводится корректировка на эффект практики, для чего средние изменения показателей в контрольной группе вычитаются из изменений соответствующих показателей каждого пациента ($\Delta X_{\text{пациент, коррект}} = \Delta X_{\text{пациент}} - \Delta X_{\text{контроль}}$). Далее **скорректированные величины нормируются** путем деления на величины стандартных отклонений изменений в контрольной группе ($Z = \Delta X_{\text{пациент, коррект}} / SD(\Delta X_{\text{контроль}})$), т.е. вычисляется z-статистика. Значение того или иного показателя у пациента считается достоверно ухудшившимся, если величина Z для него оказывается менее -2 . ПОКД диагностируется, если число таких показателей не менее двух либо если усредненный по всем тестам показатель имеет значение менее -2 . Для применения RCI необходимо обследование достаточно большой контрольной группы, сопоставимой с группами пациентов, однако ее наличие в любом случае необходимо для удовлетворения требований Консенсуса.

Метод усреднения показателей по априорно выделенным доменам критикуется за то, что при этом могут усредняться статистически разнородные показатели, что ведет к «размыванию» результатов. К недостаткам факторного анализа относится зависимость набора факторов от данных в конкретной выборке, что затрудняет сравнение результатов разных исследований. На наш взгляд, оптимальным является усреднение по когнитивным доменам в сочетании с использованием факторного анализа для проверки статистической однородности выбранных доменов и возможной корректировки наборов показателей, «приписанных» к каждому домену в случае выявления их значительной неоднородности. При этом критерием наличия послеоперационной когнитивной дисфункции будет являться значение RCI менее -2 хотя бы для одного домена – если число рассматриваемых доменов не более 5, или хотя бы для двух доменов – если число доменов 6 и более.

Необходимо также обратить внимание на еще один важный аспект. Как правило, исследователи концентрируют внимание только на ухудшении нейрокогнитивных показателей после операции (о чем говорит даже сам используемый термин «дисфункция»). Однако у многих пациентов после завершения острой фазы послеоперационного периода наблюдается не ухудшение, а улучшение нейрокогнитивных функций [76]. В последние годы улучшения стали отмечаться и на групповом уровне [78, 88]. В качестве предполагаемых причин позитивных изменений называют, в первую очередь, улучшение церебральной гемодинамики, а также психологические факторы, такие как уменьшение тревожности и снижение стрессовой нагрузки после успешного завершения операции [77]. По нашему мнению, этот вопрос заслуживает подробного изучения, и для этого необходимо использование – вместо бинарных шкал вида «дисфункция имеется/отсутствует» – непрерывных количественных показателей, в том числе поведенческих (таких как скорость реакции и процент ошибок) и психо- и нейрофизиологических (например, различных параметров когнитивных вызванных потенциалов). Заметим, что применение вместо бинарных критериев непрерывных количественных показателей будет иметь, при адекватном выборе последних, еще одно важное преимущество, проявляющееся при сравнительном анализе различных групп пациентов, например, в фармакологических исследованиях: в большинстве случаев мощность статистического критерия, сравнивающего выборки непрерывно распределенной величины, оказывается выше, чем критерия, использующего частоту встречаемости значений этой величины больших

или меньших установленной границы (поскольку первый использует более полную информацию о выборке), а это означает, что в первом случае исследование может обойтись меньшим количеством обследованных, чем во втором.

Работ, делающих при оценке нейрокогнитивных изменений после кардиохирургических операций акцент на количественные поведенческие показатели, такие как время реакции и доля верных ответов, относительно немного [5, 13, 26, 81, 82]. В то же время в ряде исследований, использовавших тесты из классических нейрокогнитивных батарей, оценивалось и время реакции при их выполнении [85], либо отдельные тесты на время реакции включались в тестовую батарею [72, 89]. Изменения данных показателей, как правило, были достоверно связаны с другими признаками ПОКД [81, 82] и/или патогенетическими факторами операционного периода [5, 13, 26]. Более широкому применению тестов, использующих количественные поведенческие показатели, на наш взгляд, мешают отсутствие общепринятых стандартизованных методик их проведения, полимодальность ПОКД, требующая применения комбинированных показателей, которые на данный момент не разработаны, а также подверженность этих тестов эффекту практики (как, впрочем, и большинства нейрокогнитивных тестов).

Эффект практики слабо выражен при использовании нейрофизиологических показателей, таких как параметры электроэнцефалограммы (ЭЭГ) и вызванных потенциалов (ВП). Поскольку необходимость его учета усложняет дизайн исследований, предпринимались неоднократные попытки использования этих показателей для диагностики ПОКД.

В наименьшей мере эффект практики выражен для фоновой ЭЭГ, однако работы, в которых применялись ее характеристики (главным образом спектральная мощность в различных частотных диапазонах), немногочисленны и дают противоречивые результаты. С одной стороны, имеются данные о том, что на ЭЭГ через 1 неделю после операции снижена по сравнению с дооперационным обследованием мощность медленных ритмов (дельта, тета), а также альфа-ритма, в то время как бета-ритма увеличена, а через 2 мес. наиболее снижены мощности альфа- и бета-ритмов, тогда как мощность медленных ритмов несколько возрастает, но не достигает дооперационного уровня [85]. По данным других исследователей, через неделю после операции у взрослых имеет место увеличение мощности медленных ритмов и снижение мощности альфа-ритма [11, 96], а у детей после операции снижаются мощности альфа- и бета-ритмов и доминируют дельта- и тета-рит-

мы [34], но через полтора месяца все показатели возвращаются к дооперационным. Еще в одной работе [31] показано, что через 10–15 дней после операции у пациентов достоверно возрастает мощность бета-ритма и снижается выраженность альфа-ритма, тогда как мощность дельта-ритма не меняется, при том что в контрольной группе наблюдается ее снижение. Таким образом, единственный совпадающий в разных исследованиях результат – послеоперационное уменьшение мощности альфа-ритма. Помимо этого в тех работах, где рассматривалась частота пика мощности альфа-ритма, ее снижение было сопряжено с ПОКД. При этом, если фоновая мощность альфа-ритма характеризуется как значительной межиндивидуальной вариабельностью, так и изменчивостью в зависимости от текущего функционального состояния, т.е. вряд ли может служить надежным диагностическим критерием, то частота пика мощности альфа-ритма является более стабильной характеристикой [1], для которой к тому же показаны корреляции с эффективностью когнитивной деятельности [2]. Поэтому, на наш взгляд, из рассматривавшихся параметров фоновой ЭЭГ именно эта характеристика (точнее, ее изменения) потенциально может служить одним из симптомов ПОКД.

Когнитивные ВП, и в частности Р300, применялись для диагностики ПОКД более часто, поскольку, в отличие от фоновой ЭЭГ, непосредственно отражают нейрофизиологические процессы, связанные с решением когнитивных задач [67]. Методика Р300 имеет низкую вариабельность при повторном проведении (в исследованиях с числом испытуемых не менее 40 внутригрупповые корреляции для значений амплитуды пика Р3 составляют от 0,74 до 0,93 в рамках одной сессии и от 0,69 до 0,81 при обследованиях с интервалами от 1 недели до 2 лет; для латентностей эти показатели несколько ниже, но тоже статистически достоверны [92]), что еще больше подчеркивает ее ценность для исследования когнитивных (дис)функций. Приведем несколько примеров использования Р300 в качестве метода таких исследований в кардиохирургии.

D. Zimpfer и соавторы [97] провели проспективное исследование 32 пациентов с протезированием аортального клапана и 28 контрольных испытуемых. Пациентов обследовали на 7-й день, через 4 мес. и 3 года после операции. Когнитивные функции изучали методом Р300 (акустические стимулы). Через 7 дней после операции латентность Р300 была достоверно увеличена по сравнению с дооперационной (380 ± 32 и 361 ± 32 мс соответственно, $p < 0,0001$). Через 4 месяца (369 ± 30 мс, $p = 0,752$) и через 3 года

(370 ± 31 мс, $p = 0,825$) латентность P300 нормализовалась и не отличалась от таковой в контрольной группе. Различий между подгруппами с разными типами протезированных клапанов не обнаружено. Исследователи делают вывод, что, несмотря на существовавшие предположения о микроэмболической нагрузке, связанной с работой механического аортального клапана, в долгосрочном периоде его имплантация не оказывает негативного влияния на нейрокогнитивные функции.

В более раннем исследовании той же группы [98] сравнивались пациенты с механическими (29 человек, 52 ± 7 лет) и биологическими (53 чел., 68 ± 10 лет) протезами. Через 7 дней после операции у больных обеих групп наблюдалось высокодостоверное ($p = 0,0001$) увеличение латентностей пика P3. **Через 4 мес. латентности вернулись к дооперационному уровню в первой группе и остались увеличенными во второй.** Таким образом, у более молодых пациентов с механическими протезами нейрокогнитивный дефицит регрессирует в течение нескольких месяцев, тогда как у более пожилых пациентов с биологическими протезами он сохраняется. По мнению авторов, эту разницу в первую очередь можно объяснить возрастными особенностями, в частности большей частотой и выраженностью цереброваскулярных заболеваний и атеросклероза восходящей аорты у более старших пациентов, а не различиями между разными типами клапанов. Заметим также, что тест соединения точек, вариант А (ТСТ-А) и краткая шкала оценки психического статуса (КШОПС), использовавшиеся в этом исследовании, не выявили ни послеоперационных изменений когнитивных функций в группах пациентов, ни межгрупповых различий, что говорит о более высокой чувствительности методики P300 по сравнению с этими традиционными нейрокогнитивными тестами.

М. Grimm и соавторы [33] в аналогичном по схеме проведения исследовании с использованием P300, ТСТ-А и КШОПС сравнивали группы пациентов, которым проводилось либо протезирование митрального клапана механическим протезом (20 чел., 65 ± 14 лет), либо реконструктивная операция на митральном клапане (20 чел., 64 ± 7 лет). Обследования выполнялись до операции, на 7-й день и через 4 мес. после нее. Перед операцией больные первой и второй групп не различались по когнитивному статусу: латентности пика P3 составляли 374 ± 25 и 378 ± 46 мс ($p = 0,791$), время выполнения ТСТ-А – 57 ± 15 и 54 ± 10 с ($p = 0,552$) соответственно. После операции у больных с механическими клапанами отмечалось значимое когнитивное снижение: латент-

ности пика P3 составили 392 ± 28 мс ($p = 0,001$ по сравнению с дооперационным показателем) и 406 ± 39 мс ($p = 0,0004$), а время выполнения ТСТ-А – 65 ± 17 с ($p = 0,0001$) и 69 ± 17 с ($p = 0,0001$) соответственно на 7-й день и через 4 мес. после операции. При этом у пациентов, перенесших реконструктивные операции на клапанах, не возникало когнитивного снижения ни на 7 день, ни через 4 мес. после операции: латентности пика P3 составили 386 ± 40 мс ($p = 0,890$) и 374 ± 36 мс ($p = 0,166$), а время выполнения ТСТ-А – 53 ± 10 с ($p = 0,644$) и 54 ± 11 с ($p = 0,147$) соответственно. Межгрупповые различия наблюдались для результатов обследования через 4 месяца после операции: $p = 0,024$ и $p = 0,014$ для P300 и ТСТ-А соответственно. Авторы заключают, что у пациентов с протезированием клапана развивается значительный нейрокогнитивный дефицит, а при восстановительных операциях поражения когнитивных функций не наблюдается, не смотря на то, что интраоперационные факторы, такие как длительность ИК, в группах не различались, и делают вывод, что реконструктивные вмешательства предпочтительнее, по крайней мере в ситуациях, когда возможно использовать оба метода. Отмечена также тесная корреляция между показателями P300 и ТСТ-А ($R^2 = 0,868$, $p = 0,0001$); при этом КШОПС не выявила ни межгрупповых различий, ни достоверных изменений в группах в какой-либо из периодов наблюдения. Таким образом, и в данном случае методика P300 показала свою высокую чувствительность и надежность в качестве метода оценки нейрокогнитивного статуса.

Т. Kuniyama и соавторы [44] использовали методику P300 (на зрительные стимулы) для выявления различий между пациентами, которым выполнялось АКШ в условиях ИК (13 чел., 63 ± 5 лет), и пациентами, оперированными в условиях гипотермического циркуляторного ареста (ГЦА, 13 человек, 60 ± 10 лет, операции протезирования дуги аорты либо тромбоза легочной артерии). Обследование выполнялось до операции и через 7 дней после нее, измерялась площадь под кривой в диапазоне 280–600 мс, а также вольтаж и латентность геометрического центра соответствующей области. Также вычислялись «индексы концентрации» как отношение вышеуказанных величин для реакций на целевые и нецелевые стимулы. Было выявлено, что в группе АКШ вольтаж и площадь компонента P300, а также способность концентрироваться на значимых стимулах после операции снижаются по сравнению с дооперационным обследованием. При этом в группе ГЦА большинство этих показателей не ухудшилось, а индексы кон-

центрации для вольтажа и площади даже увеличились (улучшение); единственным ухудшением в этой группе было увеличение индекса концентрации для латентности (т. е. относительное замедление мозговых реакций на целевой стимул). Межгрупповое сравнение показало также, что послеоперационные индексы концентрации для вольтажа и площади были хуже в группе АКШ. Длительность ГЦА не оказывала влияния на изменения каких-либо параметров Р300. Учитывая, что суммарная длительность ИК в группе АКШ была меньше, чем в группе ГЦА, равно как и общая длительность операции и объем кровопотери (последние два различия недостоверны), полученные результаты выглядят в какой-то мере парадоксальными. Следует, однако, принимать во внимание малый размер обследованных групп, нестандартность использованных показателей, неоднородность группы ГЦА и возможный положительный эффект увеличения уровня оксигенации крови после легочной тромбозантерэктомии, компенсирующий негативные последствия операции. В целом же можно сделать вывод, что относительно недолгий ГЦА (28 ± 11 минут в данном исследовании) не оказал заметного негативного влияния на нейрокогнитивные функции обследованных пациентов.

Приведенные примеры демонстрируют, что изменения когнитивных ВП могут являться одним из симптомов возникновения когнитивных дисфункций и применяться в их диагностике. Еще больший потенциал может иметь применение данных показателей для межгрупповых сравнений, например, в фармакологических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом можно отметить, что во многих современных исследованиях ПОКД в кардиохирургии акцент смещается со специфических для кардиохирургической операции факторов, таких как искусственное кровообращение, к имеющимся у пациентов факторам риска, включая ассоциированные с необходимостью проведения кардиохирургической операции (например, атеросклеротическое поражение сосудов), а также общехирургическим факторам. В значительной мере это объясняется тем, что совершенствование хирургической техники и методик ИК приводит к тому, что становится возможным проведение операций у пациентов, имеющих сопутствующие осложнения и/или относящихся к старшей возрастной группе. Эта тенденция в наибольшей мере проявляется для операций, предполагающих относительно малую продолжительность ИК, таких

как АКШ, тогда как для более сложных и длительных операций, в частности клапанных протезирований и операций на дуге аорты, связанные с ИК факторы во многих случаях продолжают играть ведущую роль. Данные современных нейровизуализационных исследований указывают на то, что нейрональные повреждения, связанные с проведением кардиохирургической операции, малоспецифичны в отношении бассейнов кровоснабжения и латерализации. В то же время в результатах нейрокогнитивных тестов преобладают «левополушарные» дисфункции, характерные для нарушений работы височных и задних отделов коры. На наш взгляд, такое расхождение объясняется главным образом преобладанием в используемых исследователями батареях соответствующих тестов. Этот факт еще раз подчеркивает актуальность проблемы адекватного подбора нейрокогнитивных тестов и методик анализа их результатов, остающейся предметом дискуссий более двух десятилетий. Несмотря на то что общепринятого подхода к этому вопросу до сих пор не выработано, несколько основных принципов, которых следует придерживаться при анализе нейрокогнитивных исходов кардиохирургических операций на групповом уровне, может быть названо. Во-первых, необходимо проведение дооперационного тестирования для определения базового уровня каждого пациента. Во-вторых, для учета эффекта практики следует привлекать контрольные группы здоровых испытуемых, в которых обследования проводятся с теми же интервалами, что и у пациентов. В-третьих, желательно использовать непосредственно количественные показатели прохождения тестов, для которых возможно применение параметрических методов анализа (дисперсионный, регрессионный анализ и другие), а не дихотомические оценки исходов типа «дисфункция имеется/отсутствует». В-четвертых, нежелательно комбинирование показателей, отражающих разные когнитивные модальности в единый индекс; предпочтительным является анализ результатов отдельных тестов либо показателей, скомбинированных в рамках отдельных когнитивных модальностей. В-пятых, желательно использовать как «левополушарные», так и «правополушарные» тесты и задания либо методы анализа (например, выявление феноменов «могу – не могу» и колебаний уровня внимания), позволяющие оценивать функции лобной коры. В-шестых, представляется перспективным применение не только нейропсихологических проб, но и тестов на время реакции и нейрофизиологических методов (ЭЭГ, ВП). Подбор наиболее подходящих методик из арсенала психо- и нейрофизиологии требует дополнительных исследований в этой области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базанова О.М. Вариабельность и воспроизводимость индивидуальной частоты альфа-ритма ЭЭГ в зависимости от экспериментальных условий // Журн. высшей нервной деятельности. 2011. 61. (1). 102–111.
2. Базанова О.М., Афтанас Л.И. Успешность обучения и индивидуальные частотно-динамические характеристики альфа-активности электроэнцефалограммы // Вестн. РАМН. 2006. (6). 30–33.
3. Бокерия Л.А., Голухова Е.З., Полунина А.Г. и др. Когнитивные функции после операций с искусственным кровообращением в раннем и отдаленном послеоперационном периоде // Креативная кардиол. 2011. (2). 71–88.
4. Бокерия Л.А., Полунина А.Г., Бегачев А.В. и др. Ишемическое повреждение головного мозга в кардиохирургии: морфологические корреляты и этиологическая значимость микроэмболов и гипоперфузии // Креативная кардиол. 2008. (1). 103–114.
5. Левин Е.А., Постнов В.Г. Психофизиологические исследования в кардиохирургии // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2010. (3). 45–49.
6. Литасова Е.Е., Ломиворотов В.Н., Постнов В.Г. Бесперфузионная углубленная гипотермическая защита / Ред. Е.Н. Мешалкин. Новосибирск, 1988. 206 с.
7. Мешалкин Е.Н. (отв. ред.). Гипотермическая защита в кардиохирургии: Сб. науч. тр. Новосибирск, 1980. 323 с.
8. Постнов В.Г., Караськов А.М., Ломиворотов В.В. Неврология в кардиохирургии. Новосибирск, 2011. 287 с.
9. Постнов В.Г., Корсакова Н.К., Литасова Е.Е., Ломиворотов В.Н. Морфофункциональные механизмы нервно-психических расстройств у кардиохирургических больных, перенесших длительное экстракорпоральное кровообращение // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 1999. (1). 59–63.
10. Третьякова Т.В., Железнев С.И., Постнов В.Г. Неврологические и нейрокогнитивные функции у пациентов, оперированных по поводу приобретенных пороков сердца // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2010. (3). 56–60.
11. Шнайдер Н.А., Шпрах В.В., Салмина А.Б. Постоперационная когнитивная дисфункция (диагностика, профилактика, лечение). Красноярск: КрасГМА, 2005. 96 с.
12. Afilalo J., Rasti M., Ohayon S.M. et al. Editor's choice: Off-pump vs. on-pump coronary artery bypass surgery: an updated meta-analysis and meta-regression of randomized trials // Eur. Heart J. 2012. 33. (10). 1257–1267.
13. Ajtay Z., Kellenyi L., Hejzel L. et al. Simple and choice reaction times are prolonged following extracorporeal circulation: a potential method for the assessment of acute neurocognitive deficit // Med. Sci. Mon. 2009. 15. (9). CR470–CR476.
14. Amory D.W., Grigore A., Amory J.K. et al. Neuroprotection is associated with beta-adrenergic receptor antagonists during cardiac surgery: evidence from 2575 patients // J. Cardiothorac. Vasc. Anesth. 2002. 16. 270–277.
15. Andrell P., Jensen C., Norrsell H. et al. White matter disease in magnetic resonance imaging predicts cerebral complications after coronary artery bypass grafting // Ann. Thorac. Surg. 2005. 79. (1). 74–79.
16. Barber P.A., Hach S., Tippett L.J. et al. Cerebral ischemic lesions on diffusion-weighted imaging are associated with neurocognitive decline after cardiac surgery // Stroke. 2008. 39. (5). 1427–1433.
17. Benvenuti S.M., Zanatta P., Valfre C. et al. Preliminary evidence for reduced preoperative cerebral blood flow velocity as a risk factor for cognitive decline three months after cardiac surgery: an extension study // Perfusion. 2012. 27. (6). 486–492.
18. Bilotta F., Doronzio A., Stazi E. et al. Early postoperative cognitive dysfunction and postoperative delirium after anaesthesia with various hypnotics: study protocol for a randomised controlled trial – the PINOC-CHIO trial // Trials. 2011. 12. 170.
19. Bokeriia L.A., Golukhova E.Z., Breskina N.Y. et al. Asymmetric cerebral embolic load and postoperative cognitive dysfunction in cardiac surgery // Cerebrovasc. Dis. 2007. 23. (1). 50–56.
20. Boodhwani M., Rubens F.D., Wozny D. et al. Predictors of early neurocognitive deficits in low-risk patients undergoing on-pump coronary artery bypass surgery // Circulation. 2006. 114. (1, Suppl). I–461.
21. Bryson G.L., Wyand A., Wozny D. et al. A prospective cohort study evaluating associations among delirium, postoperative cognitive dysfunction, and apolipoprotein E genotype following open aortic repair // Can. J. Anaesth. 2011. 58. (3). 246–255.
22. Caplan L.R., Hennerici M. Impaired clearance of emboli (washout) is an important link between hypoperfusion, embolism, and ischemic stroke // Arch. Neurol. 1998. 55. (11). 1475.
23. Cerejeira J., Firmino H., Vaz-Serra A., Mukae-tova-Ladinska E.B. The neuroinflammatory hypothesis of delirium // Acta Neuropathol. 2010. 119. (6). 737–754.
24. Dickinson R., Franks N.P. Bench-to bedside review: Molecular pharmacology and clinical use of inert gases in anesthesia and neuroprotection // Crit. Care. 2010. 14. (4). 229.
25. Evered L., Scott D.A., Silbert B., Maruff P. Postoperative cognitive dysfunction is independent of type of surgery and anesthetic // Anesth. Analg. 112. (5). 1179–1185.
26. Fearn S.J., Pole R., Wesnes K. et al. Cerebral injury during cardiopulmonary bypass: emboli impair memory // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2001. 21. 1150–1160.

27. Fish K.J., Helms K.N., Sarnquist F.H. et al. A prospective, randomized study of the effects of prostacyclin on neuropsychologic dysfunction after coronary artery operation // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1987. 93. 609–615.
28. Fong H.K., Sands L.P., Leung J.M. The role of postoperative analgesia in delirium and cognitive decline in elderly patients: a systematic review // Anesth. Analg. 2006. 102. 1255–1266.
29. Forsman M., Tubylewicz-Olsnes B., Semb G., Steen P.A. Effects of nimodipine on cerebral blood flow and neuropsychological outcome after cardiac surgery // Brit. J. Anaesth. 1990. 65. 514–520.
30. Gandhi G.Y., Nuttall G.A., Abel M.D. et al. Intensive intraoperative insulin therapy versus conventional glucose management during cardiac surgery // Ann. Intern. Med. 2007. 146. (4). 233–243.
31. Golukhova E.Z., Polunina A.G., Lefterova N.P., Begachev A.V. Electroencephalography as a tool for assessment of brain ischemic alterations after open heart operations // Stroke Res. Treat. 2011. ID 980873. 14 p.
32. Grigore A.M., Murray C.F., Ramakrishna H., Djaiani G. A core review of temperature regimens and neuroprotection during cardiopulmonary bypass: does rewarming rate matter? // Anesth. Analg. 2009. 109. (6). 1741–1751.
33. Grimm M., Czerny M., Baumer H. et al. Normothermic cardiopulmonary bypass is beneficial for cognitive brain function after coronary artery bypass grafting – a prospective randomized trial // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2000. 18. 270–275
34. Hauser E., Seidl R., Rohrbach D. et al. Quantitative EEG before and after open heart surgery in children. A significant decrease in the beta and alpha2 bands postoperatively // Electroen. Clin. Neurophys. 1993. 87. (5). 284–290.
35. Heyer E., Sharma R., Winfree C. et al. Severe pain confounds neuropsychological test performance // J. Clin. Exp. Neuropsychol. 2000. 22. 633–639.
36. Iwata Y., Okamura T., Ishibashi N. et al. Optimal dose of aprotinin for neuroprotection and renal function in a piglet survival model // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2009. 137. (6). 1521–1529.
37. Jacobson N.S., Truax P. Clinical significance: a statistical approach to defining meaningful change in psychotherapy research // J. Consult. Clin. Psychol. 1991. 59. 12–19.
38. Kadoi Y., Goto F. Factors associated with postoperative cognitive dysfunction in patients undergoing cardiac surgery // Surg. today. 2006. 36. (12). 1053–1057.
39. Kahlert P., Knipp S.C., Schlamann M. et al. Silent and apparent cerebral ischemia after percutaneous transfemoral aortic valve implantation: a diffusion-weighted magnetic resonance imaging study // Circulation. 2010. 121. (7). 870–878.
40. Keith J.R., Cohen D.J., Lecci L.B. Why serial assessments of cardiac surgery patients' neurobehavioral performances are misleading // An. Thorac. Surg. 2007. 83. (2). 370–373.
41. Knipp S.C., Matatko N., Schlamann M. et al. Small ischemic brain lesions after cardiac valve replacement detected by diffusion-weighted magnetic resonance imaging: relation to neurocognitive function // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2005. 28. (1). 88–96.
42. Kong R.S., Butterworth J., Aveling W. et al. Clinical trial of neuroprotectant clomethiazole in coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial // Anesthesiology. 2002. 97. (3). 585–591.
43. Krenk L., Rasmussen L.S., Kehlet H. New insights into the pathophysiology of postoperative cognitive dysfunction // Acta Anaesth. Scand. 2010. 54. (8). 951–956.
44. Kunihara T., Tscholl D., Langer F. et al. Cognitive brain function after hypothermic circulatory arrest assessed by cognitive P300 evoked potentials // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2007. 32. (3). 507–513.
45. Lazar H.L. Glycemic control during coronary artery bypass graft surgery // ISRN Cardiology. 2012. ID 292490. 14 p.
46. Legault C., Furberg C.D., Wagenknecht L.E. et al. Nimodipine neuroprotection in cardiac valve replacement: report to an early terminated trial // Stroke. 1996. 27. 593–598.
47. Lelis R.G., Krieger J.E., Pereira A.C. et al. Apolipoprotein E4 genotype increases the risk of postoperative cognitive dysfunction in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery // J. Cardiovasc. Surg. (Torino). 2006. 47. (4). 451–456.
48. Lewis M.S., Maruff P., Silbert B.S. et al. Detection of postoperative cognitive decline after coronary artery bypass graft surgery is affected by the number of neuropsychological tests in the assessment battery // Ann. Thorac. Surg. 2006. 81. (6). 2097–2104.
49. Li P.A., Shuaib A., Miyashita H. et al. Hyperglycemia enhances extracellular glutamate accumulation in rats subjected to forebrain ischemia // Stroke. 2000. 31. 183–192.
50. Liu Y.H., Wang D.X., Li L.H. et al. The effects of cardiopulmonary bypass on the number of cerebral microemboli and the incidence of cognitive dysfunction after coronary artery bypass graft surgery // Anesth. Analg. 2009. 109. (4). 1013–1022.
51. Mahanna E.P., Blumenthal J.A., White W.D. et al. Defining neuropsychological dysfunction after coronary artery bypass grafting // Ann. Thorac. Surg. 1996. 61. 1342–1347.
52. Mangano D.T., Tudor I.C., Dietzel C. The risk associated with aprotinin in cardiac surgery // N. Engl. J. Med. 2006. 354. 353–365.
53. Mangla R., Kolar B., Almast J., Ekholm S.E. Border zone infarcts: pathophysiologic and imaging characteristics // Radiographics. 2011. 31. (5). 1201–1214.
54. Mathew J.P., Mackensen G.B., Phillips-Bute B. et al. Randomized, double-blinded, placebo controlled

study of neuroprotection with lidocaine in cardiac surgery // *Stroke*. 2009. 40. (3). 880–887.

55. Mathew J.P., Podgoreanu M.V., Grocott H.P. et al. Genetic variants in P-selectin and C-reactive protein influence susceptibility to cognitive decline after cardiac surgery // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007. 49. (19). 1934–1942.

56. McKhann G.M., Goldsborough M.A., Borowicz L.M.Jr. et al. Cognitive outcome after coronary artery bypass: a one-year prospective study // *Ann. Thorac. Surg.* 1997. 63. 510–515.

57. Meshorer E., Biton I.E., Ben-Shaul Y. et al. Chronic cholinergic imbalances promote brain diffusion and transport abnormalities // *FASEB J.* 2005. 19. (8). 910–922.

58. Mohanty P., Hamouda W., Garg R. et al. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes // *J. Clin. Endocrin. Metab.* 2000. 85. (8). 2970–2973.

59. Monk T.G., Weldon B.C., Garvan C.W. et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery // *Anesthesiology*. 2008. 108. (1). 18–30.

60. Motallebzadeh R., Bland J.M., Markus H.S. et al. Neurocognitive function and cerebral emboli: randomized study of on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery // *Ann. Thorac. Surg.* 2007. 83. (2). 475–482.

61. Murkin J.M., Newman S.P., Stump D.A., Blumenthal J.A. Statement of consensus on assessment of neurobehavioral outcomes after cardiac surgery // *Ann. Thorac. Surg.* 1995. 59. (5). 1289.

62. Nagels W., Demeyere R., van Hemelrijck J. et al. Evaluation of the neuroprotective effects of s(+)-ketamine during open-heart surgery // *Anesth. Analg.* 2004. 98. 1595–1603.

63. Neville M.J., Butterworth J., James R. et al. Similar neurobehavioral outcome after valve or coronary artery operations despite differing carotid embolic counts // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001. 121. (1). 125–136.

64. Newman M.F., Grocott H.P., Mathew J.P. et al. Report of the substudy assessing the impact of neurocognitive function on quality of life 5 years after cardiac surgery // *Stroke*. 2001. 32. 2874–2881.

65. Nussmeier N.A., Arlund C., Slogoff S. Neuropsychiatric complications after cardiopulmonary bypass: cerebral protection by a barbiturate // *Anesthesiology*. 1986. 64. 165–170.

66. Polderman K.H. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia // *Crit. Care Med.* 2009. 37. (7). S186–S202.

67. Polich J. Clinical application of the P300 event-related brain potential // *Phys. Med. Rehabil. Clin.* 2004. 15. (1). 133–161.

68. Polunina A.G. Selection of neurocognitive tests and outcomes of cardiac surgery trials // *An. Thorac. Surg.* 2008. 85. (1). 362–362.

69. Pugsley W., Klinger L., Paschalis C. et al. The impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological functioning // *Stroke*. 1994. 25. (7). 1393–1399.

70. Puskas F., Grocott H.P., White W.D. et al. Intraoperative hyperglycemia and cognitive decline after CABG // *Ann. Thorac. Surg.* 2007. 84. (5). 1467–1473.

71. Ramlawi B., Rudolph J.L., Mieno S. et al. C-Reactive protein and inflammatory response associated to neurocognitive decline following cardiac surgery // *Surgery*. 2006. 140. (2). 221–226.

72. Rasmussen L.S., Larsen K., Houx P. et al. The assessment of postoperative cognitive function // *Acta Anaesth. Scand.* 2001. 45. (3). 275–289.

73. Rasmussen L.S., O'Brien J.T., Silverstein J.H. et al. Is peri-operative cortisol secretion related to post-operative cognitive dysfunction? // *Acta Anaesth. Scand.* 2005. 49. (9). 1225–1231.

74. Restrepo L., Wityk R.J., Grega M.A. et al. Diffusion- and perfusion-weighted magnetic resonance imaging of the brain before and after coronary artery bypass grafting surgery // *Stroke*. 2002. 33. (12). 2909–2915.

75. Rodriguez R.A., Rubens F.D., Wozny D., Nathan H.J. Cerebral emboli detected by transcranial Doppler during cardiopulmonary bypass are not correlated with postoperative cognitive deficits // *Stroke*. 2010. 41. (10). 2229–2235.

76. Rosengart T.K., Sweet J.J., Finnin E. et al. Stable cognition after coronary artery bypass grafting: comparisons with percutaneous intervention and normal controls // *Ann. Thorac. Surg.* 2006. 82. (2). 597–607.

77. Selnes O.A., Goldsborough M.A., Borowicz L.M. et al. Determinants of cognitive change after coronary artery bypass surgery: a multifactorial problem // *Ann. Thorac. Surg.* 1999. 67. (6). 1669–1676.

78. Selnes O.A., Grega M.A., Borowicz L.M. et al. Cognitive outcomes three years after coronary artery bypass surgery: a comparison of on-pump coronary artery bypass graft surgery and nonsurgical controls // *Ann. Thorac. Surg.* 2005. 79. (4). 1201–1209.

79. Shroyer A.L., Grover F.L., Hattler B. et al. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery // *N. Engl. J. Med.* 2009. 361. (19). 1827–1837.

80. Silbert B.S., Evered L.A., Scott D.A., Cowie T.F. The apolipoprotein E epsilon4 allele is not associated with cognitive dysfunction in cardiac surgery // *Ann. Thorac. Surg.* 2008. 86. (3). 841–847.

81. Silbert B.S., Maruff P., Evered L.A. et al. Detection of cognitive decline after coronary surgery: a comparison of computerized and conventional tests // *Br. J. Anaesth.* 2004. 92. (6). 814–820.

82. Steinmetz J., Rasmussen L.S. Choice reaction time in patients with post-operative cognitive dysfunction // *Acta Anaesth. Scand.* 2008. 52. (1). 95–98.

83. Stern Y. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept // *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 2002. 8. (3). 448–460.

84. *Stump D.A.* Embolic factors associated with cardiac surgery // *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2005. 9. (2). 151–152.
85. *Toner I., Taylor K.M., Newman S., Smith P.L.C.* Cerebral functional changes following cardiac surgery: neuropsychological and EEG assessment // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 1998. 13. 13–20.
86. *Tuman K.J., McCarthy R.J., Najafi H. Ivankovich A.D.* Differential effects of advanced age on neurologic and cardiac risks of coronary artery operations // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1992. 104. (6). 1510.
87. *Uekermann J., Suchan B., Daum I. et al.* Neuropsychological deficits after mechanical aortic valve replacement // *J. Heart. Valve Dis.* 2005. 14. (3). 338–343.
88. *van den Goor J.M., Saxby B.K., Tijssen J.G. et al.* Improvement of cognitive test performance in patients undergoing primary CABG and other CPB-assisted cardiac procedures // *Perfusion.* 2008. 23. (5). 267–273.
89. *van Dijk D., Spoor M., Hijman R. et al.* Cognitive and cardiac outcomes 5 years after off-pump vs on-pump coronary artery bypass graft surgery // *JAMA.* 2007. 297. (7). 701–708.
90. *van Harten A.E., Scheeren T.W.L., Absalom A.R.* A review of postoperative cognitive dysfunction and neuroinflammation associated with cardiac surgery and anaesthesia // *Anaesthesia.* 2012. 66. 280–293.
91. *Vannucci R.C., Brucklacher R.M., Vannucci S.J.* The effect of hyperglycemia on cerebral metabolism during hypoxia-ischemia in the immature rat // *J. Cerebral Blood Flow Metab.* 1996. 16. 1026–1033.
92. *Walhovd K.B., Fjell A.M.* One-year test-retest reliability of auditory ERPs in young and old adults // *Int. J. Psychophysiol.* 2002. 46. (1). 29–40.
93. *Wang D., Wu X., Li J. et al.* Effect of lidocaine on early postoperative cognitive dysfunction after coronary artery bypass surgery // *Anesth. Analg.* 2002. 95. 1134–1141.
94. *Yong S.W., Bang O.Y., Lee P.H., Li W.Y.* Internal and cortical border-zone infarction clinical and diffusion-weighted imaging features // *Stroke.* 2006. 37. (3). 841–846.
95. *Zanatta P., Benvenuti S.M., Valfre C. et al.* The role of asymmetry and the nature of microembolization in cognitive decline after heart valve surgery: a pilot study // *Perfusion.* 2012. 27. (3). 199–206.
96. *Zeitlhofer J., Asenbaum S., Spiss C. et al.* Central nervous system function after cardiopulmonary bypass // *Eur. Heart J.* 1993. 14. (7). 885–890.
97. *Zimpfer D., Czerny M., Schuch P. et al.* Long-term neurocognitive function after mechanical aortic valve replacement // *Ann. Thorac. Surg.* 2006. 81. 29–33.
98. *Zimpfer D., Kilo J., Czerny M. et al.* Neurocognitive deficit following aortic valve replacement with biological/mechanical prosthesis // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2003. 23. (4). 544–551.

POSTOPERATIVE COGNITIVE DYSFUNCTIONS IN CARDIAC SURGERY: PATHOGENESIS, MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CORRELATES, DIAGNOSTICS

**Evgeniy Andreyevich LEVIN, Vadim Georgiyevich POSTNOV,
Anna Gennadyevna VASYATKINA, Olga Viktorovna ZHUKOVA**

*Academician E.N. Meshalkin Research Institute of Circulation Pathology of Minzdrav of Russia
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

The paper reviews the current understanding of the pathogenetic mechanisms and morphological and functional correlates of postoperative cognitive dysfunction (POCD) in cardiac surgery patients, analyzes the advantages and disadvantages of different approaches to their diagnostics. An increase of the relative contribution of general surgical factors and the patient's risk factors to the POCD pathogenesis is demonstrated. Basing on the analysis of POCD diagnostics methods the main principles which should be followed have been suggested and the actuality of «right-hemispheric» tests including into test batteries and analysis of the indexes reflecting the frontal lobe function has been shown.

Key words: postoperative cognitive dysfunction, cardiac surgery, pathogenetic mechanisms, risk factors, diagnosis, neuropsychological tests, P300.

*Levin E.A. – candidate of biological sciences, senior researcher of the group of neuroreanimatology,
e-mail: e.a.levin@gmail.com*

*Postnov V.G. – doctor of medical sciences, leading researcher, head of the group of neuroreanimatology,
e-mail: v_postnov@nricp.ru*

*Vasyatkina A.G. – candidate of medical sciences, researcher of the group of neuroreanimatology,
e-mail: a_vasyatkina@nricp.ru*

Zhukova O.V. – junior researcher of the group of neuroreanimatology, e-mail: o_zhukova@nricp.ru

ГОРМОНЫ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ВОЗРАСТНОЕ ОЖИРЕНИЕ У ЖЕНЩИН

**Вера Георгиевна СЕЛЯТИЦКАЯ¹, Жанна Марковна ГАЛАНОВА²,
Елена Леонидовна ПОТЕРЯЕВА², Ольга Ивановна КУЗЬМИНОВА¹,
Борис Борисович ПИНХАСОВ¹, Игорь Михайлович МИТРОФАНОВ¹**

¹ ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Цель исследования – определить у практически здоровых женщин взаимоотношения антропометрических и гормонально-биохимических параметров организма в возрастном аспекте. У 122 женщин в возрасте от 21 года до 74 лет определены рост, масса тела, объемы талии и бедер, толщина жировых складок, относительное содержание жира; в сыворотке крови измерены концентрации гормонов – лептина, адипонектина, иммунореактивного инсулина, кортизола; определены величины показателей углеводно-жирового обмена. Методом рангового корреляционного анализа охарактеризованы взаимоотношения исследованных параметров в группах женщин первого (1-я группа) и второго (2-я группа) периодов зрелого, а также пожилого (3-я группа) возрастов. Наиболее выраженный прирост величин антропометрических показателей и концентрации триглицеридов в сыворотке крови отмечен у женщин 2-й группы относительно 1-й. Концентрация лептина в сыворотке крови женщин была выше во 2-й группе относительно 1-й, и в 3-й группе относительно 2-й, но концентрация адипонектина при этом не различалась. Корреляционный анализ взаимосвязи величин расчетных антропометрических показателей, таких как индекс массы тела и отношение обхватов талии к обхвату бедер, с величинами гормонально-биохимических показателей показал, что количество статистически значимых корреляционных связей было выше во 2-й группе ($n = 10$), чем в 1-й ($n = 3$) или 3-й ($n = 1$) группах женщин. Различалась также структура корреляционных связей.

Ключевые слова: женщины, возрастные группы, индекс массы тела, отношение обхвата талии к обхвату бедер, лептин, адипонектин, углеводно-жировой обмен.

Распространенность избыточной массы тела и ожирения в настоящее время приобрела характер пандемии, которая затрагивает население не только развитых, но и развивающихся стран [14, 20, 23]. Ожирение является фактором риска развития неинфекционных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые и цереброваскулярные, диабета 2 типа, неалкогольной жировой болезни печени, некоторых типов рака и др. [7, 12, 15]. Выраженный рост распространенности ожирения отмечен не только среди взрослых, но также среди детей и подростков [16].

Причинами накопления избыточной массы тела и формирования ожирения являются избыл-

ное питание, высококалорийный рацион, низкая физическая активность, психоэмоциональные стрессы, социокультурные и другие факторы так называемого «урбанизированного стиля жизни» [10, 13]. Однако развитие ожирения сопряжено также и с возрастными физиологическими изменениями различных регуляторных и гомеостатических систем организма человека [25]. Особенно явно этот феномен прослеживается у женщин, у которых он ассоциирован со становлением, осуществлением и угасанием репродуктивной функции [3, 4]. Так, у большинства женщин с избыточной массой тела и ожирением основной причиной накопления жировой ткани является

Селятицкая В.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией эндокринологии, e-mail: csem@soramn.ru

Галанова Ж.М. – аспирант кафедры неотложной терапии с эндокринологией и профпатологией ФПК и ППВ, e-mail: sovetmedin@yandex.ru

Потеряева Е.Л. – д.м.н., проф., зав. кафедрой неотложной терапии, с эндокринологией и профпатологией ФПК и ППВ, e-mail: sovetmedin@yandex.ru

Кузьминова О.И. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории эндокринологии

Пинхасов Б.Б. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории эндокринологии

Митрофанов И.М. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогенеза соматических заболеваний

осуществление их репродуктивных возможностей, особенно в тех случаях, когда беременность заканчивается родами [3].

В последние годы накоплены новые знания о связи инсулина и инсулинорезистентности, гормонов жировой ткани лептина, адипонектина, участвующих в регуляции энергетического обмена, с развитием ожирения [8, 9, 19, 22]. Однако какова роль этих гормонов в возрастном накоплении избыточной массы жировой ткани, известно крайне мало. В этой связи целью работы было исследовать у практически здоровых женщин взаимоотношения антропометрических и гормонально-биохимических показателей в возрастном аспекте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Была сформирована репрезентативная выборка и в весенне-летний период проведено обследование 122 женщин зрелого и пожилого возрастов, проживающих в крупных промышленных городах Западной Сибири, из них 86 % женщин ($n = 104$) продолжали активно трудиться, 14 % ($n = 18$) завершили трудовую деятельность. Профессиональная деятельность женщин была связана с социальной сферой: представлены служащие корпоративных и бюджетных организаций, юристы, работники системы здравоохранения, образования и культуры. Все обследованные дали информированное согласие на участие в исследовании, которое было выполнено с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации». На момент обследования женщины не имели острых заболеваний или хронических болезней в стадии обострения. В выборку не включали лиц с тяжелой соматической патологией (заболевания сердца, сахарный диабет, бронхолегочные заболевания, гепатиты и циррозы печени, нарушения функции почек любой этиологии, артериальная гипертония II–III стадии) или после пребывания в стационаре любого типа в пределах двух месяцев до начала обследования.

Женщины были разделены на 3 возрастные группы: 1-я группа – лица первого периода зрелого возраста (21–35 лет, $n = 25$); 2-я – второго периода зрелого возраста (36–55 лет, $n = 73$); 3-я группа – пожилого возраста (56–74 года, $n = 24$) [5]. Измеряли массу тела женщин в кг, рост в см, обхват талии (ОТ) и обхват бедер (ОБ) в см; рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) как отношение массы тела к росту в квадрате ($\text{кг}/\text{м}^2$) и величину отношения ОТ/ОБ. Толщину жировой

складки на плече, спине, боку, животе и бедре измеряли калипером, рассчитывали суммарную толщину жировых складок в см. Относительное содержание жира в организме измеряли методом импедансометрии с применением прибора фирмы «OMRON» (Япония).

Биохимическое исследование включало определение содержания в сыворотке крови глюкозы, триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) с использованием коммерческих наборов фирмы «BioCon» (Германия). Иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов в сыворотке крови измеряли содержание иммунореактивного инсулина (ИРИ) (Monobind Inc., США; нормативные величины 0,7–9,0 мкЕд/мл), лептина (Diagnostic Biochem, Канада; нормативные величины 3,7–11,1 нг/мл), адипонектина (Assay Max Human Adiponectin Elisa Kit, Assaypro, США; нормативные величины 8,3–13,9 мкг/мл), кортизола («Компания Алкор Био», Санкт-Петербург; нормативные величины 150–660 нмоль/л). Рассчитывали индекс инсулинорезистентности НОМА по формуле: ИРИ (мкЕд/мл)*глюкоза плазмы натощак (ммоль/л) / 22,5.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием лицензионного пакета прикладных программ «STATISTICA» v.7.0 (StatSoft, США). Абсолютные значения исследованных показателей представлены в виде средних величин и их стандартной ошибки ($M \pm m$). Методами сравнительного анализа (ANOVA Крускала–Уоллеса и критерий множественного сравнения Ньюмена–Кейлса) выявлены особенности, а методом рангового корреляционного анализа (коэффициент ранговой корреляции Спирмена r_s) охарактеризованы взаимоотношения исследованных параметров в возрастных группах женщин. Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе использовали возрастную периодизацию, основанную на физиологических закономерностях развития организма человека в онтогенезе [5]. В понятие зрелого возраста в этой классификации заложена относительная стабильность дефинитивных параметров организма. К концу первого периода зрелого возраста (для женщин 21–35 лет) окончательно формируются типичные для лиц разного пола черты строения и психики, а во втором периоде зрелого возраста (для женщин 36–55 лет) ведущее значение приобретает ритмичность физиологических функций,

задаваемая внешними датчиками. К концу второго периода развивается комплекс изменений, характеризующих окончание репродуктивного цикла человека и наступление пожилого возраста (для женщин 56–74 года).

В табл. 1 представлены результаты измерения антропометрических показателей у женщин трех возрастных групп. Видно, что при одинаковой величине роста средние величины всех остальных показателей различались у женщин 1-й и 2-й групп, а также 1-й и 3-й групп. Ни по одному показателю статистически значимых различий между женщинами 2-й и 3-й групп выявлено не было,

хотя отмечена тенденция к их увеличению от 2-й к 3-й группе. Средняя величина индекса массы тела у женщин 1-й группы еще соответствует нормативной (менее 25 кг/м²), но уже находится на ее верхней границе; у женщин 2-й группы она соответствует избыточной массе тела, а у женщин 3-й группы – ожирению. Однако по критериям Международной федерации диабета (IDF 2005) [26] величина обхвата талии у женщин 2-й и 3-й групп уже указывает на наличие абдоминального ожирения.

В табл. 2 представлены результаты измерения содержания в сыворотке крови обследованных

Таблица 1

Антропометрические параметры организма женщин разных возрастных групп

Показатель	Группа 1 21–35 лет (n = 25)	Группа 2 36–55 лет (n = 73)	Группа 3 56–74 года (n = 24)	p ANOVA Крускала– Уоллеса	p множественные сравнения (критерий Ньюмена–Кейлса)		
					1–2	1–3	2–3
Рост, см	165,9 ± 1,4	164,5 ± 0,7	161,9 ± 1,2	0,0602	1,0000	0,0786	0,1311
Масса тела, кг	68,2 ± 2,9	77,5 ± 1,7	81,4 ± 3,2	0,0026	0,0091	0,0042	1,0000
Индекс массы тела, кг/м ²	24,72 ± 0,99	28,63 ± 0,60	31,08 ± 1,13	0,0001	0,0023	0,0001	0,2328
Обхват талии, см	76,2 ± 2,3	87,3 ± 1,4	94,8 ± 2,5	0,0000	0,0008	0,0000	0,0507
Обхват бедер, см	101,0 ± 2,2	106,9 ± 1,1	111,8 ± 2,2	0,0011	0,0215	0,0008	0,2218
Отношение обхвата талии к обхвату бедер	0,75 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,85 ± 0,01	0,0000	0,0004	0,0000	0,0947
Суммарная толщина жировых складок, см	10,4 ± 0,8	12,2 ± 0,4	14,1 ± 0,6	0,0045	0,0742	0,0006	0,0638
Относительное содержание жира, %	36,0 ± 1,6	40,1 ± 0,7	43,5 ± 1,0	0,0005	0,0482	0,0003	0,0573

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 жирным шрифтом выделены значения $p < 0,05$.

Таблица 2

Гормонально-биохимические показатели сыворотки крови женщин разных возрастных групп

Показатель (содержание)	Группа 1 21–35 лет (n = 24)	Группа 2 36–55 лет (n = 70)	Группа 3 56–74 года (n = 21)	p ANOVA Крускала– Уоллеса	p множественные сравнения (критерий Ньюмена–Кейлса)		
					1–2	1–3	2–3
Иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл	2,72 ± 1,05	5,59 ± 0,88	4,91 ± 1,43	0,0599	0,0620	0,2788	1,0000
Лептин, нг/мл	24,93 ± 3,41	34,77 ± 2,85	49,66 ± 7,11	0,0044	0,1795	0,0030	0,0917
Адипонектин, мкг/мл	10,20 ± 1,12	9,40 ± 0,93	9,86 ± 1,81	0,5335	0,8711	1,0000	1,0000
Кортизол, нмоль/л	714,1 ± 39,6	620,1 ± 26,0	642,6 ± 46,6	0,2127	0,2360	0,8635	1,0000
Глюкоза сыворотки, ммоль/л	5,13 ± 0,14	5,53 ± 0,10	5,87 ± 0,30	0,0503	0,1094	0,0722	1,0000
Индекс инсулинорезистентности НОМА, усл. ед.	0,71 ± 0,33	1,42 ± 0,23	1,49 ± 0,55	0,0718	0,0726	0,2792	1,0000
Триглицериды, ммоль/л	1,05 ± 0,09	2,15 ± 0,49	2,06 ± 0,28	0,0001	0,0004	0,0006	1,0000
Общий холестерин, ммоль/л	5,42 ± 0,22	6,24 ± 0,21	6,30 ± 0,26	0,0894	0,2191	0,1117	1,0000
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л	1,55 ± 0,11	1,43 ± 0,06	1,31 ± 0,08	0,2143	0,7023	0,2439	1,0000

женщин гормонов, а также концентрации глюкозы и липидов, характеризующие углеводно-жировой обмен. Величины содержания ИРИ в сыворотке крови, а также концентрации глюкозы в сыворотке крови натощак не различались в разных возрастных группах, соответственно, статистически значимо не менялась величина индекса инсулинорезистентности НОМА, хотя от 1-й ко 2-й группе была отмечена тенденция к ее росту. Однако у женщин и 2-й, и 3-й группы средняя величина индекса НОМА не превышала граничного значения ($> 2,77$ усл. ед.), учитываемого для выявления инсулинорезистентности [2].

С увеличением возраста становилась выше величина концентрации лептина в сыворотке крови: у женщин 3-й группы она была в 2 раза больше, чем у обследованных 1-й группы (см. табл. 2). Следует отметить, что у женщин всех трех групп концентрация лептина превышала нормативные величины этого показателя. Ранее [1] мы уже выявляли высокую частоту гиперлептинемии у жительниц северных регионов с избыточной массой тела (88 %) и ожирением (100 %). Полученные результаты позволяют говорить, что гиперлептинемия и, соответственно, лептинорезистентность [19] являются одним из механизмов возрастного накопления избыточной массы тела, причем гиперлептинемия усиливается с возрастом, о чем свидетельствует прирост концентрации лептина в 1,4 раза во 2-й группе относительно 1-й, и в 3-й группе относительно 2-й.

По концентрации адипонектина в сыворотке крови женщины разных возрастных групп не различались (см. табл. 2), хотя из литературных сведений следует, что развитие ожирения ассоциировано с гипoadипонектинемией [9]. Величины концентрации кортизола в сыворотке крови также не различались между группами. Возрастные изменения показателей липидного обмена проявились в более высокой концентрации триглицеридов в сыворотке крови женщин второго периода зрелого и пожилого возрастов: повышение было отмечено между 1-й и 2-й, а также 1-й и 3-й группами. Следует отметить, что такая динамика была характерна и для величин антропометрических показателей (см. табл. 1). При этом статистически значимых изменений концентраций общего холестерина и холестерина ЛПВП в сыворотке крови женщин разных возрастных групп отмечено не было.

В табл. 3 представлены результаты корреляционного анализа взаимосвязи величин расчетных антропометрических показателей, таких как индекс массы тела и отношение обхватов талии к обхвату бедер, с величинами гормонально-биохимических показателей у женщин разных возраст-

ных групп. Видно, что количество статистически значимых корреляционных связей существенно выше во 2-й группе женщин ($n = 10$), чем в 1-й ($n = 3$) или в 3-й ($n = 1$) возрастных группах. В 1-й группе женщин (первый период зрелого возраста) выявлены сильные корреляционные связи величины индекса массы тела с концентрациями лептина (положительная связь) и адипонектина (отрицательная связь) в сыворотке крови. Следует отметить, что корреляционных связей другого анализируемого антропометрического показателя – отношения обхвата талии к обхвату бедер – с величинами гормонально-биохимических характеристик организма выявлено не было. Следовательно, можно говорить о том, что у молодых женщин исследованные гормоны жировой ткани (адипоцитокينات) – лептин и адипонектин, принимают участие в регуляции процессов накопления массы тела, обусловленного увеличением массы преимущественно подкожной жировой ткани. Об этом же свидетельствует наличие положительной корреляционной связи индекса массы тела с концентрацией в сыворотке крови триглицеридов – основной транспортной формы жирных кислот в организме.

Во 2-й группе женщин все статистически значимые корреляционные связи гормонально-биохимических показателей с индексом массы тела дублируются аналогичными корреляционными связями с величиной отношения обхвата талии к обхвату бедер (см. табл. 3). Этот расчетный показатель характеризует накопление абдоминального жира, включая висцеральную жировую ткань, метаболически более активную, чем подкожная жировая ткань [24]. Накопление висцеральной жировой ткани играет важную роль в развитии сахарного диабета 2 типа, дислипидемий, гипертензии и атеросклероза [18]. Оба антропометрических показателя имеют корреляционные связи с концентрацией лептина, но при этом также выявлены положительные корреляционные связи с концентрациями ИРИ и глюкозы, что позволяет предполагать усиление процессов инсулинзависимого транспорта глюкозы в клетки и повышение синтеза жирных кислот из глюкозы. Отрицательные корреляционные связи антропометрических показателей с концентрацией холестерина ЛПВП указывают на негативные сдвиги в жировом обмене, а с концентрацией кортизола – на включение глюкокортикоидных гормонов в регуляцию процессов накопления жировой ткани. Отсутствие корреляционных связей антропометрических показателей с концентрацией адипонектина свидетельствует о снижении его вклада в регуляцию процессов накопления подкожной жировой ткани у женщин второго периода отно-

Таблица 3

Результаты корреляционного анализа связей антропометрических и гормонально-биохимических показателей

Показатель (содержание)	Индекс массы тела		Отношение обхвата талии к обхвату бедер	
	r_s	p	r_s	p
Группа 1 (21–35 лет)				
Иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл	0,05	0,8220	–0,01	0,9506
Лептин, нг/мл	0,74	< 0,0001	0,38	0,0715
Адипонектин, мкг/мл	–0,93	0,0025	–0,66	0,1562
Кортизол, нмоль/л	–0,14	0,5205	–0,30	0,1582
Глюкоза, ммоль/л	0,13	0,5530	0,19	0,3951
Триглицериды, ммоль/л	0,43	0,0362	0,21	0,3433
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л	–0,26	0,2142	–0,38	0,0734
Группа 2 (36–55 лет)				
Иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл	0,32	0,0072	0,45	0,0001
Лептин, нг/мл	0,52	< 0,0001	0,43	0,0003
Адипонектин, мкг/мл	–0,09	0,6849	0,11	0,5902
Кортизол, нмоль/л	–0,32	0,0062	–0,37	0,0020
Глюкоза, ммоль/л	0,35	0,0031	0,28	0,0215
Триглицериды, ммоль/л	0,07	0,5848	0,09	0,4599
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л	–0,28	0,0186	–0,24	0,0568
Группа 3 (56–74 года)				
Иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл	0,15	0,5104	0,32	0,1537
Лептин, нг/мл	0,19	0,3973	0,29	0,2091
Адипонектин, мкг/мл	–0,44	0,2715	–0,72	0,0454
Кортизол, нмоль/л	0,05	0,8355	–0,38	0,0933
Глюкоза, ммоль/л	0,17	0,4608	0,41	0,0648
Триглицериды, ммоль/л	0,30	0,1912	0,35	0,1209
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л	–0,06	0,8121	–0,42	0,0552

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции.

сительно женщин первого периода зрелого возраста [11].

В группе женщин пожилого возраста выявлена только одна отрицательная корреляционная связь – между величинами отношения обхвата талии к обхвату бедер и концентрацией адипонектина в сыворотке крови. Следовательно, в постклимактерическом периоде снижается регуляторная роль не только эстрогенов, но и гормонов, участвующих в регуляции энергетического обмена. Тот факт, что концентрация гормонов, участвующих в регуляции энергетического обмена, в крови не уменьшается, а для некоторых гормонов, например лептина, повышается, указывает, что, в отличие от эстрогенов, синтез которых в яичниках в пожилом возрасте снижен, для лептина, адипонектина, ИРИ уменьшение их регуляторной

роли обусловлено преимущественно угнетением чувствительности к ним клеток-мишеней. Аналогичные результаты были получены относительно гормонов и медиаторов симпатической нервной системы, для которых также было выявлено возрастное снижение чувствительности клеток к ее гормонам и медиаторам [21]. Таким образом, уменьшение чувствительности клеток-мишеней к гормонам, участвующим в регуляции энергетического обмена, может быть одним из механизмов развития ожирения у пожилых.

Уровень лептина в сыворотке крови пропорционален массе жира в организме [17]. Когда масса жировой ткани увеличивается, концентрация лептина в крови также повышается, ингибируя, таким образом, через центральные гипоталамические механизмы потребление пищи и повышая

энергетические траты. Полученные результаты позволяют говорить о том, что такой механизм может участвовать в регуляции энергетического обмена у женщин зрелого возраста, в то время как у пожилых женщин нарастающая лептинорезистентность снижает роль этого гормона в регуляции массы тела и массы жировой ткани.

Адипонектин также продуцируется жировой тканью, однако в отличие от лептина его концентрация в крови обратно пропорциональна количеству жировой ткани. Известно, что гиперадипонектинемия у лиц с ожирением ассоциирована с более здоровым «метаболическим фенотипом» и более низким уровнем инсулина, чем у лиц со сниженным уровнем адипонектина [11]. Она также связана с увеличением продолжительности жизни [6]. В свою очередь у лиц с ожирением концентрация адипонектина в сыворотке крови ниже, чем у лиц с должной массой тела [9]. При этом снижение концентрации циркулирующего адипонектина ассоциировано с формированием инсулинорезистентности, сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний.

Полученные нами результаты указывают, что у практически здоровых женщин второго периода зрелого возраста и пожилых женщин были выше величины индекса массы тела, отношения обхвата талии к обхвату бедер, толщины жировых складок и относительного содержания жира в организме по сравнению с молодыми женщинами первого периода зрелого возраста. Однако при этом по концентрации циркулирующего адипонектина группы не различались, и на фоне сохраняющейся концентрации этого гормона жировой ткани содержание в крови ИРИ, глюкозы, холестерина ЛПВП, а также величина индекса инсулинорезистентности НОМА менялись мало. Следовательно, можно предполагать, что адипонектин участвует в снижении риска развития возрастных нарушений метаболизма, на что указывает и обратная корреляционная связь его концентрации в сыворотке крови с величиной отношения обхвата талии к обхвату бедер у женщин пожилого возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Участие гормонов жировой ткани лептина и адипонектина в регуляции энергетического обмена у женщин имеет возрастную специфику. Если у молодых женщин первого периода зрелого возраста оба этих гормона участвуют в регуляции массы подкожного жира, то у женщин второго периода зрелого возраста и пожилых гиперлептинемия и лептинорезистентность способствуют развитию абдоминального ожирения, а адипонектин

препятствует формированию ассоциированных с абдоминальным ожирением негативных гормонально-метаболических нарушений.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК №16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинсар Е.А., Селятицкая В.Г., Лутов Ю.В. и др. Распространенность и структура метаболического синдрома у работающих женщин г. Мирного (Республика Саха (Якутия)) // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2008. (6). 30–33.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты. М., 2006. 456 с.
3. Пинхасов Б.Б., Шорин Ю.П., Скосырева Г.А., Селятицкая В.Г. Гинекологическая заболеваемость и репродуктивные возможности женщин с ожирением // Вестн. НГУ. 2010. 2. (2). 62–67.
4. Пинхасов Б.Б., Шорин Ю.П., Скосырева Г.А., Селятицкая В.Г. Характер ожирения и скорость старения у женщин с нарушениями репродуктивной функции // Успехи геронтол. 2010. 23. (4). 564–569.
5. Хрисанфова Е.Н., Перевозчиков И.В. Антропология. М., 2002. 400 с.
6. Arai Y., Takayama M., Abe Y., Hirose N. Adipokines and aging // J. Atheroscler. Thromb. 2011. 18. (7). 545–550.
7. Bahia L., Coutinho E.S.F., Barufaldi L.A. et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study // BMC Public Health. 2012. 12. 440–446.
8. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. 2011. 18. (2). 139–143.
9. Chiara T.D., Argano C., Corrao S. et al. Hypoadiponectinemia: A link between visceral obesity and metabolic syndrome // J. Nutr. Metab. 2012. ID 175245.
10. Dean J.A., Elliott S.J. Prioritizing obesity in the city // J. Urban Health: Bull. New York Acad. Med. 2011. 89. (1). 196–213.
11. Doumatey A.P., Bentley A.R., Zhou J. et al. Paradoxical hyperadiponectinemia is associated with the metabolically healthy obese (MHO) phenotype in African Americans // J. Endocrinol. Metab. 2012. 2. (2). 51–65.
12. Field A.E., Coakley E.H., Must A. et al. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period // Arch. Intern. Med. 2001. 161. (13). 1581–1586.
13. Gordon-Larsen P., Popkin B. Understanding socioeconomic and racial/ethnic status disparities in diet, exercise and weight: underlying contextual factors and pathways // J. Am. Diet Assoc. 2011. 111. (12). 1816–1819.

14. *Gutierrez-Fisac J.L., Guallar-Castillon P., Leon-Munoz L.M. et al.* Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008–2010: the ENRICA study // *Obes. Rev.* 2012. 13. (4). 388–392.
15. *Jaskiewicz K., Rzepko R., Sledzinski Z.* Fibrogenesis in fatty liver associated with obesity and diabetes mellitus type 2 // *Dig. Dis. Sci.* 2008. 53. (3). 785–788.
16. *Karnik S., Kanekar A.* Childhood obesity: a global public health crisis // *Int. J. Prev. Med.* 2012. 3. (1). 1–7.
17. *Li M.-D.* Leptin and beyond: an odyssey to the central control of body weight // *Yale J. Biol. Med.* 2011. 84. 1–7.
18. *Matsuzawa B.Y.* Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.* 2010. 86. 131–141.
19. *Myers M.G.Jr., Leibel R.L., Seeley R.J., Schwartz .W.* Obesity and leptin resistance: Distinguishing cause from effect // *Trends Endocrinol. Metab.* 2010. 21. (11). 643–651.
20. *Popkin B.M., Adair L.S., Ng S.W.* Now and then: The global nutrition transition: The pandemic of obesity in developing countries // *Nutr. Rev.* 2012. 70. (1). 3–21.
21. *Seals D.R., Bell C.* Perspectives in diabetes chronic sympathetic activation consequence and cause of age-associated obesity? // *Diabetes.* 2004. 53. 276–284.
22. *Shehzad A., Iqbal W., Shehzad O., Lee Y.S.* Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases // *Hormones (Athens).* 2012. 11. (1). 8–20.
23. *Stevens G.A., Singh G.M., Lu Y. et al.* National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences // *Popul. Health Metr.* 2012. 10. doi: 10.1186/1478-7954-10-22.
24. *Svec F., Rivera M., Huth M.* Correlation of waist to hips ratio to the prevalence of diabetes and hypertension in black females // *J. Nat. Med. Assoc.* 1990. 82. (4). 257–261.
25. *Wu C-H., Heshka S., Wang J. et al.* Truncal fat in relation to total body fat: influences of age, sex, ethnicity and fatness // *Int. J. Obes. (Lond.).* 2007. 31. (9). 1384–1391.
26. *Zimmet P., Magliano D., Matsuzawa Y. et al.* The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition // *J. Atheroscler. Thromb.* 2005. 12 (6). 295–300.

ADIPOSE TISSUE HORMONES AND AGE OBESITY IN WOMEN

**Vera Georgievna SELYATITSKAYA¹, Zhanna Markovna GALANOVA²,
Elena Leonidovna POTERYAEVA², Ol'ga Ivanovna KUZ'MINOVA¹,
Boris Borisovich PINKHASOV¹, Igor Mikhaylovich MITROFANOV¹**

¹ *Scientific Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyy av., 52*

The aim of research was to determine in healthy women the relationship of anthropometric and hormonal-biochemical parameters of organism in age aspect. In 122 women aged 21 to 74 years a growth, body mass, waist and hips circumferences, thick fat folds, relative fat content were identified; in serum concentrations of hormones – leptin, adiponectin, immunoreactive insulin, cortisol were measured; the values of carbohydrate and fat metabolism were determined. The relationship of studied parameters in the women groups of first (group 1) and second (group 2) periods of mature both with middle (group 3) ages were described by rank correlation analysis. The most pronounced increase in anthropometric variables and the concentration of triglycerides in the blood serum were observed in group 2 women with respect to group 1. The leptin concentrations in the blood serum was increased in group 2 relative to group 1 and in group 3 relative to group 2, but for all that the adiponectin concentrations in the blood serum was not changed. The correlation analysis of anthropometric parameters calculated values measures such as body mass index and waist to hip circumference ratio with the values of hormonal and biochemical parameters showed that the number of statistically significant correlations greatly higher in the group 2 ($n = 10$) than in 1 ($n = 3$) or 3 ($n = 1$) women age groups. The correlations structure was differed too.

Key words: women, age groups, body mass index, waist to hip circumferences ratio, leptin, adiponectin, carbohydrate and fat metabolism.

*Selyatitskaya V.G. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory of endocrinology,
e-mail: ccem@soramn.ru*

Galanova Zh.M. – postgraduate student of the chair of emergency therapy with endocrinology and occupational pathology of the faculty of training and retraining of physicians, e-mail: sovetmedin@yandex.ru

Poteryaeva E.L. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair of emergency therapy with endocrinology and occupational pathology of the faculty of training and retraining of physicians, e-mail: sovetmedin@yandex.ru

Kuz'minova O.I. – candidate of medical sciences, senior researcher of the laboratory of endocrinology

Pinkhasov B.B. – candidate of medical sciences, senior researcher of the laboratory of endocrinology

Mitrofanov I.M. – doctor of medical sciences, leading researcher of the laboratory of somatic diseases pathogenesis

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕДИКО-ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ И РЕАЛИЗАЦИИ МОДЕЛИ ЛАБОРАТОРИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Елена Геннадьевна ТОЦКАЯ

*АНО Региональный центр высоких медицинских технологий
630008, г. Новосибирск, ул. Кирова, 113*

Целью исследования является обоснование эффективности инновационных медико-организационных и управленческих технологий при формировании и реализации модели высокотехнологичной молекулярно-биологической лаборатории. Методами литературного, статистического и экономического анализа изучен опыт организации лабораторий в РФ и за рубежом, оценена потребность в высокотехнологичных лабораторных услугах в г. Новосибирске и Сибирском федеральном округе, обоснована инновационная модель лаборатории, реализованная в организационном эксперименте. Создание уникальной лаборатории позволит комплексно, быстро и качественно решать проблемы диагностики онкологической патологии в сибирском регионе.

Ключевые слова: молекулярно-биологические технологии, комплексная лабораторная диагностика, онкология, медико-организационные технологии, инновации в управлении.

Молекулярные диагностические технологии – важнейшее направление инновационного развития медицинской науки и ключ к решению актуальных проблем практического здравоохранения. Они наиболее наукоемки и востребованы в медицине, к их внедрению проявляют интерес крупные фармацевтические компании, производители лекарственных средств таргетного действия [9, 10]. Целью поддержки ведущими фармацевтическими компаниями качественных диагностических технологий является раннее выявление максимального числа пациентов с показаниями к назначению препаратов. Рост онкологической заболеваемости во всем мире и в РФ обусловил необходимость поиска внутриклеточных мишеней для лечения рака, появление новых молекулярно-биологических технологий воздействия на злокачественные опухоли, динамичное развитие фармацевтического рынка таргетных противоопухолевых препаратов (по данным Европейского общества гематологов ЕНА, Копенгаген, 2008). Основанием для их назначения является определение наличия доступной молекулярно-генетической мишени. Точная диагностика новообразования на молекулярном и генетическом уровне – условие успеха таргетной противоопухолевой терапии [2, 14]. В сложившейся системе организации лабораторной диагностики, как правило, отсутствуют возможности сочетания рутинных методов и уникальных технологий молекулярно-генетического анализа, в том числе

и по причине высокой затратности последних. В этой связи создание центров лабораторной диагностики, организация крупных лабораторий, построенных на принципах комплексного подхода и междисциплинарных взаимодействий с обеспечением многоуровневого референса, являются залогом качественной диагностики и успешного лечения целого спектра заболеваний, включая онкологическую и онкогематологическую патологию [13, 14]. Подобные проекты относятся к общемировым тенденциям и вполне удовлетворяют концептуальным направлениям развития здравоохранения и медицинской науки РФ [1, 6, 7], где важнейшим элементом является определение востребованности медицинских технологий, в частности, диагностических [3, 8], позволяющих выявлять распространенность патологических поражений у населения на ранних стадиях заболеваний [5]. Методические подходы к определению востребованности медицинских технологий в амбулаторно-поликлиническом звене и при оказании стационарной помощи отчасти представлены в ряде работ [4, 11, 12]. Однако в них не отражена потребность в высокотехнологичных инновационных технологиях.

Целью исследования является обоснование эффективности использования инновационных медико-организационных и управленческих технологий при формировании и реализации модели высокотехнологичной молекулярно-биологической лаборатории.

Тоцкая Е.Г. – к.м.н., директор по развитию, e-mail: ETockaya@niito.ru

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В ходе исследования с использованием литературного анализа решались задачи изучения опыта организации высокотехнологичных лабораторий, обслуживающих сеть лечебных учреждений в РФ и за рубежом. Методы статистического и экономического анализа позволили оценить потребность в высокотехнологичных лабораторных диагностических услугах в г. Новосибирске и Сибирском федеральном округе (СФО), произвести предпроектные расчеты и обосновать инновационную модель молекулярно-биологической лаборатории, построенной на принципах междисциплинарных взаимодействий. Применение методов организационного эксперимента и моделирования позволили реализовать инновационный проект создания уникальной лаборатории комплексной молекулярно-биологической диагностики онкологических заболеваний в сибирском регионе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет потребности в медицинских услугах по высокотехнологичной морфологической и молекулярно-биологической диагностике в городах СФО (25 млн жителей), основанный на данных первичной заболеваемости (250–300 больных на 100 тыс. населения в год – опухоли, 1,0–1,5 тыс. человек на 100 тыс. населения в год – предопухолевые состояния, 4,0–5,5 тыс. на 100 тыс. населения в год – реактивные изменения), показал, что в них нуждаются порядка 1,5–2 млн человек ежегодно. По данным статистики, за год в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) г. Новосибирска проводят около 200 тысяч операционных и пункционных биопсий. Доминируют низкотехнологичные методы исследования материала, при этом в 10–25 % случаев остается неизвестным или сомнительным вариант опухолевого процесса. В настоящее время в регионе нет ни одной лаборатории, владеющей всем комплексом технологий морфологической и молекулярной диагностики опухолей. Основной причиной такой ситуации является многолетний остаточный принцип финансирования и недостаток квалифицированных кадров в диагностическом звене. Необходимость решения актуальных медико-социальных проблем сегодняшнего дня, связанных с отсутствием комплексного этапного подхода к диагностике онкологических, гематологических, онкогематологических заболеваний, персональной ответственности за качество и достоверность результатов обследований, взаимосвязи и взаимодействия клинического и диагностического этапов в ведении данной группы пациентов (разрозненность специалистов различных уровней и

направлений в решении проблем пациентов по диагностике и контролю качества лечения значимой патологии) явились предпосылками к мобилизации усилий по созданию на медицинском рынке СФО структуры, выполняющей морфологические, молекулярно-биологические диагностические и научные исследования, оказывающей консультативно-методические услуги. В качестве способа решения проблемы была предложена реализация проекта создания региональной лаборатории морфологической и молекулярно-биологической диагностики опухолевых заболеваний и патологии крови с использованием инновационных медико-организационных подходов. Основным принципом организации лаборатории стало объединение методов морфологического, генетического и молекулярно-биологического исследований в технологическую линейку в рамках единой лаборатории с комиссионным принципом подготовки заключения о диагнозе. Модель организации предусматривает использование технологий от базовых через специальные к эксклюзивным и высокотехнологичным. Для решения клинико-диагностических задач интегрируются ведущие специалисты различных профилей, реализуя междисциплинарный подход.

В 2009 году сформировался необходимый комплекс условий для организации в г. Новосибирске высокотехнологичной региональной референс-лаборатории морфологической и молекулярно-биологической диагностики опухолей, предопухолевых заболеваний и патологии крови. На предпроектном этапе, предшествующем открытию лаборатории, обследовано более 3,5 тыс. человек (опыт производства и реализации услуг по иммуноморфологической диагностике с 2000 г.), создан коллектив эксклюзивных специалистов, сформирована сеть ЛПУ-партнеров в городе, Новосибирской области и СФО, налажены устойчивые связи с корпоративными клиентами (фармацевтические компании – производители препаратов таргетного действия), получено дорогостоящее оборудование и реактивы. Была сформирована концепция развития и найдена модель лаборатории с учетом опыта ведущих зарубежных клиник, в частности, «зеркального» аналога – лаборатории диагностики опухолей клиники Барселонского университета. Центр обеспечен методической поддержкой ведущих гематологических и онкологических центров Москвы, Санкт-Петербурга, кафедр Новосибирского и Барнаульского медицинских университетов, главных специалистов Департаментов здравоохранения городского и областного уровней, финансовой поддержкой государственных структур, государственных внебюджетных фондов.

Региональный центр высоких медицинских технологий (РЦВМТ) функционирует в соответствии с лицензией, внешними нормативными актами, внутриучрежденческими документами, утвержденной организационной структурой и штатами, планом развития, документацией системы менеджмента качества. Организационная структура и порядок взаимодействия функциональных подразделений лаборатории РЦВМТ представлены на рис. 1.

Организационная работа строится в соответствии с нормативными документами: Международный стандарт ИСО 9000 «Системы менеджмента качества. Требования»; Международный стандарт ИСО 9000 «Системы менеджмента каче-

ства. Рекомендации по улучшению деятельности»; Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 15189-2006 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности», ISO 15189:2003. В августе 2010 г. лаборатория РЦВМТ сертифицирована по Системе менеджмента качества на соответствие требованиям ГОСТ ИСО 9001-2008 (ИСО 9001:2008) применительно к лабораторно-диагностическим услугам. Разработаны и внедрены в деятельность учреждения «Стандарты процессов», «Взаимодействие субъектов», «Документооборот», «Снижение издержек», «Удовлетворенность потребителя», что благоприятно отразилось на организации производства диагностического продукта (рис. 2).

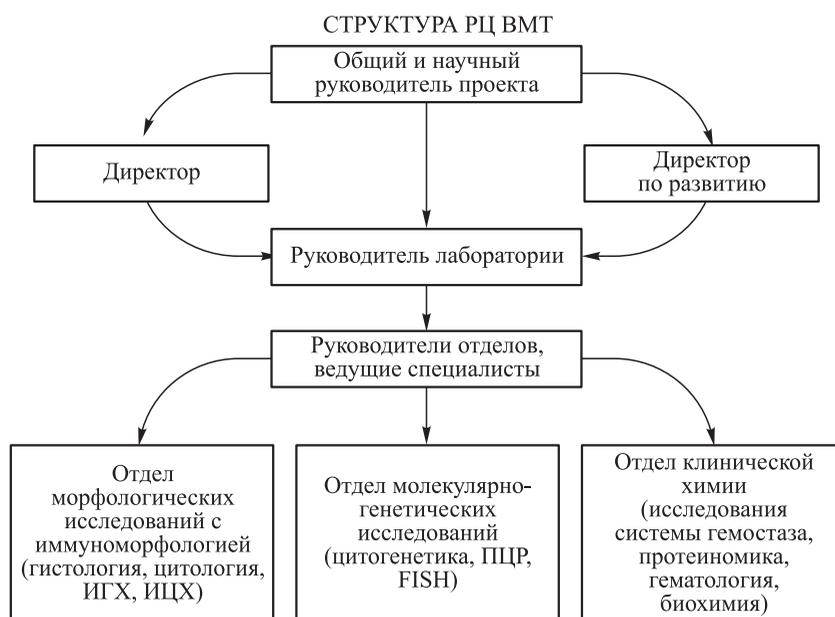


Рис. 1. Структура лаборатории и взаимодействие функциональных подразделений РЦВМТ



Рис. 2. Применение системы менеджмента качества в работе лаборатории

Стратегия развития лаборатории связана с реализацией трех блоков деятельности: клинко-диагностического, научного и образовательного. Клинко-диагностический, или прикладной, раздел деятельности представлен исследованиями биологического материала для клинических целей с использованием трендов современной лабораторной медицины. В структуре услуг РЦВМТ преобладают рутинные морфологические методы исследования (89 %), в том числе гистологические – 52,7 % (преимущественно травматолого-ортопедический, нейрохирургический, гинекологический диагностический операционный материал), цитологические – 36,3 % (преимущественно акушерский и гинекологический материал). Специальные высокотехнологичные исследования составляют 11,0 %, в том числе цитогенетические – 3,8 %, иммуногистохимические – 3,2 %, исследования белкового состава биологических жидкостей – 2,5 %, иммуноцитохимические – 1,3 %, молекулярно-генетические – 0,2 %. По результатам статистических данных за период 2009–2011 гг. число услуг лаборатории составило 97074. Ежегодный прирост количества исследований не менее 35 %. Среднее число услуг в год – 24940 единиц. Так, за период 2009–2011 гг. проведено 45511 единиц гистологических исследований. Распределение по категориям сложности указывает на преобладание материала 3–4 категории, включающих исследования материала с подозрением на наличие перерождений и требующих дополнительной молекулярно-биологической идентификации (иммунофенотипирования) и определения гистогенеза опухолей. Объем произведенных цитологических исследований составил 22 900 единиц, в том числе с использованием методики жидкостной цитологии – 760 единиц и иммунофенотипирования – 286 единиц. В структуре исследований преобладают цитологические исследования мазков-соскобов с шейки матки и цервикального канала, окрашенных по Папаниколу (РАР-тест). Метод окрашивания по Папаниколу принят в РЦВМТ за стандарт в диагностике по профилю «репродуктивное здоровье», поскольку он рекомендован ВОЗ в качестве скрининг-теста на выявление дисплазии и рака шейки матки и имеет преимущества перед традиционно применяемыми в лабораториях России методами окраски (окраска по Романовскому – Гимза, окраска гематоксилином-эозином): хорошо окрашивает ядра атипичных клеток, позволяет оценить степень созревания цитоплазмы, выявляет патологическое ороговение эпителия. В лаборатории отмечается высокая корреляция результатов цитологических исследований с патологическими изменениями (рак, дисплазия) с результатами ги-

стологических исследований, являющихся «золотым стандартом» диагностики.

Выявление моноклональной секреции при различных лимфопрлиферативных заболеваниях – один из важных компонентов при диагностике данных состояний. Около 10 % всех случаев диагностики приходится на высокотехнологичные и дорогостоящие молекулярно-биологические методы исследования, которые обеспечивают качество диагностики наиболее трудных клинических случаев. Внедренные в РЦВМТ методы иммунохимического исследования белкового профиля биологических жидкостей организма (капиллярный электрофорез и иммунофиксация) позволили за 2010–2011 гг. провести 358 исследований биологических жидкостей (сыворотки крови и мочи) с их применением. У 76,0 % пациентов уже был установлен рабочий диагноз, спектр методик по исследованию белкового профиля биологических жидкостей позволил комплексно подойти к проблеме решения клинической задачи по диагностике злокачественных новообразований, прогнозированию опухолевой прогрессии и выявлению показаний к терапии различных форм солидных неоплазий и гемобластозов. Подобный подход значительно повышает качество диагностики и адекватность заключений по клинической динамике процесса и ожиданиям специалистов онкологического и онкогематологического профилей.

При необходимости дифференциальной диагностики и постановки диагноза в сложных клинических случаях лаборатория обладает широкими возможностями привлечения специалистов смежных специальностей (генетиков, патоморфологов, цитологов и т. д.). По сложившейся статистике потребность в специалистах смежных специальностей возникала в 15 % от всех диагностических случаев.

Лаборатория с момента организации позиционировала себя в качестве базы для обучения специалистов лабораторного дела и клиницистов различного уровня. РЦВМТ является клинической базой Новосибирского государственного медицинского университета для обучения студентов, ординаторов и аспирантов, постдипломного образования, повышения квалификации врачей и фельдшеров-лаборантов. Реализация образовательной составляющей деятельности лаборатории позволила провести обучающие школы-семинары для врачей и лаборантов «Стандартизация исследований и новые технологии в иммуноморфологии» с привлечением ведущих фармацевтических компаний. В 2010 г. лаборатория приобрела статус «Регионального референс-центра» для фирм-партнеров, активно занимающихся выявле-

нием маркеров онкогематологических заболеваний FISH-методом.

Концепции развития лаборатории связана с реализацией научной составляющей деятельности РЦВМТ и использованием ее ресурса в деятельности ведущих представителей научно-производственного комплекса, грантовой и конкурсной деятельности в регионе. За анализируемый период (2009–2011 гг.) лаборатория явилась соисполнителем более 10 комплексных научно-исследовательских работ совместно с Новосибирским НИИ травматологии и ортопедии, НИИ химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, НИИ цитологии и генетики СО РАН при изучении иммуноморфологических характеристик опухолей мозга, хирургическом лечении опухолей центральной нервной системы с использованием комбинированной иммунотерапии и инфракрасного высокоинтенсивного лазерного излучения, проработке теоретических аспектов генетики остеопороза, гистологической диагностике экспериментального материала. Сотрудники лаборатории занимаются научной деятельностью, результативность которой оценивается по числу публикаций в научной печати, участию в научных форумах различного уровня, грантовой и конкурсной деятельности. Так, за период 2010–2011 гг. только число публикаций в журналах, рецензируемых ВАК, составило 20; зарегистрировано 12 выступлений ведущих специалистов РЦВМТ на научных конференциях и мастер-классах, осуществляются стажировки и обучение персонала на рабочем месте на зарубежных базах.

При управлении деятельностью учреждения применены инновационные медико-организационные технологии, включающие менеджмент качества, организационное развитие, проектный менеджмент и т.д. Основные точки приложения усилий в управленческом блоке деятельности направлены на стандартизацию всех этапов процесса исследований в соответствии с требованиями «Системы менеджмента качества»: преаналитического, аналитического, постаналитического. За прошедшие 2 года с момента сертификации на требования международным стандартам проведена работа по стандартизации основных технологических процессов выполнения исследований по основным разделам, формированию стандартов заключений, а также приведению их в соответствие с рекомендованными международными протоколами и классификационными схемами. Разработана, переработана и утверждена вся лабораторная нормативно-техническая документация. Подготовлено 47 информационно-методических документов, в том числе правил эксплуатации оборудования, рабочих инструк-

ций, форм протоколов и т. д. Функционирование лаборатории в соответствии с требованиями международных стандартов системы менеджмента качества ИСО 9001:2008, оснащение высокотехнологичным оборудованием ведущих мировых производителей позволяет стандартизировать основные технологические процессы и обеспечить высокое качество диагностического продукта, подтверждаемое регулярно во внутрилабораторной, межлабораторной и федеральной системах контроля качества.

Инструментом реализации инновационной управленческой доктрины представленной модели являются современные информационные технологии. В лаборатории разработана и функционирует информационная лабораторная система с возможностями оперативного контроля за процессом движения материала и информации от поступления в лабораторию до выдачи результатов с анализом основных показателей деятельности лаборатории за период.

Одной из составляющих успешной реализации проекта является применение современных подходов к кадровому менеджменту. Численность коллектива лаборатории – 28 специалистов, 56 % составляют специалисты высшей квалификационной категории, среди сотрудников 5 специалистов имеют ученую степень доктора и 5 – кандидата медицинских наук. Инновационные подходы и принципы организационно-кадрового обеспечения, включающие формирование организационной структуры управления, системы мотивации, подбора, адаптации и ротации персонала, системы оценки результативности управления и формирования организационной культуры с использованием корпоративной этики, позволили при незначительной численности коллектива добиться высоких показателей деятельности, включая количественные показатели качества, освоение современного высокотехнологичного оборудования, внедрение новых методов исследований материала и реализацию комплексных диагностических программ и алгоритмов. За 2010–2011 гг. внедрено 15 новых методов исследования, в том числе определение селективности протеинурии в моче, гистологический CIN-тест, методы жидкостной цитологии, иммуноблоттинга, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR). Ведущими сотрудниками разработаны алгоритмы ранней диагностики рака шейки матки и рака молочной железы с использованием комплекса технологий, включая молекулярно-биологические и генетические методы – тренды современной лабораторной диагностики.

Включение образовательной и научной составляющей при поэтапной реализации проек-

та является важным аспектом в представленной инновационной модели, поскольку способствует созданию на базе лабораторий центров профессионального обучения и стажировки медицинских кадров, разработке инновационных научных идей в рамках одной структуры. Формируется качественно новый подход к организации работы сотрудников – через создание эффективно работающих коллективов врачей и исследователей, формирование точек «инновационного роста» в здравоохранении и медицинской науке (наличие устойчивых мотивационных модулей сотрудников, успешная деятельность которых должна сформировать научно-практические школы с принципиально новой методологией). Маневренность и устойчивость на рынке обеспечиваются многоканальностью финансирования.

К основным направлениям перспективного развития лаборатории отнесены: формирование комплексных программ диагностики для определенных нозологических форм заболеваний; включение в систему профилактических осмотров в части цитологического онкогинекологического скрининга женского населения с использованием цитологических технологий через участие в целевых, муниципальных, региональных программах в сфере здравоохранения и охраны здоровья граждан; стандартизация основных технологических процессов и подготовка лабораторий к аккредитации в качестве экспертной. Формирование программ и обучающих семинаров для лаборантов и врачей-патоморфологов в рамках реализации образовательной концепции, проведение региональных конференций по стандартизации исследований и новым методам в морфологии и молекулярной биологии, участие в грантовой деятельности и научных проектах ведущих научно-исследовательских институтов СО РАН и СО РАМН позволят далее позиционировать РЦВМТ в качестве полноценного субъекта медицинского научно-производственного комплекса региона с целью укрепления позиций на рынке лабораторных диагностических услуг и развития лаборатории в направлении формирования диагностических комплексов. Анализ состояния рынка медицинских услуг в СФО позволяет с высокой долей уверенности прогнозировать востребованность диагностических услуг по высокотехнологичной морфологической и молекулярно-биологической диагностике и окупаемость проекта с коммерческой точки зрения. Динамика развития современных лечебных подходов в клинической практике и научных исследований в области таргетной терапии злокачественных новообразований гарантирует устойчивый рост спроса на данные услуги в перспективе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленная модель предлагает новый способ комплексного решения задач, характерных для учреждений различного профиля и уровня (лечебных, научных, образовательных) в рамках одной структуры. Формируется качественно новый подход к организации работы сотрудников – через создание эффективно работающих коллективов врачей и исследователей, формирование точек «инновационного роста» в здравоохранении и медицинской науке (наличие устойчивых мотивационных модулей сотрудников, успешная деятельность которых должна сформировать научно-практические школы с принципиально новой методологией). Маневренность и устойчивость на рынке обеспечиваются многоканальностью финансирования: средства государственного бюджета, государственных внебюджетных фондов, частных инвесторов. Создание инновационного высокотехнологичного учреждения здравоохранения, устойчиво функционирующего на рынке медицинских услуг, позволит комплексно, в короткие сроки, качественно решать проблемы диагностики серьезной патологии (гематологические, онкогематологические, онкологические заболевания) при соблюдении принципов социальной справедливости, биоэтических и правовых норм на пространстве взаимодействия пациента с системой оказания медицинской помощи (доступность высокотехнологичных методов диагностики для широких масс населения, реализация права выбора поставщика медицинской услуги), предоставит возможность участия государственных структур в решении проблем социально незащищенных слоев населения через системы обязательного медицинского страхования и дополнительного лекарственного обеспечения. Реализация проекта обеспечит решение актуальных для Российского здравоохранения задач внедрения и реализации принципов доказательной медицины в практику, будет способствовать внедрению принципов менеджмента качества в здравоохранении, обеспечит продвижение инновационных медицинских и организационных технологий в отечественном здравоохранении, что соответствует «Концепции развития здравоохранения и медицинской науки РФ до 2020 года».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева И.Л., Абрамова И.Ю. К вопросу организации центров современных медицинских технологий в субъектах федерации // Вестн. новых мед. технологий. 2008. (4). 217–219.

2. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунорезистентности // Цитокины и воспаление. 2004. 3. (2). 8–19.

3. Бабенко А.И., Бравве Ю.И., Томчук А.Л., Бабенко Е.А. Разработка стратегии здравоохранения в целях развития человеческого капитала // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2012. (4). 10–12.

4. Бабенко А.И., Мураховский А.Г., Томчук А.Л., Бравве Ю.И. О формировании потока пациентов в многопрофильном стационаре // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2012. (6). 35–38.

5. Бабенко А.И., Томчук А.Л., Бравве Ю.И. и др. Социально-гигиеническая оценка патологической пораженности населения // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2012. (5). 6–9.

6. Концепция развития здравоохранения и медицинской науки РФ до 2020 года.

7. Коробейников О.П., Трифилова А.А., Коршунов И.А. Роль инноваций в процессе формирования стратегии предприятия // Менеджмент в России и за рубежом. 2000. (3). 23–27.

8. Корольков В.Е. Проблемы государственного регулирования инвестиционных процессов в со-

временных условиях российской экономики // Бизнес: Экономика. Маркетинг. Менеджмент. 2008. (2). 12–18.

9. Кочемасов В.В., Саутина В.О. Организация и координация научных исследований на современном этапе // Трансфузиология. 2007. 8. (1–2). 26.

10. Ливингстон Д.С. «Эффект Пигмалиона» в сфере управления – управление персоналом: Пер. с англ. Серия «Классика Harvard Business Review» М.: Альпина Бизнес-Букс, 2006. 55–81.

11. Мураховский А.Г., Бабенко А.И., Бравве Ю.И. Реализация диагностических и лечебных технологий оздоровления населения в амбулаторно-поликлинических условиях // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2012. (5). 25–27.

12. Управление организацией / Ред. А.Г. Поршнев, З.П. Румянцева, Н.А. Саломатин. М.: ИФРА-М, 1999. 56 с.

13. Fujii T., Yokoyama G., Takahashi H. et al. Preclinical studies of molecular-targeting diagnostic and therapeutic strategies against breast cancer // Breast Cancer. 2008. 15. (1). 73–78.

14. Rizzo J.D., Somerfield M.R., Hagerty K.L. et al. Use of epoetin and darbepoetin in patients with cancer: 2007 American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update // Blood. 2008. 111. 25–41.

INNOVATIVE MEDICAL AND ORGANIZATIONAL TECHNOLOGIES FOR DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF THE MODEL OF MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL LABORATORY FOR TUMOR DIAGNOSIS

Elena Gennad'evna TOTSKAYA

Regional Center for High Medical Technologies
630008, Novosibirsk, Kirov str., 113

The aim of the study is to validate the effectiveness of medical organizational and management innovative technologies for the development and implementation of the model of a high tech molecular biology laboratory. The experience of the organization of laboratories in Russia and abroad was studied by literary, statistical and economic analysis, the demand for high tech laboratory services in Novosibirsk and the Siberian Federal District was estimated, and an innovative model of the laboratory realized in the organization experiment was substantiated. Creating a unique laboratory provides comprehensive, quick and efficient solving the problems of oncological disease diagnostics in the Siberian region.

Key words: molecular biotechnologies, complex laboratory diagnostics, oncology, medical and organizational technologies, innovations in management.

Totskaya E.G. – candidate of medical sciences, director for development, e-mail: ETockaya@niito.ru